



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



LUZ MARIA RUIZ MACHUCA

**IMPACTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS CAUSADOS PELA DEFICIÊNCIA
HÍDRICA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.)**

BOTUCATU

2018

LUZ MARIA RUIZ MACHUCA

**IMPACTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS CAUSADOS PELA DEFICIÊNCIA
HÍDRICA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.)**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Irrigação e Drenagem).

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

- R934i Ruiz Machuca, Luz Maria, 1987-
Impactos fisiológicos e bioquímicos causados pela deficiência hídrica em plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) / Luz Maria Ruiz Machuca. - Botucatu: [s.n.], 2018
100 p.: fots. color., grafs. color., tabs.
- Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018
Orientador: Fernando Broetto
Inclui bibliografia
1. Pimentão - Irrigação. 2. Pimentão - Produtividade. 3. Fisiologia vegetal. 4. Irrigação com déficit hídrico. I. Broetto, Fernando. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: IMPACTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS CAUSADOS PELA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.)

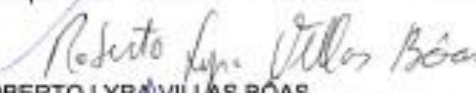
AUTORA: LUZ MARIA RUIZ MACHUCA

ORIENTADOR: FERNANDO BROETTO

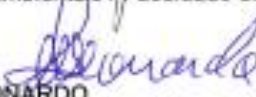
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (IRRIGAÇÃO E DRENAGEM), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FERNANDO BROETTO

Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS

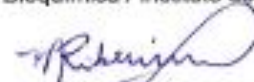
Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Dr. MARCELO LEONARDO

Casa da Agricultura / Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI


Prof. Dr. WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI

Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof.ª Dr.ª MAGALI RIBEIRO DA SILVA

Ciência Florestal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 13 de novembro de 2018

Aos pilares da minha vida....
Meus pais, Delia e Alfonso;
Porque o amor dos pais é único e verdadeiro;
Por terem confiado em mim incondicionalmente,
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de viver e cuidar de mim esses 17 anos longe de meus amados pais.

Aos meus pais Delia e Alfonso, pelo apoio incondicional, amor, confiança e respeito ao longo da minha vida. Muito obrigada por tudo, não existem palavras para agradece-lhes. Amo vocês!

Ao professor Fernando Broetto, agradeço de coração o apoio incondicional, por ter confiado em mim e pela orientação ao longo desta jornada. Que Deus abençoe hoje e sempre a você e sua família.

Aos meus lindos irmãos e família, que além de tudo e apesar da distância a gente têm boas lembranças da nossa infância.

Ao meu companheiro, amigo e amado esposo Enrique, você sabe que no amor não existem palavras e sim uma mirada para saber que a gente se ama.

Aos companheiros da turma velha do laboratório: Renata, Dayanne, Erica, Ricardo, Diogo, Edilson, Vladimir e Jéssica. Obrigado pela confiança e por abrir as portas de sua casa.

Aos companheiros da turma nova: Tamiris, Osvaldir, Mara, Dariane, Ícaro, Irineu e Alessandro. Muito obrigado por tudo!

Às pessoas que se acercaram a mim perguntando se precisava de ajuda para meu trabalho no campo e laboratório agradeço a Danni, Tulio, Rafael, Francielly, Jannaylton, Esteban, Darlin, Vitoria e Filipe. Muito obrigado.

Aos amigos brasileiros que confiaram na gente (Enrique e eu) e que sempre estarão no meu coração: Nilzinha, Ademir, Patrícia, Paulinho, Lucas Conte, Adolfo Arlanch, Dirceu e Matheus.

Aos colegas e amigos “latinos” com os que a gente se reunia para falar espanhol e divertirmos: Francisco, Graciela, Deisy, Aníbal, Andrés, Fabiola, Adela e Ariel.

Aos professores Rodrigo e Alba, obrigado pela sinceridade, amizade e pelos momentos de alegria que passamos juntos.

Aos professores da banca, Roberto Lyra, Marcelo Leonardo, Magali Ribeiro e William Zambuzzi.

À professora Marcia Pereira, pela amizade e esclarecimento de minhas dúvidas referentes a estatística.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Rural, a Fabiana, Gilberto e Rafaela, obrigado pelo apoio.

Ao pessoal da biblioteca, pela amabilidade no atendimento e profissionalismo.

Ao pessoal do Departamento de manutenção do IBB, pelo apoio nas atividades realizadas em campo, especialmente ao Alexandre Gonçalves e Matias.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Câmpus de Botucatu. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para terminar meus estudos de doutorado.

Ao Brasil, gigante pela própria natureza. Muito obrigado!

RESUMO

O pimentão é uma cultura de grande interesse agrícola e econômico para o Brasil. Como hortaliça, demanda práticas de irrigação, para garantir a produção e qualidade de frutos. Devido à dependência direta da água para seu manejo, este recurso pode ser fator limitante para o desenvolvimento da cultura. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar as diferenças na morfologia e fisiologia em plantas de pimentão, submetidas a diferentes lâminas de irrigação nas estações inverno e verão. As plantas foram cultivadas em vasos de 22 Kg de solo, utilizando o sistema de irrigação por gotejamento. O desenho experimental foi organizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram divididos em controle (C; Ψ_m do solo= 10 a 15 KPa); Deficiência Hídrica Moderada (DHM; Ψ_m do solo= 34- 40 KPa) e Deficiência Hídrica Severa (DHS; Ψ_m do solo= 54 a 60 KPa). As plantas se mantiveram sem restrição hídrica até os 50 dias após transplântio (DAT). Foram realizadas quatro avaliações aos 50, 65, 80 e 95 DAT em que as plantas foram coletadas e separadas para avaliar o potencial hídrico foliar (ψ_{hf}), conteúdo relativo de água, perda de eletrólitos, biometria, avaliação nutricional da folha, variáveis fisiológicas, discriminação isotópica do $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ e análises bioquímicas. Finalmente coletou-se frutos para determinação da produtividade. A deficiência hídrica (DH) provocou redução no potencial hídrico foliar, ocasionando diminuição geral dos parâmetros avaliados o que resultou em perdas consideráveis na produção de frutos. No entanto, o tratamento DHS ocasionou danos mais marcantes no crescimento e produtividade da cultura de pimentão. Os resultados obtidos confirmaram a hipótese da dependência da água no crescimento e produtividade da cultura do pimentão em ambiente protegido.

Palavras-chave: Pimenteiro, níveis de irrigação, trocas gasosas, atividade enzimática, discriminação isotópica, produtividade.

ABSTRACT

Bell pepper is a crop of great agricultural and economic interest to Brazil. As a vegetable, it demands irrigation practices, to guarantee the production and quality of fruits. Due to the direct dependence of water for its management, this resource can be a limiting factor for the development of the crop. In this context, this study had as objective to evaluate the differences in morphology and physiology in Bell pepper plants, submitted to different irrigation depths in winter and summer seasons. The plants were cultivated in pots of 22 kg of soil, using the drip irrigation system. The experimental design was arranged in a completely randomized design (CRD) with three treatments and five replicates. The treatments were divided in control (C; Ψ_m of soil = 10 to 15 KPa); Moderate Water Deficiency (MWD; Ψ_m of soil = 34-40 KPa) and Severe Water Deficiency (SWD; Ψ_m of soil = 54 to 60 KPa). The plants were maintained without water restriction until 50 days after transplanting (DAT). Four evaluations were performed at 50, 65, 80 and 95 DAT in which the plants were collected and separated to evaluate leaf water potential (ψ_{lw}), relative water content, electrolyte loss, biometry, leaf nutrient evaluation, physiological variables, isotopic discrimination of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ and biochemical analyzes. Fruits were finally collected for yield determination. The water deficit (WD) caused a reduction in the leaf water potential, causing a general decrease of the evaluated parameters, which resulted in considerable losses in the fruit production. However, the SWD treatment caused more marked damages in the growth and productivity of the Bell pepper crop. The results confirmed the hypothesis of water dependence on the growth and productivity of the pepper crop in a protected environment.

Key words: Pepper, irrigation depths, gas exchange, enzymatic activity, isotopic discrimination, productivity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF Área foliar
AFE Área foliar específica
C controle
CAT Catalase
C_i Concentração interna de carbono
CRA conteúdo relativo de água
DAT Dias após transplante
DC Diâmetro de caule
DH Deficiência hídrica
DHM Deficiência Hídrica Moderada
DHS Deficiência Hídrica Severa
E Transpiração
EROs Espécies reativas de oxigênio
ET evapotranspiração
ET_c evapotranspiração da cultura
FNC Frutos não comerciáveis
FP Frutos por planta
FP Número de frutos por planta
g_s Condutância estomática
MF Massa fresca
MFF Massa fresca de folhas
MMF Massa média de fruto
MS Massa seca
MFTP Massa total de frutos por planta
NF Número de folhas
NHC Necessidade Hídrica da Cultura
NR Nitrato redutase
PC Produção comercial
PE Perda de eletrólitos
PST Proteína solúvel total
PT Produtividade total

RAF Razão de área foliar

RMF Razão de Massa Foliar

SOD Superóxido dismutase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 A cultura do pimentão	20
2.2 A importância da água para a irrigação na cultura do pimentão	20
2.3 Efeito da deficiência hídrica no crescimento vegetativo das plantas	22
2.4 Efeito da deficiência hídrica na fisiologia e bioquímica das plantas	23
2.5 Aplicação dos isótopos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em plantas sob estresse	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Localização dos experimentos.....	26
3.2 Material vegetal utilizado	26
3.3 Análise do solo e adubação mineral de plantio	27
3.3.1. Adubação mineral de cobertura.....	28
3.4 Irrigação	29
3.4.1 Sistema de irrigação utilizado.....	29
3.4.2 Curva característica de retenção de água no solo	29
3.4.3 Manejo da irrigação	30
3.5 Tratamentos	32
3.6 Monitoramento da tensão da água no solo.....	32
3.7 Manejo da Cultura	33
3.8 Prevenção de pragas e doenças	33
3.9 Avaliações ao longo dos ensaios.....	34
3.10 Delineamento experimental	34
3.11 Plantas utilizadas em cada avaliação	34
3.12 Análise estatística	35
3.13 Temperatura do local de estudo	35

3.14 Variáveis avaliadas	36
3.14.1 Relações hídricas.....	36
3.14.1.1 Potencial hídrico foliar	36
3.14.1.2 Conteúdo relativo de água.....	36
3.14.1.3 Perda de eletrólitos.....	37
3.14.2 Variáveis de crescimento	37
3.14.2.1 Altura das plantas.....	37
3.14.2.2 Diâmetro do caule	37
3.14.2.3 Número de folhas e área foliar	37
3.14.2.4 Massa de matéria fresca e seca das raízes da planta.....	38
3.14.2.5 Massa de matéria fresca e seca da parte aérea da planta	38
3.14.2.6 Índices de crescimento	38
3.14.3 Avaliação nutricional das folhas	39
3.14.4 Características fisiológicas das plantas.....	39
3.14.4.1 Trocas gasosas.....	39
3.14.4.2 Teor de pigmentos	40
3.14.5 Análises bioquímicas.....	40
3.14.5.1 Determinação da atividade da enzima nitrato redutase (NR)	40
3.14.5.2 Coleta e armazenamento do material vegetal	41
3.14.5.3 Procedimento para obtenção do extrato bruto	41
3.14.5.4 Determinação do teor de proteína solúvel total (PST)	42
3.14.5.5 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)	42
3.14.5.6 Determinação da atividade da enzima catalase (CAT).....	42
3.14.6 Análises da razão isotópica de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	43
3.14.7 Produção de frutos.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46

4.1 Temperatura máxima, média e mínima do ar	46
4.2 Tensão de água no solo	47
4.3 Relações hídricas	49
4.3.1 Potencial hídrico foliar.....	49
4.3.2 Conteúdo relativo de água.....	51
4.3.3 Perda de eletrólitos.....	53
4.4 Variáveis de crescimento.....	54
4.4.1 Altura das plantas	54
4.4.6 Diâmetro de caule.....	55
4.4.4 Número de folhas e área foliar.....	56
4.4.1 Massa fresca e seca de raízes	57
4.4.3 Massa fresca e seca de folhas	61
4.5 Índices de crescimento	62
4.5.1 Razão de área foliar (RAF)	62
4.5.2 Área foliar específica (AFE)	64
4.5.3 Razão de massa foliar (RMF)	66
4.6 Avaliação nutricional em folhas	67
4.6.1 Teor de macronutrientes em folhas de pimentão nos ensaios de inverno e verão	67
4.6.2 Teor de micronutrientes em folhas de pimentão nos ensaios de inverno e verão	68
4.7 Características fisiológicas das plantas	69
4.7.1 Trocas gasosas	69
4.7.1.1 Assimilação líquida de CO ₂ (A).....	69
4.7.1.2 Condutância estomática (g_s).....	71
4.7.1.3 Concentração intercelular de CO ₂ (Ci).....	72
4.7.1.4 Transpiração (E).....	74

4.7.2 Teor de pigmentos	77
4.7.2.1 Clorofilas <i>a</i> e <i>b</i>	77
4.7.2.2 Carotenoides.....	79
4.8 Parâmetros bioquímicos.....	80
4.8.1 Atividade da enzima nitrato redutase (NR).....	80
4.8.2 Teor de proteína solúvel total (PST).....	82
4.8.3 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)	83
4.8.4 Atividade da enzima catalase (CAT)	84
4.9.1 Discriminação isotópica de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$).....	86
4.9.2 Discriminação isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$)	87
4.10 Produção de frutos de pimentão	88
5 CONCLUSÃO.....	91
REFERÊNCIAS	93

1 INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) é cultivado e consumido em todo o território nacional brasileiro, sendo os principais produtores: Minas Gerais, São Paulo, Ceará, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Pernambuco, somando 87% da produção total (HFBRASIL, 2017). Por outro lado, diversos estudos confirmam que a redução de água no solo durante a fase vegetativa e reprodutiva do pimentão pode afetar a produtividade final (GONZALEZ-DUGO et al., 2007; SEZEN et al., 2006).

A deficiência hídrica (DH) é o principal problema que afeta o crescimento, produção de matéria fresca e seca das plantas, quantidade e qualidade das colheitas. A época e duração da DH são muito importantes para determinar como a planta responde a esse tipo de estresse (ANJUM et al., 2011).

Delfine et al. (2001) reportam que plantas de pimentão em condições de sequeiro, a fotossíntese e condutância estomática são reduzidas com o decorrer do tempo, afetando a produção final, quando comparadas com as plantas irrigadas.

Por isso é necessário abordar alguns fatores morfológicos e fisiológicos que influenciam a habilidade das plantas a se adequar a menor disponibilidade de água no solo (SANTOS et al., 1998). Desse modo, a hipótese deste trabalho é que a maior restrição de água em plantas de pimentão seu crescimento e produtividade serão afetados, havendo diferença da resposta no comportamento fisiológico e fenológico em duas estações climáticas diferentes. O objetivo geral deste trabalho foi avaliar as diferenças na fisiologia e fenologia em plantas de pimentão, submetidas a diferentes lâminas de irrigação nas estações inverno e verão. O objetivo específico foi avaliar a resposta no crescimento, na eficiência fotossintética, na atividade enzimática, análises de razão isotópica de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ e produção de frutos em plantas de pimentão cultivadas sob diferentes regimes de água no solo em ambiente protegido.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do pimentão

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) pertence à família das Solanáceas, originário do México e América central (NICK; BORÉM, 2016).

A planta é herbácea perene, com crescimento arbustivo, pode atingir até 5 metros ou mais quando conduzida com tutores. Produz frutos do tipo baga, de formato cônico, cilíndrico ou cúbico (FILGUEIRA, 2012). No entanto, o pimentão se diferencia das pimentas por não possuir ou ter pouca quantidade de capsaicina que é o alcaloide que confere pungência às pimentas.

Seu sistema radicular é pivotante e profundo, (dependendo da profundidade e textura do solo). O maior volume das raízes se concentra entre os 30 e 60 cm. O Caule é semilenhoso, e a partir de certa altura (cruz) tem duas ou três ramificações (dependendo da variedade) e continua ramificando-se até o final do seu ciclo. As folhas são simples, inteiras, lanceoladas ou ovadas dependendo das cultivares. As flores são pequenas, de cor branca e hermafroditas (CONDÉS RODRÍGUEZ 2017).

Por outro lado, o pimentão é uma hortaliça sensível às geadas. A faixa de temperaturas para seu crescimento ótimo é de 18 a 27 °C durante o dia e de 15 a 18 °C durante a noite (FAO, 2018). A temperatura máxima para o pimentão na fase de germinação é de 35 °C, na fase de crescimento vegetativo é de 40 °C e na fase de floração e frutificação de 35 °C.

2.2 A importância da água para a irrigação na cultura do pimentão

O crescimento das hortaliças é influenciado pela umidade do solo, sendo normalmente a restrição hídrica o fator mais limitante para a obtenção de elevadas produtividades (FAO, 2017).

O Brasil possui 12% das águas doces superficiais do planeta, tendo um papel importante na produção agrícola mundial (FAO, 2017). No entanto, a irrigação é considerada pequena diante da boa disponibilidade dos recursos hídricos, fatores físico-climáticos favoráveis e expansão territorial. Em geral, a área irrigada incluindo diferentes sistemas de irrigação é de 6,95 milhões de hectares (ANA, 2015).

A produção do pimentão no Brasil é realizada a campo aberto, em casas de vegetação e com cobertura plástica no solo, sendo o sistema de irrigação fundamental para suprir as necessidades hídricas das culturas. Para a produção de hortaliças em cultivo protegido a irrigação por gotejamento é usada pelos produtores, sendo que oferece vantagens como: menor consumo de água e energia, fornecimento dos fertilizantes via fertirrigação, aumentando assim a produção das culturas. No entanto, a irrigação por aspersão não é recomendada para o pimentão, pois beneficia a incidência de doenças na parte aérea das plantas (BRAGA; MAROUELLI, 2017).

Apesar de tão conhecidos os benefícios da irrigação, ainda há dificuldades de dimensionar sua importância na quantidade e qualidade das colheitas para a segurança alimentar da sociedade brasileira (ANA, 2017).

Existem inúmeros trabalhos focados na aplicação de diferentes quantidades de água nas espécies de pimentas, enfatizando a importância da aplicação de água no pimentão. Por exemplo, Delfine et al. (2001) trabalharam com pimentão em condições de campo utilizando sistemas de irrigação localizada e sequeiro, observando que em condições de sequeiro o pimentão foi afetado até a fase de maturação dos frutos afetando a produção final.

Santana et al. (2004) trabalharam com plantas de pimentão sob diferentes tensões de água no solo (10, 30, 50 e 60 KPa), e obtiveram a maior produtividade total e comercial sob a tensão de 10 KPa.

Ferrara et al. (2011) trabalharam com deficiência hídrica em pimentão na etapa vegetativa e reprodutiva. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que a deficiência hídrica na etapa reprodutiva ocasionou maior repercussão na produtividade.

Além disso, sabe-se que, em condições protegidas, a produtividade das culturas é maior do que em condições de sequeiro. No entanto, é importante saber realizar adequadamente o manejo da irrigação, sendo que um excesso ou restrição de água no solo pode prejudicar a produtividade final.

O pimentão, quando cultivado em ambiente protegido pode ter um tempo de colheita de até nove meses, atingindo produtividade de 150 t ha⁻¹ (HORTIFRÚTI, 2017). No entanto, a produtividade em estufa varia dependendo do controle do

ambiente protegido, densidade de plantação, cultivar utilizada, poda, ciclo da cultura e irrigação.

2.3 Efeito da deficiência hídrica no crescimento vegetativo das plantas

O estresse hídrico (seja por excesso ou restrição) é refletido principalmente nas folhas, causando clorose, necrose, desequilíbrio hormonal, redução da expansão foliar, espessamento da cutícula, murcha e diminuição da massa foliar (HUSSAIN; BARKET, 2015). Ainda segundo os autores, o impacto negativo devido a todos esses efeitos, leva à diminuição do tempo de vida ativa das folhas (longevidade), afetando o crescimento geral da planta.

Em algumas espécies vegetais a deficiência hídrica afeta principalmente a parte aérea das plantas, provavelmente aquelas em que os assimilados provenientes da parte aérea sustentam o crescimento das raízes. Além da acumulação do ácido absícico (ABA) produzido na raiz para impedir a síntese do etileno (HSIAO; ACEVEDO, 1974).

As fases consideradas as mais susceptíveis à deficiência hídrica são germinação (GUIMARÃES, 1996), floração e crescimento dos frutos (JAIMEZ et al., 2000).

O potencial hídrico (Ψ_h) é um bom indicador para medir o estado hídrico das plantas. O Ψ_h é o potencial químico da água (energia livre). O Ψ_h da água pura (a uma atmosfera) é zero, o $\Psi_h = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$. O potencial osmótico (Ψ_s) da água é zero, a presença de solutos o torna negativo. O potencial de pressão (Ψ_p) é medido em relação ao meio ambiente na célula, podendo ser positivo (célula turgida) ou negativo (célula plasmolisada). O potencial gravitacional (Ψ_g) somente é significativo para árvores altas.

A água nas plantas se movimenta de zonas com Ψ_h mais alto (menos negativo) para zonas com Ψ_h mais baixo (mais negativo). As células vegetais procuram o equilíbrio termodinâmico com o meio ambiente que os rodeia absorvendo ou perdendo água (TAIZ; ZEIGER, 2002). Desse modo, uma técnica relativamente fácil para medir o Ψ_h é com auxílio da câmara de pressão, descrita por Scholander et al. (1965).

2.4 Efeito da deficiência hídrica na fisiologia e bioquímica das plantas

A nível celular ainda são pouco compreendidas as condições físico-mecânicas que causam alterações no metabolismo das células das plantas sob desidratação (LAWLOR, 2002). A resposta das plantas à deficiência hídrica difere entre espécies, o qual inclui diferentes processos próprios da planta e efeitos do estresse (BLUM, 1997).

Diversos estudos corroboram que as plantas sob condições de restrição hídrica fecham os estômatos, causando redução na assimilação de CO₂ (FARQUHAR et al., 1982; TANG et al., 2002). O fechamento estomático está ligado ao teor do ácido abscísico, o qual é acumulado nas raízes e transportado para as células guarda dos estômatos, reduzindo o efeito da deficiência hídrica

Em condições ambientais não favoráveis para o crescimento dos vegetais a fotossíntese diminui e a fotorrespiração aumenta, ocasionado maior produção das espécies reativas de oxigênio (EROs) Mittler et al. (2010). As EROs são moléculas mais reativas que o oxigênio molecular O₂, tendo maior facilidade em reagir com outras substâncias, podendo gerar reações em cascata. São moléculas tóxicas, que podem causar danos oxidativos às proteínas, ao DNA e aos lipídios (APEL; HIRT, 2004). As formas mais comuns das EROs são os radicais superóxido (O₂⁻), hidroxila (OH⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio singleto (¹O₂).

As plantas para se adaptar à diminuição do potencial hídrico e mudanças climáticas desfavoráveis, possuem sistemas enzimáticos antioxidativos e não enzimáticos, os quais ajudam a diminuir a produção das EROs. Algumas enzimas do sistema antioxidativo são a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) ascorbato peroxidase (APX), e outros antioxidantes não enzimáticos como o ácido ascórbico (AsA) e glutathione (GSH) (APEL; HIRT, 2004; DIETZ et al., 2006).

A SOD é a primeira linha de defesa contra as EROs, realizando a dismutação dos radicais superóxido (O₂⁻), para peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A enzima catalase é a principal que atua na decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) até água (H₂O) e oxigênio molecular (O₂). E a enzima ascorbato peroxidase que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em água utilizando o ascorbato como doador de elétrons.

As respostas das plantas em relação ao sistema antioxidante enzimático são diferentes em cada genótipo, adaptando-se ao estresse aquele que tem à biossíntese das enzimas mais ajustada (MONTAVON et al., 2006; ALSCHER et al., 2002).

Outra enzima importante é a nitrato redutase (NR), a qual é reprimida como consequência da diminuição do fornecimento de água para as plantas (MEYERS-JÚNIOR et al., 1986). Em plantas superiores, fungos e algas, a enzima nitrato redutase (NR), atua na assimilação do nitrogênio reduzindo o nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-). Provavelmente a redução dos valores da NR em plantas sob estresse hídrico, está relacionado à diminuição da absorção do nitrogênio (CAMPBELL, 1988).

2.5 Aplicação dos isótopos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em plantas sob estresse

Os isótopos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ são utilizados na ecofisiologia para avaliar as respostas das plantas a mudanças climáticas, sendo que ambos são sensíveis às restrições ambientais (PEUKE et al., 2006)

As análises isotópicas do carbono medem a relação de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ das amostras e os resultados são expressos em termos de diferença de ^{13}C em relação ao padrão. Em plantas, a maioria dos trabalhos sob o isótopo $\delta^{13}\text{C}$ é realizado a nível foliar, sabendo-se que nesse órgão vegetativo ocorre o maior fracionamento da fotossíntese. No entanto, o carbono nas plantas pode ter variações genotípicas e ambientais diferentes, dependendo do órgão vegetativo (MATEO et al., 2004). A discriminação do isótopo $\delta^{13}\text{C}$ pelas folhas de plantas C3 está relacionada com as trocas gasosas da fotossíntese, podendo estar controlada pela razão da concentração do CO_2 nos espaços intercelulares das folhas e da atmosfera (FARQUHAR et al., 1982).

As plantas sob condições de boa disponibilidade de água no solo, aproveitam a maior disponibilidade de CO_2 para aumentar sua eficiência hídrica. Embora haja redução da condutância estomática nessas condições não há limitação da fotossíntese, tornando-se os valores do isótopo $\delta^{13}\text{C}$ mais negativos (maior discriminação do $\delta^{13}\text{C}$) à medida que a concentração de CO_2 aumenta (BEERLING; WOODWARD, 1995).

A composição isotópica natural do $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}$) poderia ser usado como marcador do metabolismo do N em plantas sob diferentes condições. No entanto, sabe-se que o metabolismo do N primário é complexo e as perdas ou ganhos diferem com o tempo (ARIZ et al., 2015). O fracionamento do isótopo de nitrogênio na planta ocorre como resultado da assimilação do NO_3^- ou NH_4^+ na translocação para as folhas e o metabolismo do nitrogênio no citoplasma. Diversos estudos observaram que o $\delta^{15}\text{N}$ diminui com a idade da planta e intensidade de luz, no entanto, aumenta com maiores concentrações de NO_3^- (WADA; HATTORI, 1978; KOHL; SHEARER, 1980).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização dos experimentos

Foram conduzidos dois experimentos em estufa agrícola com uma área de 63 m² no Distrito de Rubião Júnior (Figura 1), Departamento de Química e Bioquímica do IB/UNESP em Botucatu-SP, com coordenadas geográficas 22° 53' 25'' de latitude Sul e 48° 27' 19'' de longitude Oeste e 840 m de altitude. O clima de Botucatu segundo *Koppen* é Cfa [clima temperado quente (mesotérmico) úmido, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C].

O primeiro ensaio foi realizado entre os meses de junho-outubro de 2016 correspondente às estações de inverno-primavera e o segundo entre janeiro-maio 2017 durante as estações de verão-outono, com a finalidade de conferir se existia influência da temperatura em estações diferentes do ano além da deficiência hídrica, portanto os ensaios foram denominados inverno e verão.

Figura 1- Estufa agrícola utilizada nos dois ensaios (inverno e verão), localizada no Distrito de Rubião Júnior. Departamento de Química e Bioquímica do IB/UNESP em Botucatu-SP



3.2 Material vegetal utilizado

Para os dois experimentos, foram utilizadas mudas de pimentão (*Capsicum annum* L.), cultivar “Gaston” o qual apresenta coloração vermelha quando maduro (Figura 2). Para ambos os experimentos o transplante foi feito 40 dias após a semeadura (de 4 a 6 folhas verdadeiras), colocando uma planta por vaso.

Figura 2- Transplântio das mudas de pimentão, com idade de 40 dias (de 4 a 6 folhas verdadeiras) após a semeadura



3.3 Análise do solo e adubação mineral de plantio

O solo foi coletado na Fazenda Experimental São Manuel, sendo que amostras de 0 a 20 cm de profundidade foram enviadas para análise no Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP cujo resultado está resumido no Quadro 1.

Quadro 1- Resultado da análise química do solo, procedente da Fazenda São Manuel-UNESP e utilizado para ambos os ensaios

pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----mmol _c /dm ³ -----								mg/dm ³
6.3	7	24	0	12	1.1	18	7.0	26.2	38,2	69	7
BORO		COBRE		FERRO		MANGANÊS		ZINCO			
		-----mg/dm ³ -----									
0.70		1.4		14		9.8		1.0			

Baseado nos valores (Quadro 1), calculou-se e aplicou-se calcário dolomítico (5,45 g/vaso) com PRNT a 90% (Poder Relativo de Neutralização Total), visando elevar a V% a 80, valor recomendado para a cultura do pimentão de acordo com Rajj et al. (1997).

De acordo com a análise do solo (Quadro 1) e conforme recomendado no boletim técnico 100 do IAC (Quadro 2), foi feita a adubação mineral de plantio por ocasião da estruturação dos experimentos (inverno e verão). Adaptando-se os valores para o volume de 22L, aplicou-se 40 kg ha⁻¹ de Nitrogênio, 600 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e 180 kg ha⁻¹ de K₂O, nas formas de Nitrato de amônio (2 g/vaso)

Superfosfato simples (19 g/vaso), Termofostato (20 g/vaso) e Cloreto de potássio (4 g/vaso), respectivamente. Desse modo, pode-se observar que utilizou-se duas fontes de fosfato, pois o Superfosfato simples proporciona enxofre, elemento essencial para o crescimento do pimentão e o Termofostato (fonte de micronutrientes).

Em ambos os ensaios utilizou-se solo da fazenda São Manuel como explicado no item 3.3. Ao final do primeiro ensaio o solo foi descartado, trazendo novamente solo do mesmo local para o segundo ensaio, aplicando-se as mesmas quantidades de calcário e fertilizantes para a correção e adubação do solo (RAIJ et al., 1997; TRANI; CARRIJO, 2004).

Para a adubação mineral de plantio os fertilizantes e o calcário foram misturados numa betoneira junto com o solo correspondente para cada vaso (40 dias antes do transplante das mudas), efetuando-se a irrigação até capacidade de campo. Posteriormente foi colocado plástico acima dos vasos, com a finalidade de que os fertilizantes e o calcário reajam com o solo.

Quadro 2- Quantidade de nutrientes (kg ha^{-1}) recomendadas pelo Boletim Técnico 100 do Instituto Agronômico de Campinas

	<u>P resina, mg dm^{-3}</u>			<u>K trocável, mmolc dm^{-3}</u>		
	0-25	26-60	>60	0-1,5	1,6-3,0	>3,0
Nitrogênio						
N kg ha^{-1}	P ₂ O ₅ kg ha^{-1}			K ₂ O kg ha^{-1}		
40	600	320	160	180	120	60

3.3.1. Adubação mineral de cobertura

A adubação de cobertura, para cada planta por vaso y para ambos os ensaios (inverno e verão) foi baseada nas recomendações de Trani e Carrijo (2004), a qual faz um balanço dos nutrientes para cada etapa de crescimento. Utilizou-se os fertilizantes: Fosfato monoamônico, (2 g/vaso) Nitrato de potássio (13 g/vaso), Nitrato de cálcio (8 g/vaso), e Sulfato de magnésio (12 g/vaso). Dependendo da época de aplicação (fase vegetativa, floração e frutificação) os fertilizantes aplicados

foram misturados em um balde com água e aplicados em partes iguais para todas às plantas.

3.4 Irrigação

3.4.1 Sistema de irrigação utilizado

Foi utilizado sistema de irrigação por gotejamento em ambos os ensaios (Figura 3). Composto por caixa de água, bomba hidráulica, manômetro, filtro de discos, válvulas de pressão, ventosa, linhas principais de PVC, válvulas solenoides, hidrômetros e linhas de derivação. Foram utilizados gotejadores com vazão de 2 L h^{-1} , com distribuidor (manifold) de duas saídas, em cada saída foi integrado um microtubo e um gotejador tipo flecha com vazão de 1 L h^{-1} . A distância entre plantas foi adequada conforme a dimensão da estufa, o que resultou em espaçamento entre plantas de 50 cm e entre linhas de irrigação 40 cm.

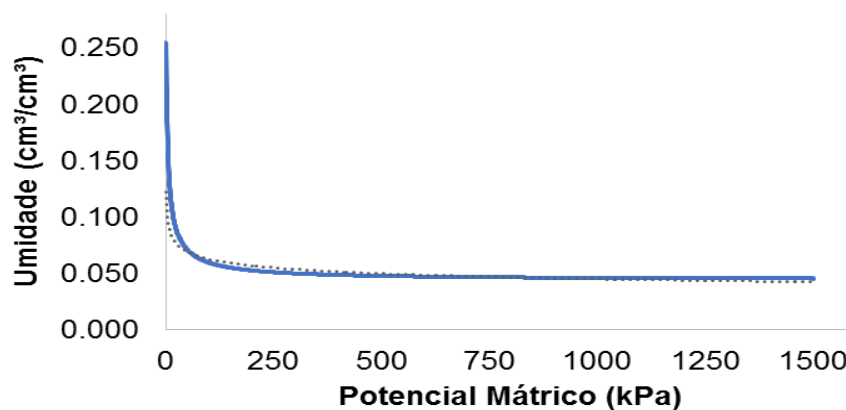
Figura 3- Sistema de irrigação localizada, utilizado em ambos os ensaios



3.4.2 Curva característica de retenção de água no solo

Para monitorar a umidade no solo por meio da técnica de tensiometria, foi necessário determinar previamente a curva de retenção de água no solo. Para tanto, foram coletadas amostras de solo e encaminhadas para o Departamento de Engenharia Rural da FCA/UNESP sendo que a curva foi obtida utilizando-se o método da câmara de pressão de Richards. Para a modelagem da curva e determinação da capacidade de água disponível no solo foi utilizado o software SWRC (*Soil Water Retention Curve*) versão 3.0 conforme descrito por Dourado Neto et al. (1995).

Figura 4 - Diagrama da curva característica de retenção de água (θ , unidade volumétrica) do solo



A curva de retenção de água foi ajustada pelo modelo de Van Genuchten (1980) e está determinada pela Equação 1.

$$\theta = \frac{\theta_s - \theta_r}{[1 + (\alpha |\Psi_m|)^n]^m} \quad (1)$$

Em que:

θ (ψ_m) = umidade volumétrica em função do potencial mátrico, $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^3$;

θ_r = umidade volumétrica residual do solo, em $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^3$;

θ_s = umidade volumétrica do solo saturado, em $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^3$;

n e m = parâmetros de regressão da equação, adimensionais;

α = parâmetros com dimensão igual ao inverso da tensão, em KPa^{-1} ;

ψ_m = potencial matricial de água no solo, em KPa.

3.4.3 Manejo da irrigação

Com os valores de potencial matricial do solo obtidos da curva característica e ajustada pelo modelo de Van Genuchten (1980) calculou-se as lâminas de irrigação, considerado o conceito da capacidade de água disponível (CAD), demonstrado pela Equação 2.

$$CAD = (CC - PMP) \times Z \quad (2)$$

Em que:

CAD - capacidade de água disponível (mm);

CC - teor volumétrico de água na capacidade de campo ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$);

PMP - teor volumétrico de água no ponto de murcha permanente ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$);

Z - profundidade efetiva do sistema radicular (mm).

Também foi feito o teste de uniformidade de distribuição de água no sistema de irrigação pelo método de Coeficiente de Uniformidade de Distribuição (CUD) antes do início dos ensaios (Equação 3).

$$CUD = \left(\frac{X_{25}}{\bar{X}} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

Em que:

CUD - coeficiente de uniformidade de distribuição em (%);

X_{25} - média dos 25% menores valores de vazão coletados (L h^{-1});

$\bar{X}$ - vazão média aplicada (L h^{-1}).

A determinação da lâmina de irrigação (mm), foi baseada na Equação 4 e posteriormente determinou-se o tempo de irrigação (minutos) para cada tratamento conforme a Equação 5.

$$L_a = \frac{FCAD}{Ef} \quad 4$$

Em que:

L_a - lâmina aplicada (mm);

FCAD – frações da capacidade de água disponível (mm);

Ef - eficiência de irrigação.

$$Ti = \left(\frac{L_a \times A}{n \times q} \right) * 60 \quad (5)$$

Em que:

Ti - tempo de irrigação (min);

La - lâmina aplicada (mm);

A - área ocupada por planta (m²);

n - número de emissores por planta (1);

q - vazão do gotejador (L h⁻¹).

3.5 Tratamentos

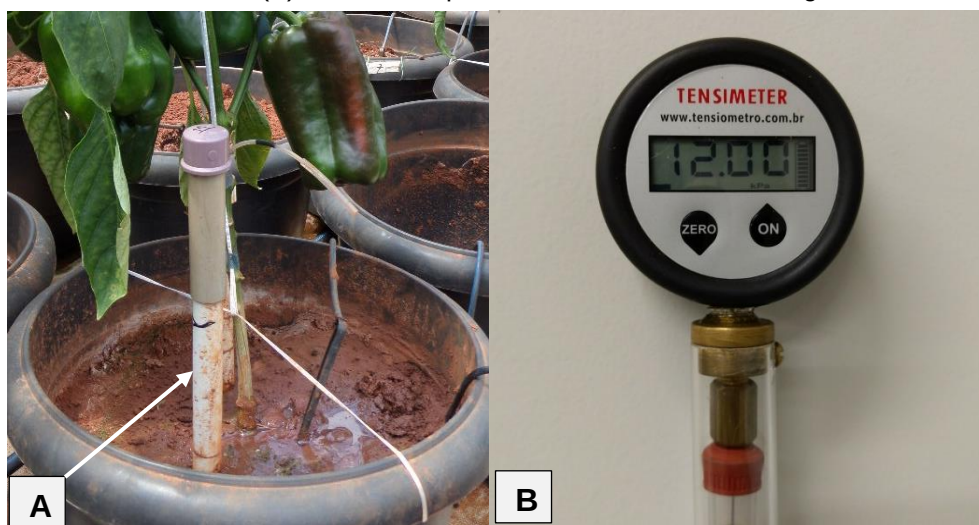
Quadro 3- Lâminas de irrigação utilizadas como tratamentos nos ensaios inverno e verão

Tratamentos	Necessidade Hídrica da Cultura (NHC)	Ψm do solo (kPa)
Controle (C)	100 %	10-15
Deficiência hídrica moderada (DHM)	70 %	34-40
Deficiência hídrica severa (DHS)	50 %	54-60

3.6 Monitoramento da tensão da água no solo

Para manter a tensão de cada tratamento (item 3.5) foram instalados seis tensiômetros por tratamento a uma distância de 5 cm do caule da planta e 15 cm de profundidade do solo. Diariamente no período da manhã das 8:00 a 8:30 horas, a leitura da tensão do solo foi efetuada com auxílio do tensímetro digital, o qual foi inserido na borracha superior (tampa) do tensiômetro. Após se estabilizar os valores do tensímetro estes foram registrados e prosseguiu-se a calcular a média da leitura dos seis tensiômetros, em seguida calculou-se o tempo necessário de irrigação para cada tratamento.

Figura 5 - (A) Tensiômetro instalado a uma distância de 5 cm do caule da planta de pimentão e 15 cm de profundidade do solo e (B) Tensímetro para determinar a tensão da água no solo



3.7 Manejo da Cultura

Utilizou-se fitilho branco para a condução de hastes livres das plantas, efetuando-se nos dois experimentos. Estes fitilhos foram fixados nos vasos e atados a arames colocados na parte superior da estufa (Figura 6). Foi retirado o primeiro botão floral (relativo ao primeiro internódio) como prática cultural.

Figura 6- (A) Plantas de pimentão com sistema de irrigação localizada e tutoramento com fitilho. (B) Retirada do primeiro botão floral



3.8 Prevenção de pragas e doenças

Foram aplicados produtos fitossanitários preventivos como o inseticida/acaricida abamectina, inseticida CapatazBR e o fungicida oxicleto de cobre, para manter os cultivos livres de pragas e doenças durante os experimentos.

3.9 Avaliações ao longo dos ensaios

Para ambos os ensaios todas as plantas de pimentão foram irrigadas a capacidade de campo até os 50 DAT, em que todas as plantas apresentavam floração. No ensaio de inverno os primeiros botões florais apareceram no dia 13 de julho (35 DAT), portanto, no dia 28 de julho (50 DAT), iniciou-se com a primeira avaliação. No ensaio de verão os primeiros botões florais apareceram no dia 6 de fevereiro (30 DAT), assim no dia 25 de fevereiro (50 DAT) realizou-se a primeira avaliação. Deste modo, para ambos os ensaios aos 51 DAT iniciou-se com a aplicação dos tratamentos, quando as plantas apresentaram 80% do florescimento.

Quadro 4 - Avaliações ao longo dos experimentos, a saber:

Dias Após Transplântio (DAT)	Inverno (2016)	Verão (2017)
50	28 julho	24 de fevereiro
65	12 de agosto	11 de março
80	27 de agosto	26 de março
95	11 de setembro	10 de abril

3.10 Delineamento experimental

Os ensaios foram organizados em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e cinco repetições. Para os dois ensaios se estabeleceram 180 plantas de pimentão (uma planta por vaso).

3.11 Plantas utilizadas em cada avaliação

O total de plantas estabelecidas em cada ensaio foram 180, em que 30 foram utilizadas por avaliação, resultando 120 plantas no total das 4 avaliações. As demais plantas foram utilizadas para determinação da produção de frutos, utilizando 20 plantas por tratamento.

Para a medição do potencial hídrico foliar, retirou-se uma folha, essa folha foi colocada de novo no saco de papel para a determinação do número total de folhas, massa fresca e seca das folhas, assim como a área foliar total de cada planta, sabendo que foram utilizadas cinco repetições (plantas) por tratamento. A mesma planta foi separada para obter a massa fresca e seca de raiz, caule e botões florais. Também foi obtida a massa seca dos frutos para a determinação dos índices de crescimento. Finalmente, foram moídas as folhas secas para a determinação de macro e micronutrientes.

Para as demais variáveis e análises bioquímicas, utilizaram-se outras cinco plantas por tratamento. Em que, folhas do terço médio foram retiradas rapidamente e colocadas em sacos de papel alumínio e submergidas num isopor o qual continha nitrogênio líquido para a determinação do teor de proteína solúvel total, atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e atividade da enzima catalase (CAT). Da mesma planta também foram retiradas 5 folhas para determinação do conteúdo relativo de água, perda de eletrólitos, teor de clorofilas, determinação da atividade enzimática da nitrato redutase e análises da razão isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ e de $\delta^{13}\text{C}$

Cabe mencionar que para a medição das trocas gasosas foram utilizadas as plantas destinadas para a produção de frutos, nas quais não foram retiradas folhas e nem utilizadas para outras avaliações. A determinação da produção de frutos foi realizada quando estes apresentaram 70% de coloração vermelha.

3.12 Análise estatística

Para análise dos resultados, aplicou-se análise de variância pelo teste de F , sendo as médias comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o software *Statistical Analysis System* (SAS) v. 9.2. Os gráficos foram elaborados com auxílio do software *Sigma Plot* v. 11.0.

3.13 Temperatura do local de estudo

Foram registrados valores de temperatura mínima, média e máxima com termo higrômetro digital (*datalogger*), durante a condução de ambos os ensaios (inverno-verão). Com os valores médios realizaram-se os gráficos de temperaturas para ambos os ensaios.

3.14 Variáveis avaliadas

3.14.1 Relações hídricas

3.14.1.1 Potencial hídrico foliar

Foram feitas medidas do potencial da água no xilema das folhas (Ψ_{hfolha}) antes do amanhecer 5:00 am (*predawn*). As folhas avaliadas foram escolhidas no terço médio das plantas. Utilizou-se a câmara de pressão tipo Scholander (SCHOLANDER et al., 1965), da *Soil Moisture Equipment Co.*, Santa Barbara, CA, USA, conforme descrito por Kramer e Boyer (1995).

Figura 7- Medição do potencial da água no xilema das folhas (Ψ_{hfolha}) antes do amanhecer 5:00 am (*predawn*).



3.14.1.2 Conteúdo relativo de água

O conteúdo relativo de água (CRA) da folha (folha do terço médio da planta) foi obtido pela equação 6:

$$[(MF - MS)/(MT - MS)] \times 100 \quad (6)$$

Para esta análise, MF representa a massa fresca, para o qual foram extraídos três discos foliares (0,69 cm² cada); MT= Massa turgida, que foi obtida pela reidratação dos discos foliares em água deionizada por 19 h. Após deste tempo retirou-se o excesso de água com papel lençol e se pesaram novamente os discos. Por último a MS= Massa seca foi obtida depois que os discos foliares foram secos por 48 horas a 80° C em estufa de circulação de ar forçada (JAMAUX et al., 1997).

3.14.1.3 Perda de eletrólitos

O aumento de perda de eletrólitos é usado como uma medida da alteração da permeabilidade de membranas celulares. Esta variável foi feita conforme a metodologia de Lafuente et al. (1991). Em que foram cortados 30 discos foliares de 2 mm de diâmetro por repetição para cada tratamento e, transferindo-os para frascos com solução de manitol (10 mL, 0.3 M de manitol), mantidos sob agitação por 24 h. Após este período, mediu-se a condutividade elétrica 1 (C.E 1) da solução, (condutivímetro digital Lutron, Taiwan). Posteriormente foram pesados os frascos (solução de manitol mais discos foliares) e em seguida se deixaram ferver por 10 minutos. Uma vez resfriada a solução, a temperatura ambiente, pesaram-se novamente os frascos, repondo a diferença do volume evaporado com água destilada, os frascos foram levados para agitação durante 30 minutos e finalmente se determinou a leitura de Condutividade elétrica 2 (C.E 2). A perda de eletrólitos é expressa em % a partir da equação 7:

$$C. E. total = \left(\frac{C1}{C2} \right) * 100 \quad (7)$$

3.14.2 Variáveis de crescimento

3.14.2.1 Altura das plantas

Para essa variável utilizou-se uma trena métrica em que mediu-se do colo até o ápice planta.

3.14.2.2 Diâmetro do caule

Foi medido no colo da planta com auxílio de um paquímetro digital.

3.14.2.3 Número de folhas e área foliar

Foi feita a contagem do número total de folhas para cada planta e posteriormente mediu-se a área foliar (cm² planta⁻¹) no equipamento LiCOR (mod. Li-3000).

3.14.2.4 Massa de matéria fresca e seca das raízes da planta

As raízes das plantas foram separadas do solo com uma peneira, lavando-as cuidadosamente, determinando sua massa fresca (g planta^{-1}) em balança digital. Uma vez determinada a massa, foram colocadas em sacos de papel e levadas a estufa de circulação forçada a 70°C até obter massa constante.

Figura 8- (A) Massa fresca de raízes na primeira avaliação (B) massa fresca de raízes na última avaliação. (B1) Raízes do controle (B2) raízes do tratamento deficiência hídrica moderada (B3) raízes do tratamento deficiência hídrica severa



3.14.2.5 Massa de matéria fresca e seca da parte aérea da planta

As plantas foram separadas em caule, folhas, botões florais e frutos. Os órgãos vegetativos de cada planta foram pesados em balança digital para determinar a massa de matéria fresca (g planta^{-1}). Uma vez pesados os órgãos vegetativos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa de ar forçado a 70°C até obter massa seca constante.

3.14.2.6 Índices de crescimento

Com os dados obtidos da massa de matéria seca de raiz, caule, folhas, botões florais, frutos e área foliar foram determinados os seguintes índices de crescimento (HUNT, 1982).

RAF: Razão de Área Foliar. (Medida da superfície fotossintética em razão à massa respiratória).

$$\text{RAF} = \frac{\text{Área foliar}}{\text{Massa seca total}} \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1} \quad (8)$$

AFE: Área Foliar Específica. (Medida da espessura relativa, densidade ou extensão das folhas).

$$AFE = \frac{\text{Área foliar}}{\text{Massa seca das folhas}} \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1} \quad (9)$$

RMF: Razão de Massa Foliar (Medida de alocação de biomassa para as folhas)

$$RMF = \frac{\text{Massa seca das folhas}}{\text{Massa seca total}} \quad (10)$$

3.14.3 Avaliação nutricional das folhas

As plantas coletadas para determinação da massa seca foliar ao início e fim das avaliações (50 e 95 DAT), foram moídas e levadas ao laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da FCA/UNESP – Botucatu, SP para a determinação do teor de macro e micronutrientes.

3.14.4 Características fisiológicas das plantas

3.14.4.1 Trocas gasosas

Avaliaram-se as variáveis fisiológicas: assimilação líquida de CO_2 (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e concentração interna de carbono (C_i), nas folhas do terço médio da planta. Para a medição destas variáveis foi utilizado o medidor portátil de trocas gasosas Mod. IRGA LI-6400 (Figura 9). As medidas foram realizadas entre 09:00 e 11:30 horas.

Figura 9- Medições de trocas gasosas, no período da manhã (09:00 e 11:30 horas) com auxílio do medidor portátil de trocas gasosas Mod. IRGA LI-6400



3.14.4.2 Teor de pigmentos

Para a extração de clorofilas (*a*,*b*) e carotenoides, foram utilizados discos foliares com 1,01 cm de diâmetro, mantidos em tubos de ensaio contendo 2 mL de dimetil formamida (DMF) por 24 h, no escuro. Após este período se fez a leitura de densidade ótica no espectrofotômetro nos comprimentos de onda 480; 646,8 e 663,8 nm. O teor das clorofilas *a* e *b*, e dos carotenoides foi determinado a partir das equações descritas por Lee et al., (1987).

$$\text{Clorofila } a = (12 \times A_{663,8} - 3,11 \times A_{646,8}) / \pi \cdot r^2 \quad (11)$$

$$\text{Clorofila } b = (20,76 \times A_{646,8} - 4,88 \times A_{663,8}) \quad (12)$$

$$\text{Carotenóides} = (1000 \times A_{480} - 1,12 \text{ Clorofila } a - 34,07 \text{ Clorofila } b) / 245 \quad (13)$$

Em que, A = absorbância no comprimento de onda indicado.

3.14.5 Análises bioquímicas

3.14.5.1 Determinação da atividade da enzima nitrato redutase (NR)

Após quatro horas de iluminação (horário solar) foram coletadas folhas do terço médio das plantas, as quais foram cortadas (50 mg) de tecido foliar fresco das plantas de cada tratamento. O tecido foliar foi transferido para tubos de ensaio com 10 mL de solução de extração, a qual estava constituída por: tampão fosfato de potássio (KH_2PO_4 0,1 M; pH 7,0), 1 mL de nitrato de potássio (KNO_3 0,1M), e 1mL de n-propanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ 1%). O tecido vegetal foi infiltrado a vácuo por três vezes durante dois minutos com intervalo de um minuto. Após a infiltração, os tubos foram cobertos com papel alumínio e mantidos em banho-maria a 30° C, por 60 minutos. Em seguida foi retirado 1 mL da solução de extração e transferidos para tubos esterilizados. Adicionou-se 1 mL de sulfanilamida 1% e 1 mL de N- naftil 0,02%. Depois os tubos com a solução de extração e estes reagentes foram levados de novo a banho-maria por 15 minutos a 30 °C no escuro. Finalmente se fez a leitura da D.O. em espectrofotômetro a 540 nm (Figura 10). A atividade da enzima foi expressa em nM de NO_2 por grama de matéria fresca por hora de incubação (nM NO_2 h g^{-1} MF). A metodologia de análise foi descrita por Jaworski (1971).

Figura 10- Infiltração de nitrato a vácuo em lâminas foliares de plantas de pimentão, para análise da atividade da enzima Nitrato Redutase



3.14.5.2 Coleta e armazenamento do material vegetal

Para a realização das análises bioquímicas foi coletado material foliar (cinco plantas por tratamento) nos mesmos dias correspondentes às avaliações. As folhas foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e congeladas em N líquido sendo mantidas em *Freezer* a -80°C , até o momento das extrações.

3.14.5.3 Procedimento para obtenção do extrato bruto

As folhas foram maceradas em almofariz com N líquido, até obtenção de um pó fino, o qual foi transferido para tubos *Falcon*, sendo novamente mantidas em *Freezer* a -80°C , para realizar as análises do teor de proteínas solúveis e atividade enzimática.

O extrato para as análises da concentração de proteínas solúveis e atividade enzimática (SOD e CAT), foi obtido pela resuspensão do material vegetal (400mg) em 5,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,7 e suplementando com 300 mg de PVPP (polivinilpolipirrolidona). Depois, foi centrifugado por 15 minutos a $5000 \times g$, sendo o sobrenadante coletado e armazenado em freezer -80°C .

Figura 11- Maceração das folhas para obter os extratos brutos



3.14.5.4 Determinação do teor de proteína solúvel total (PST)

A concentração de proteína solúvel foi determinada em triplicata, pelo método de Bradford (1976), ao extrato obtido (100µL) foram adicionados 4,9 mL do reativo Bradford, após 15 minutos se fez a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda 595 nm. A leitura obtida foi comparada com a proteína padrão albumina de soro bovino (BSA) a traves da equação da reta.

3.14.5.5 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

A atividade desta enzima foi determinada pela adição de 50 µL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 µM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 µM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7.8, conforme descrito por (DEL LONGO et al., 1993).

A reação foi iniciada pela iluminação das placas, em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25°C. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotoredução do NBT foi determinado pelo incremento na absorção, feita por espectrofotometria com leituras a 560 nm. Os tubos considerados *branco* para a análise receberam os mesmos reagentes, porém foram mantidos cobertos com papel alumínio. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima necessária para a inibição de 50 % da fotoredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima toma-se a percentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

$$\text{Atividade específica} = \frac{\text{Controle} - \text{Amostra}}{\text{Controle}} \times 100\% \text{ inibição} \quad (14)$$

3.14.5.6 Determinação da atividade da enzima catalase (CAT)

Foram utilizados 50 µL de extrato bruto, adicionando 950 µL de solução tampão fosfato de potássio 50 nM, pH7,0 complementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12,5 mM. A atividade desta enzima foi determinada pela leitura no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 240 nm, pelo monitoramento da variação de absorção do peróxido de hidrogênio (80 s),

conforme Peixoto et al. (1999). Na atividade específica da catalase, se levou em consideração a concentração de proteína solúvel ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$).

3.14.6 Análises da razão isotópica de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$

As amostras foram analisadas no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências da Unesp - *campus* de Botucatu. As amostras vegetais (folhas) foram secas em estufa de ventilação forçada, a temperatura de 50°C por um período de 48 h. Todas as amostras foram moídas individualmente durante três minutos a -196°C , em moinho criogênico de nitrogênio líquido (Spex 6700-230 freezer/mill – Spex Industries, Edison, Estados Unidos). O material obtido foi homogêneo e de finíssima granulometria (DUCATTI et al., 1982).

Foram utilizadas entre 50-70 μg de material vegetal moído para análise da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e aproximadamente 500-700 μg para a medida da razão isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. As amostras foram pesadas em cápsulas de estanho e introduzidas por meio de amostrador automático no analisador Elemental (EA 1108 – CHN – Fisons Instruments, Rodano, Itália) onde, em presença de oxigênio (O_2) e óxido de cobre (CuO) a amostra foi incinerada quantitativamente para a obtenção de CO_2 e NO_x ; este último foi reduzido a N_2 na presença de cobre. Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massas de razões isotópicas (Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha).

Os valores das razões isotópicas foram expressos em delta per mil ($\delta\text{‰}$) relativos aos padrões internacionais *PeeDee Belemnite* (PDB) para o ^{13}C e, nitrogênio do ar atmosférico para ^{15}N , de acordo com a seguinte equação geral:

$$\delta\text{‰} (\text{amostra, padrão}) = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] \times 1000 \quad (15)$$

Em que R representa a razão entre o isótopo menos abundante e o mais abundante, em particular $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. Cada amostra foi analisada duas vezes para a obtenção dos valores médios; as medidas foram repetidas quando o desvio padrão for superior que 0,2‰ para $\delta\text{‰ } ^{13}\text{C}$ e 0,4‰ para $\delta\text{‰ } ^{15}\text{N}$.

3.14.7 Produção de frutos

Foram designadas 20 plantas por tratamento. A colheita foi feita sempre e quando os frutos apresentaram 70% de coloração vermelha. Frutos com deformidades, podridões ou queimadura, foram considerados como não comerciais (NC). Além disso determinou-se o número e massa de cada fruto.

A cultura de pimentão em estufa tem uma duração de colheita de até 270 dias, com uma produção total de 150 t ha⁻¹ (HORTIFRÚTI, 2017). Porém para os dois ensaios (inverno e verão) o período de colheita teve uma duração de 28 dias. Ressalta-se que esse período foi determinado devido a que as plantas do tratamento controle depois da retirada dos frutos com coloração vermelha, apresentavam frutos de tamanho considerável e continuavam florescendo, enquanto que as plantas dos tratamentos sob DH apresentavam o mínimo pegamento de flores, o que se traduz em desvantagem para avaliação da produtividade nas plantas com restrição hídrica.

A massa total de frutos por planta é calculada conforme equação 16.

$$\text{MTFP} = \text{NFP} * \text{MMF} \quad (16)$$

Em que:

MTFP = massa total de frutos por planta (kg);

NFP = número de frutos por planta;

MMF = massa média de fruto (kg).

Para a determinação da produção total (PT) foi considerada uma densidade de 2,5 plantas por m² (densidade recomendada para a cultura) e conforme a equação 17 foi obtida a PT.

$$\text{PT} = (\text{MTFP} * \text{DP}) / 1000 \quad (17)$$

Em que:

PT= produção total (t ha⁻¹);

MTFP = massa total de frutos por planta (kg);

DP= densidade de plantação recomendada para a cultura (25 mil plantas ha⁻¹).

A equação 18 demonstra como foi obtida a porcentagem de frutos não comerciáveis.

$$\% \text{ FNC} = \text{NFP} * 100 / \text{FNC} \quad (18)$$

Em que:

% FNC= porcentagem de frutos não comerciáveis;

NFP= número de frutos por planta;

FNC= frutos não comerciáveis.

Finalmente foi obtida a produção comercial de frutos maduros determinada pela equação 19.

$$\text{PC} = \text{PT} - (\% \text{FNC} * \text{PT} / 100) \quad (19)$$

Em que:

PC= produção comercial (t ha^{-1});

PT= produção total (t ha^{-1});

% FNC= porcentagem de frutos não comerciáveis.

Figura 12- Frutos de pimentão (verdes) sob três lâminas de irrigação. (A) Frutos do tratamento controle, (B) frutos do tratamento deficiência hídrica moderada e (C) frutos do tratamento deficiência hídrica severa



Figura 13- Frutos de pimentão (maduros) sob três lâminas de irrigação. (A) Frutos do tratamento controle, (B) frutos do tratamento deficiência hídrica moderada e (C) frutos do tratamento deficiência hídrica severa



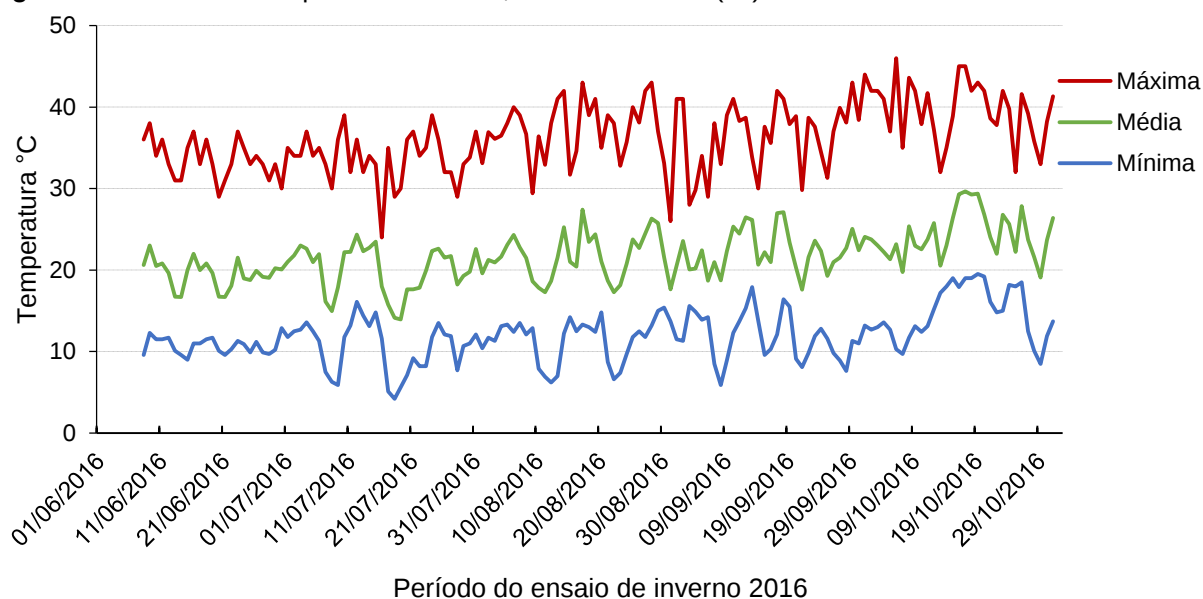
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados no presente trabalho são referentes aos ensaios de inverno e verão, conforme descrito em matérias e métodos (item 3.1). Serão apresentadas temperaturas máximas, medias e mínimas do interior da estufa agrícola, relações hídricas, parâmetros de crescimento, avaliação nutricional das folhas, características fisiológicas das plantas, análises bioquímicas, discriminação isotópica do ^{13}C e ^{15}N e produção de frutos.

4.1 Temperatura máxima, média e mínima do ar

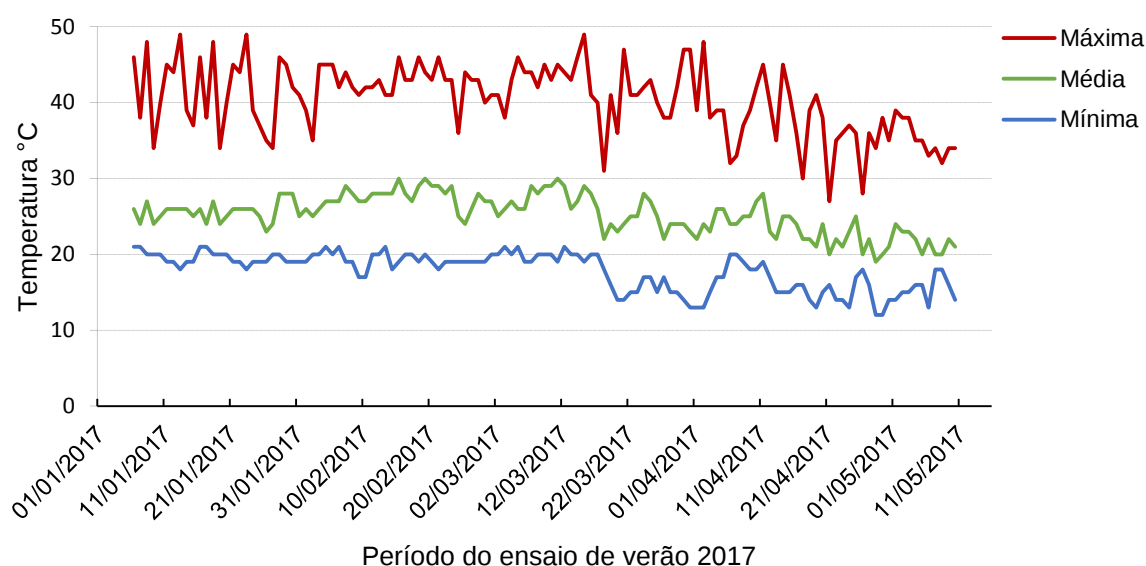
Na Figura 14 se observam os valores registrados da temperatura máxima, média e mínima no interior da estufa para o ensaio de inverno. Em que a faixa da temperatura máxima foi entre os 24 e 46 °C, a temperatura média entre os 14 e 29 °C, já a temperatura mínima registrada foi entre os 4 e 20 °C.

Figura 14- Valores da temperatura máxima, média e mínima (°C) no interior da estufa no inverno



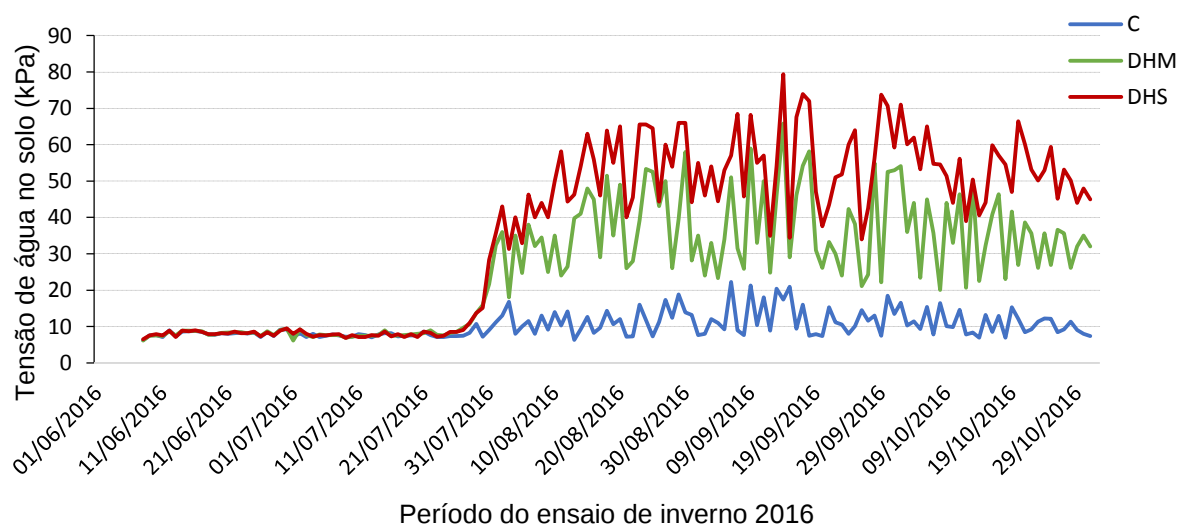
Na figura 15 se observa que a faixa de temperaturas máximas registradas no ensaio de verão foi entre os 27 e 49 °C as temperaturas medias entre os 19 e 30 °C, finalmente as temperaturas mínimas registradas foram entre a faixa de 12 e 21 °C. Pode-se observar nas figuras 14 e 15 que o ensaio de verão apresentou as faixas de temperaturas máximas médias e mínimas maiores do que no inverno, o que provavelmente influenciou na diferença no crescimento e produtividade de frutos de pimentão entre os dois ciclos, além dos tratamentos hídricos.

Figura 15- Valores da temperatura máxima, média e mínima (°C) no interior da estufa no verão

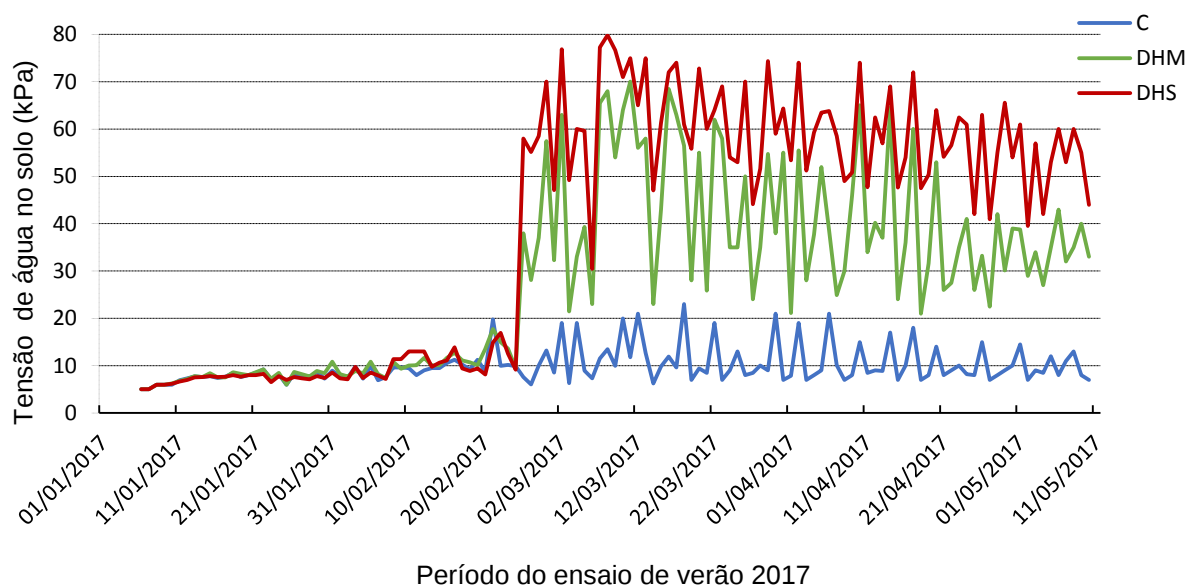


4.2 Tensão de água no solo

Para o tratamento controle a tensão de água no solo tentou-se manter na faixa de 10 a 15 kPa, para o tratamento DHM de 34 a 40 KPa e para o DHS de 54 a 60 kPa. No entanto, com o processo da evapotranspiração (parâmetros climáticos) e crescimento da planta, procedeu-se a irrigar ou não, dependendo da tensão média registrada diariamente em cada tratamento. Na figura 16 se observa a tensão de água no solo registrada diariamente para o ensaio de inverno.

Figura 16- Tensão de água no solo no ensaio de inverno

A quantidade de água aplicada foi conforme a tensão correspondente para cada tratamento. Na figura 17 pode-se observar as tensões de água no solo para os três tratamentos no ensaio de verão.

Figura 17 Tensão de água no solo, no ensaio de verão

A quantidade de água aplicada para cada tratamento foi diferente nos ensaios de inverno e verão (quadro 5), sendo as plantas do tratamento controle no ensaio de inverno as quais consumiram a maior quantidade de água, quando comparadas com o ensaio de verão.

Quadro 5- Quantidade de água aplicada ($L\ planta^{-1}$) na cultura de pimentão, nos ensaios de inverno e verão

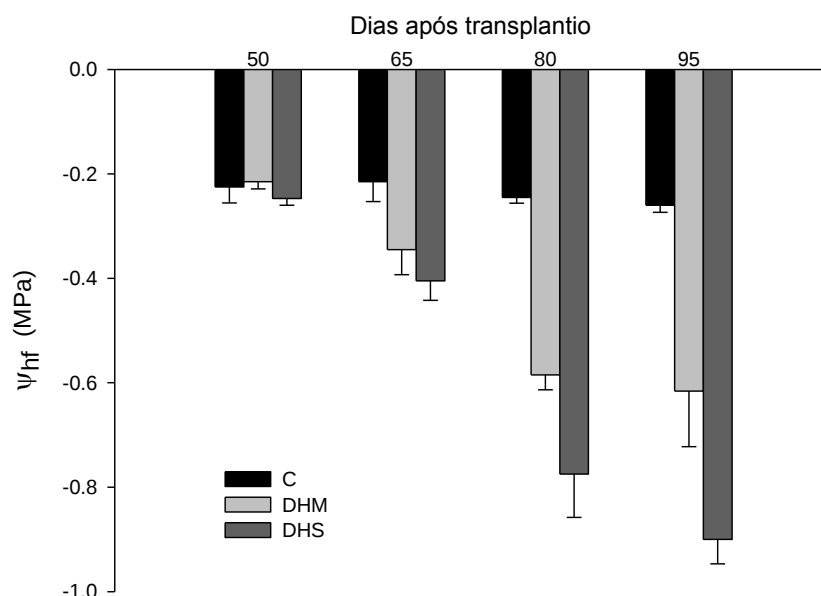
Tratamentos	Inverno	Verão
C	71	68
DHM	44	49
DHS	35	38

4.3 Relações hídricas

4.3.1 Potencial hídrico foliar

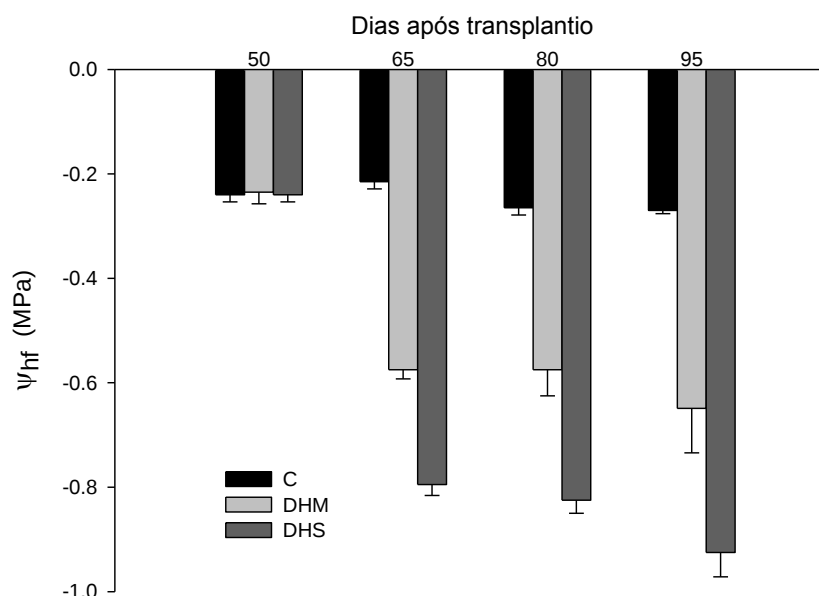
O potencial hídrico foliar (ψ_{hf}) é um indicador real do estado hídrico das plantas. Observou-se que aos 50 DAT, quando todas as plantas estavam sendo irrigadas regularmente, os valores de ψ_{hf} não se diferenciaram entre os tratamentos (Figura 18). Nas quatro avaliações feitas aos 50, 65, 80 e 95 DAT, as plantas do tratamento controle mantiveram valores de potencial hídrico entre -0,22 e -0,26 MPa. Após a imposição da DH nas plantas do tratamento DHM e DHS os valores de ψ_{hf} começaram a diminuir. Neste contexto, as estratégias das plantas à tolerância da deficiência hídrica, incluem vários processos fisiológicos e bioquímicos, entre eles redução do ψ_{hf} ocasionado pelo fechamento dos estômatos (NARDINI et al., 2001) induzido pela biossíntese de ABA (ácido abscísico) na zona radicular e translocado para a parte aérea (KRAMER; BOYER, 1995). Neste ensaio, comprovou-se que o ψ_{hf} diminuiu nas plantas dos tratamentos DHM e DHS paralelamente com a condutância estomática (gs) conforme resumido na Tabela 17, o que corrobora relação direta entre ambas as variáveis quando as plantas têm menor disponibilidade de água no solo.

Figura 18- Potencial hídrico foliar (MPa) medido antes do amanhecer em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



No cultivo de verão se observou que as plantas do controle mantiveram valores de potencial hídrico entre -0,24 e - 0,27 MPa durante as avaliações realizadas. Entretanto, as plantas dos tratamentos DHM e DHS após a imposição dos tratamentos apresentaram valores entre -0,58 e -0,65 MPa, -0,80 e -0,93 MPa respectivamente. Esses resultados indicam que as plantas sob DH tiveram menor disponibilidade de água no solo conforme a severidade da deficiência hídrica. Reduções da umidade no solo podem afetar a produtividade final das culturas, já que o pimentão foi afetado conforme a severidade da redução de água no solo, diminuindo a produção dos frutos nos ensaios inverno e verão (Quadros 6 e 7).

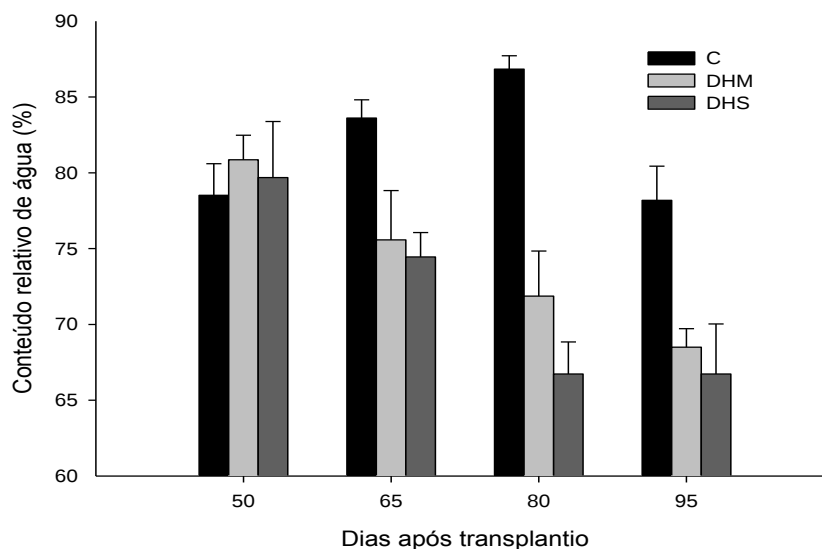
Figura 19- Potencial hídrico foliar (MPa) medido antes do amanhecer em plantas de pimentão cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



4.3.2 Conteúdo relativo de água

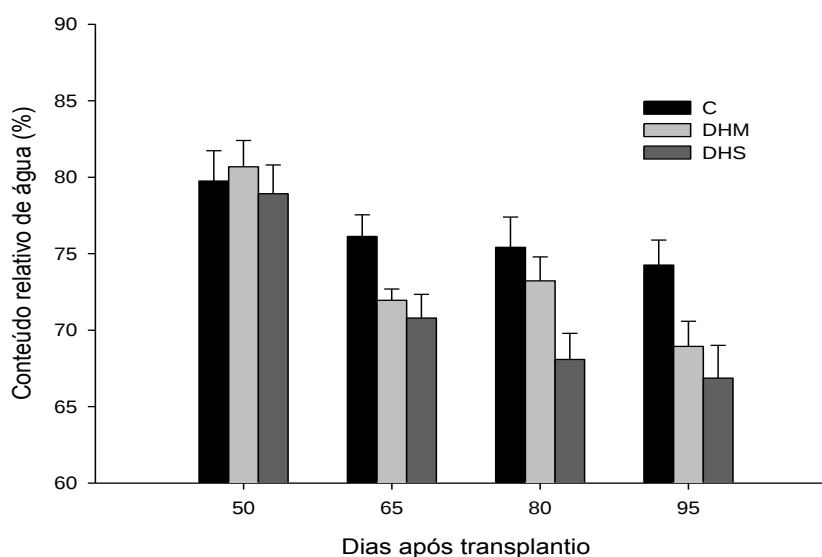
O conteúdo relativo de água (CRA) em órgãos vegetais é uma ferramenta útil para avaliar o estado hídrico da planta. Neste estudo, o CRA diminuiu em função da redução de água, indicando restrição da disponibilidade de água no solo (Figura 20). No inverno observou-se que os tratamentos hídricos se diferenciaram em relação ao controle, principalmente aos 80 DAT. Igualmente para a cultura do tomateiro, valores de CRA foram reduzidos significativamente em diferentes níveis de irrigação (KUSVURAN; DASGAN, 2017).

Figura 20 - Conteúdo relativo de água (%) em folhas em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



No verão (Figura 21), o CRA em tecidos foliares diminuiu no tratamento DHM em 5,5, 2,9 e 7,2% aos 65, 85, e 95 DAT, quando comparado com o tratamento controle. Já para o tratamento DHS o CRA diminuiu em 7% 9,7% e 10% aos 65, 85, e 95 DAT, respectivamente, quando comparado ao tratamento controle. A diminuição de água no solo reflete menor CRA nas folhas, o que pode se correlacionar com a maior transpiração das plantas. Esse comportamento, aparentemente foi ocasionado pelo efeito das altas temperaturas e a deficiência hídrica.

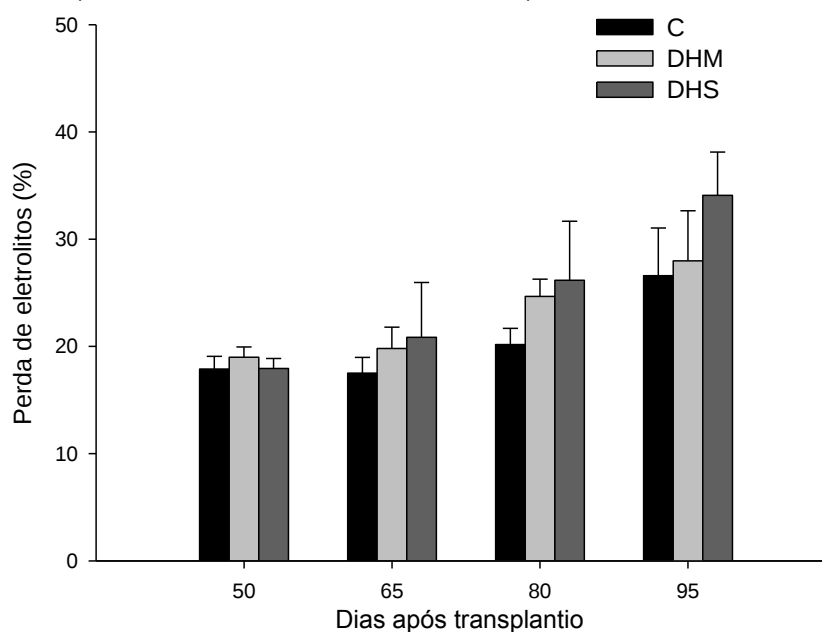
Figura 21 - Conteúdo relativo de água (%) em folhas em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



4.3.3 Perda de eletrólitos

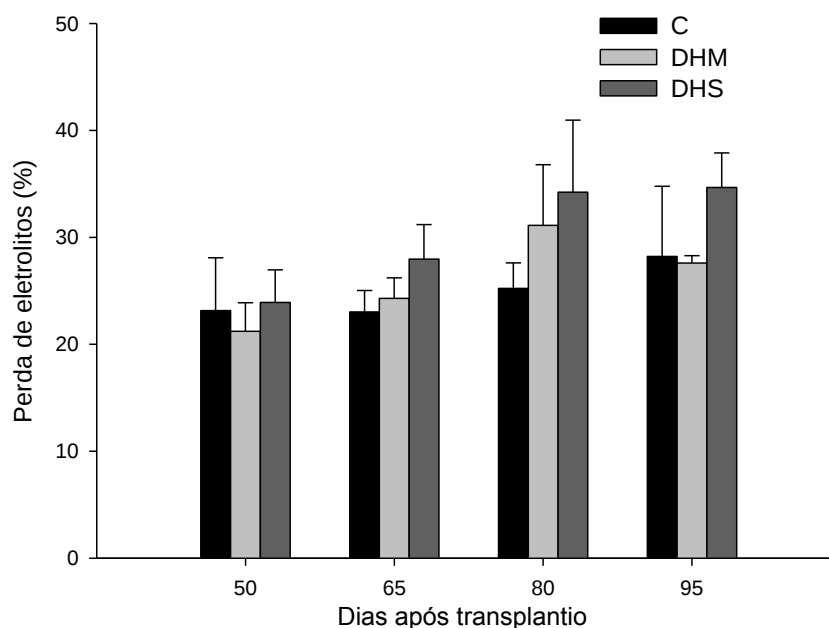
A variável perda de eletrólitos (PE) implica dano pelo estresse oxidativo na membrana das folhas, resultando em vazamento de eletrólitos, água e materiais solúveis da célula para o espaço intercelular das plantas (SHARMA et al., 2012). Na Figura 22 se observa que para o ensaio de inverno a porcentagem de perda de eletrólitos foi aumentando conforme a severidade da deficiência hídrica e no decorrer do tempo. O qual está relacionado com potencial hídrico foliar mais negativo e menor CRA.

Figura 22- Perda de eletrólitos (%) em plantas de pimentão cultivadas no inverno, sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



Os resultados de PE no ensaio de verão foram similares aos de inverno, porém com valores levemente maiores, provavelmente à maior área foliar (Tabela 8) o que representa folhas mais delgadas. Desse modo, diferentes estudos corroboram aumento da PE em plantas sob DH. Resultados similares foram encontrados em plantas de *Solanum scabrum* Mill. (espécie solanácea) submetidas à deficiência hídrica severa, em que houve aumento considerável da PE o que levou a seu crescimento mais lento (ASSAHA et al., 2016).

Figura 23- Perda de eletrólitos (%) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



4.4 Variáveis de crescimento

4.4.1 Altura das plantas

Para a variável altura de plantas no ensaio de inverno (Tabela 1), apenas a DHS ocasionou alterações aos 80 e 95 DAT, em que as plantas apresentaram os valores mais baixos, quando comparadas às do tratamento controle. Resultados similares aos deste ensaio foram constatados por Morales et al. (2015) em plantas de tomateiro em ambiente protegido, em que a variável altura de plantas foi diminuída paralelamente com redução da umidade no solo.

Tabela 1- Altura (cm) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	51,2 a	63,4 a	71,2 a	73,7 a
DHM	53,2 a	63,6 a	66,3 ab	71,1 ab
DHS	48,1 a	59,3 a	59,2 b	62,6 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplantio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

No verão (Tabela 2), exclusivamente a DHS influenciou na altura das plantas após a imposição da deficiência hídrica e ao longo das avaliações. As respostas das plantas à DH no seu crescimento diferem entre espécies vegetais. Por exemplo, em plantas de melão (*Cucumis melo* L.) a altura das plantas sob o 80% e 60% da evapotranspiração da cultura (ETc) diferiu significativamente das plantas irrigadas sob o 100% da ETc (MIRABAD et al., 2013).

Tabela 2-. Altura (cm) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	78,9 a	105,2 a	107,2 a	115,6 a
DHM	77,8 a	98,8 a	100,1 ab	104,0 ab
DHS	83,1 a	88,0 b	90,3 b	102,6 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.4.6 Diâmetro de caule

No inverno (Tabela 3), os tratamentos DHM e DHS afetaram de maneira similar o diâmetro de caule (DC) das plantas, exclusivamente aos 80 e 95 DAT. Os resultados obtidos neste trabalho diferem aos reportados por Padron et al. (2010), os quais trabalharam com plantas de pimentão sob diferentes lâminas de irrigação, esses autores não encontraram diferenças significativas no DC por efeito da DH, quando comparadas com as plantas controle.

Tabela 3 - Diâmetro (mm) de caule em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	8,3 a	9,6 a	12,8 a	12,8 a
DHM	8,4 a	9,5 a	10,1 b	11,3 b
DHS	7,6 a	9,0 a	9,7 b	10,4 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

No ensaio de verão (Tabela 4) aos 65 DAT unicamente a DHS repercutiu na redução do DC. Já na última avaliação (95 DAT) as plantas dos tratamentos DHM e DHS sofreram alterações negativas para essa variável.

Tabela 4- Diâmetro (mm) de caule em plantas de pimentão, cultivadas sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	4,9 a	11,6 a	11,3 a	12,4 a
DHM	4,5 a	10,7 ab	10,8 a	11,2 b
DHS	5,6 a	9,7 b	10,3 a	10,5 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.4.4 Número de folhas e área foliar

No ensaio de inverno (Tabela 5) para as variáveis número de folhas (NF) e área foliar (AF), houve alterações após 15 dias do início dos tratamentos somente por efeito da DHS, repetindo-se ao final do experimento (95 DAT). Apenas aos 80 DAT, os tratamentos hídricos DHM e DHS se comportaram de maneira semelhante, ocasionando menor NF e AF quando comparados ao controle. Para a variável área foliar (AF), os resultados obtidos diferem dos reportados por Shao et al. (2010), os quais fizeram quatro avaliações com pimentão e na última (102 DAT), a área foliar diminuiu para todos os tratamentos, inclusive para o controle. No presente estudo, aos 95 DAT, a AF aumentou para os três tratamentos. No entanto o controle foi numericamente maior que o tratamento DHM e significativamente superior ao DHS. Este resultado indica efeito da diminuição geral da área foliar em função da severidade da DH.

Tabela 5- Número de folhas e área foliar (cm²/planta) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	NF	AF (cm ²)	NF	AF (cm ²)	NF	AF (cm ²)	NF	AF (cm ²)
C	26,0 a	988,2 ^a	62,0a	2062,7 a	101,0a	2513,1 a	112,0a	3025,3 a
DHM	26,0 a	1085,7a	57,0ab	1862,0ab	65,0b	1610,5 b	88,0ab	2558,9 ab
DHS	27,0 a	1032,2a	45,0b	1556,6b	48,0b	1104,1 b	67,0b	1750,6 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; NF= Número de Folhas; AF= Área Foliar; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

As folhas se expandem recebendo luz e CO₂ para realizar o processo de fotossíntese, ocorrendo também a transpiração de água para seu resfriamento. A expansão foliar é determinada por fatores genéticos ou ambientais (HUSSAIN; BARKET, 2015) e também pode ser afetada pela disponibilidade de água no solo. Diante disso, observou-se diferenças no NF e AF, com menores valores no ensaio de inverno quando comparado com o verão. Provavelmente pelo efeito do aumento das temperaturas e maior transpiração (Figura 33) o que demanda maior água para o crescimento vegetativo.

Consequentemente, no verão aos 65 DAT apenas a DHS ocasionou efeito negativo no NF e AF (Tabela 6). Já aos 95 DAT, unicamente a DHS repercutiu na variável AF. Os resultados obtidos neste ensaio concordam aos citados por Ahmed et al. (2014) em plantas de pimenta ardida (*Capsicum annuum* cv. Battle), os quais reportaram que a área foliar diminuiu consideravelmente conforme a severidade da restrição hídrica no solo (85, 70 e 55% da capacidade de campo).

Tabela 6- Número de folhas e área foliar (cm²/planta) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	NF	AF (cm ²)	NF	AF (cm ²)	NF	AF (cm ²)	NF	AF (cm ²)
C	50,4 a	1605,9 a	118,8 a	4911,6 a	99,0 a	3972,1 a	116,8 a	4667,9 a
DHM	47,4 a	1436,7 a	85,8 ab	3665,8 ab	93,8 a	3870,4 a	96,4 a	4118,4 ab
DHS	50,0 a	1521,7 a	65,4 b	2236,8 b	71,4 a	2835,9 a	74,0 a	2956,6 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; NF= Número de Folhas; AF= Área Foliar; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa

4.4.1 Massa fresca e seca de raízes

No ensaio de inverno a massa fresca (MF) e massa seca (MS) de raízes não foi alterada aos 50 DAT, ou seja, até o momento do início dos tratamentos hídricos (Tabela 7). Nos demais tempos de avaliação (65, 80 e 95 DAT) DHS acumulou massa fresca significativamente menor denotando que o fator água restringiu o crescimento radicular. No entanto, para a variável massa seca nas quatro

avaliações, os tratamentos tiveram o mesmo comportamento exceto aos 80 DAT em que o tratamento controle foi significativamente maior que o DHS.

Resultados diferentes aos deste estudo foram publicados por Kulkarni e Phalke (2009) que, ao aplicarem 50% da NHC da cultura de pimenteira, verificaram que plantas sob DH apresentaram significativamente menor MS de raiz quando comparadas com as plantas do tratamento controle. No entanto, todas as cultivares sob DH apresentaram maior comprimento de raiz primária quando comparadas com as plantas controle.

Tabela 7- Massa fresca e seca de raízes (g) em plantas pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
C	18,6 a	1,8 a	43,9 a	6,3 a	66,9 a	7,8 a	83,4 a	10,3 a
DHM	17,1 a	1,5 a	30,4 ab	5,6 a	50,9 ab	6,4 ab	70,3 ab	9,1 a
DHS	15,4 a	1,5 a	21,3 b	4,5 a	47,1 b	6,0 b	50,9 b	7,3 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; MF= Massa Fresca; MS= Massa Seca; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

As respostas das plantas à escassez de água são complexas, envolvendo mudanças deletérias ou adaptativas sob essas condições. Por exemplo, no ensaio de verão (Tabela 8) exclusivamente aos 65 DAT, a DHS causou diminuição considerável na massa fresca e seca de raízes embora este efeito tenha sido superado nas demais avaliações (80 e 95 DAT).

Resultados similares foram reportados por Dorjick et al. (2005) em plantas de pimenteira irrigadas com 50 % da NHC. Com este tratamento, não observaram diferença significativa de MS da raiz em relação às plantas do controle. Para as plantas de pimentão, concluiu-se que sob DH, a raiz é um órgão vegetativo de resistência capaz de atender suas necessidades de absorção de água e nutrientes, impulsionando o crescimento mesmo em condições de deficiência hídrica.

Tabela 8- Massa fresca e seca de raízes (g) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
C	30.7 a	3,9 a	47.3 a	6,9 a	51.8 a	7,9 a	82,3 a	9,4 a
DHM	31.7 a	3,6 a	43.8 a	5,6 ab	47.2 a	6,7 a	81,3 a	9,1 a
DHS	33.8 a	4,1 a	28.3 b	4,3 b	41.4 a	6,7 a	65,5 a	7,1 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; MF= Massa Fresca; MS= Massa Seca; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.4.2 Massa fresca e seca de caule

No ensaio de inverno a comparação de médias da MF de caule (Tabela 9) apenas as plantas do tratamento DHS foram alteradas, apresentando menor massa aos 65 e 95 DAT. Já os 80 DAT a MF de caule diminuiu com efeito similar pelos tratamentos sob DH. A MS de caule diminuiu aos 65 e 80 DAT em resposta à DHS. Ressaltasse que a DHM teve efeito na massa seca de caule até os 95 DAT, apresentando comportamento similar à DHS. Assim, a MF e MS de caule refletem e se correlacionam bem com o efeito da DHS sobre a variável de altura de plantas (Tabela 1), o qual foi significativamente diferente quando comparado às plantas do controle. O mesmo efeito não se repetiu para as plantas do tratamento DHM, sendo similarmente correlacionado com esta variável. Da mesma forma, Morales et al. (2015) trabalharam com duas cultivares de tomateiro mantidos sob deficiência hídrica verificaram que, quanto maior for a redução da umidade do solo as plantas tendem a diminuir a massa fresca e seca do caule.

Tabela 9- Massa fresca e seca de caule (g) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
C	18,8 a	2,7 a	51,3 a	7,8 a	78,7 a	11,8 a	79,2 a	14,0 a
DHM	19,3 a	2,8 a	47,1 a	7,2 a	56,0 b	9,8 ab	68,8 ab	12,3 b
DHS	18,0 a	2,3 a	32,7 b	5,4 b	42,3 b	7,8 b	49,6 b	9,1 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; MF= Massa Fresca; MS= Massa Seca; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Muitos trabalhos agrônômicos têm buscado correlação entre redução no potencial hídrico foliar e crescimento vegetal, considerando-se a sensibilidade de cada espécie à DH. Porém, tudo depende da espécie, duração da DH, condições ambientais e época de aplicação (HSIAO; ACEVEDO,1977). Como pode-se observar, no ensaio de verão (Tabela 10) a MF de caule foi afetada paralelamente com a severidade da DH apenas aos 65 DAT, no entanto aos 80 DAT a DH não teve efeito negativo para essa variável. O efeito da restrição hídrica foi observado novamente aos 95 DAT, sendo a DHS que provocou diminuição significativa da MF de caule. Do mesmo modo, a MS de caule teve repercussão aos 65 e 95 DAT por efeito da DHS, o que sugere que as plantas de pimentão sob DHM conseguiram se adaptar bem mantendo o seu crescimento vegetativo similar às plantas do controle.

Tabela 10- Massa fresca e seca de caule (g) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
C	53,6 a	7,4 a	162,3 a	24,0 a	124,4 a	25,1 a	150,3 a	30,9 a
DHM	52,4 a	7,8 a	108,5 b	20,1 a	104,5 a	18,3 a	133,7 a	27,8 a
DHS	55,9 a	7,8 a	65,5 c	11,2 b	101,7 a	18,4 a	91,4 b	19,3 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; MF= Massa Fresca; MS= Massa Seca; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.4.3 Massa fresca e seca de folhas

A massa fresca de folhas no inverno (Tabela 11), sofreu diminuição significativa em consequência da DHS aos 65 e 95 DAT, no entanto, aos 80 DAT a redução dessa variável foi ocasionada de maneira similar pela DHM e DHS. Para a variável massa seca de folhas aos 65 e 80 DAT, houve diminuição semelhante entre os tratamentos da deficiência hídrica. Já aos 95 DAT, aparentemente as plantas da DHM conseguiram se adaptar à falta de água, sendo o tratamento da DHS que manteve o mesmo comportamento negativo, desde o início da DH até o final do período avaliado. Estes resultados concordam aos obtidos por Silva et al. (2016) que ao irrigar pimenta (*Capsicum chinense*) até 80% da necessidade hídrica, não verificaram efeitos significativos na produção de folhas, embora uma porcentagem menor da produção de biomassa vegetal tenha sido afetada negativamente.

Tabela 11- Massa fresca e seca de folhas (g) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
C	40,9 a	5,4 a	81,5 a	11,2 a	85,7 a	12,1 a	104,0 a	15,3 a
DHM	42,0 a	5,6 a	69,3 ab	9,0 b	55,1 b	8,7 b	90,0 ab	13,6 ab
DHS	43,1 a	5,8 a	58,3 b	8,2 b	39,4 b	7,0 b	64,0 b	9,9 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; MF= Massa Fresca; MS= Massa Seca; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

No verão, pode-se observar que os valores da massa fresca e seca de caule e folhas, foram superiores aos registrados no ensaio de inverno. Isto pode ser provavelmente devido ao aumento das temperaturas e maior fotoperíodo, trazendo como consequência maior consumo hídrico das plantas o que pode ter contribuído ao crescimento acelerado das mesmas. Esse efeito também foi notado na produtividade de frutos. Por outro lado, no ensaio de verão após 15 dias da aplicação da deficiência hídrica (65 DAT) apenas o tratamento DHS apresentou diminuição drástica na MF e MS de folhas, enquanto que DHM foi indiferente.

Aos 80 DAT, o efeito da DH aparentemente não ocasionou efeito algum, quando os tratamentos de estresse não se diferenciaram do controle, seja para MF

ou MS. No final do ensaio (95 DAT), o resultado observado aos 65 DAT se repetiu com ênfase para o tratamento DHS.

Buscando correlações com outros parâmetros biométricos, observa-se que a massa foliar acompanha os efeitos da DH observados sobre o número de folhas e área foliar (Tabela 6). Além disso, os índices de transpiração a serem discutidos no item 4.7.1.4 também acompanharam os efeitos do estresse de DH, porém variando em função da época de cultivo. No inverno, as plantas utilizaram uma estratégia de menor desenvolvimento em área foliar, diminuindo assim a superfície de transpiração para menor perda de água (Tabela 21). No verão, a área foliar foi maior em resposta a fotoperíodo mais longo, o que resultou em MF e MS relativamente maiores que as plantas cultivadas no inverno.

Tabela 12-. Massa fresca e seca de folhas (g) em plantas de pimentão, cultivadas no verão, sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
C	44,7 a	6,7 a	136,4 a	19,3 a	112,5 a	17,3 a	134,4 a	23,5 a
DHM	40,1 a	6,1 a	98,9 ab	15,3 a	109,3 a	17,6 a	111,2 ab	21,1 ab
DHS	42,5 a	6,8 a	60,0 b	9,0 b	90,1 a	12,9 a	79,7 b	16,3 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT: Dias Após Transplântio; MF= Massa Fresca; MS= Massa Seca; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

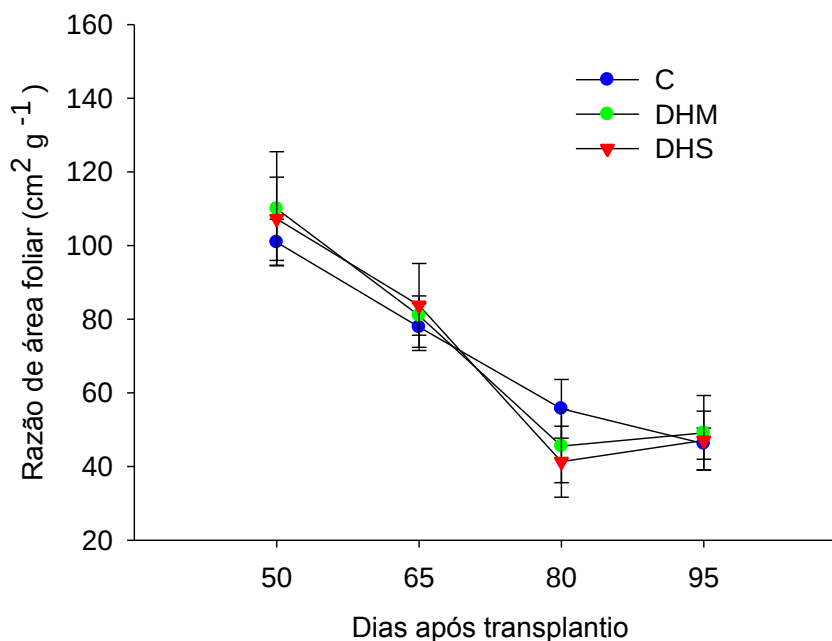
4.5 Índices de crescimento

4.5.1 Razão de área foliar (RAF)

O cálculo da razão de área foliar revela a direção da translocação de assimilados para as folhas em relação com a massa seca total da planta. No presente ensaio (Figura 24), houve diminuição geral de RAF indicando que a partir de 65 DAT os fotoassimilados nos três tratamentos foram translocados para outros órgãos vegetativos das plantas. Este efeito, inicia-se provavelmente em função do início do processo de frutificação, quando os fotoassimilados geralmente são de fato, translocados para a formação dos frutos. Aos 80 DAT o tratamento controle apresentou maior RAF, isto é atribuído a que a área foliar (Tabela 5) foi significativamente maior quando comparada com a dos tratamentos sob DH. Na

última avaliação, houve equilíbrio para os três tratamentos, sendo que nesta fase (95 DAT) os fotoassimilados ao invés de translocar-se para órgãos vegetativos, foram direcionados para frutos. No cultivo do pimentão Silva et al. (2010) analisaram RAF em função do espaçamento entre plantas. Os autores reportaram neste trabalho, que a RAF diminuiu em função da fase fenológica das plantas.

Figura 24- Razão de área foliar (RAF) em plantas pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa

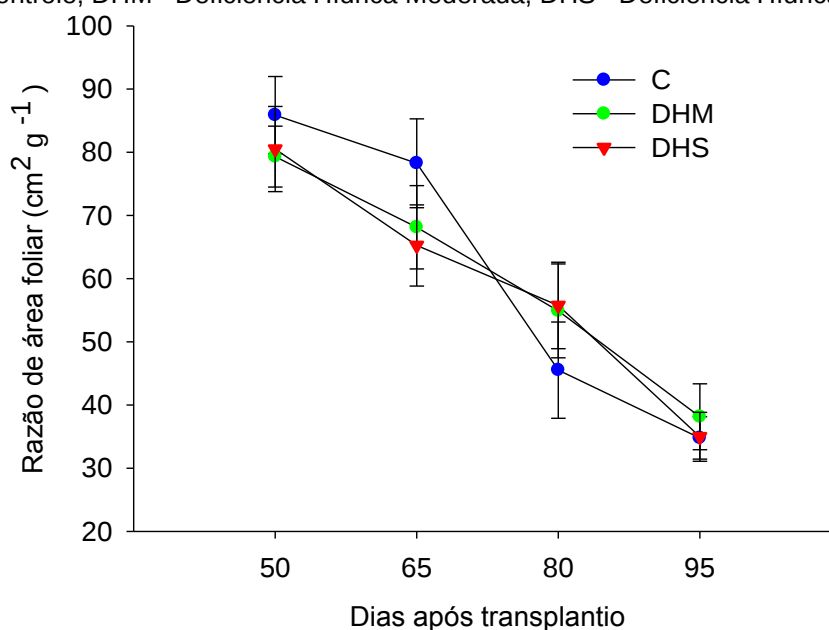


No ensaio de verão, a RAF das plantas de todos os tratamentos também foi diminuindo com o decorrer do tempo. Na primeira avaliação (50 DAT) as plantas de todos os tratamentos, tiveram valores similares, no entanto na segunda avaliação as plantas do controle apresentaram maior RAF, isto é atribuído a que as plantas tinham maior área foliar em razão a sua massa seca total.

Já na terceira avaliação (80 DAT) a RAF das plantas controle diminuiu apesar de ter maior área foliar, isto é, porque a partir dessa avaliação as plantas deste tratamento apresentaram a maior massa seca de frutos, o que representa maior massa seca total em razão à área foliar. As plantas sob DHM e DHS apresentaram o mesmo comportamento, tendo maior RAF na terceira avaliação em comparação ao controle. Já na última avaliação as plantas dos três tratamentos apresentaram o mesmo comportamento indicando que as plantas estão enviando fotoassimilados

para o crescimento dos frutos. Estudos feitos por Anyia e Herzog (2004), em diferentes cultivares de feijão na etapa de florescimento a DH diminuiu a RAF entre 5 e 20 % em quase todas as cultivares. Pelo qual pode-se dizer que o comportamento de uma planta em condições de DH além da severidade da restrição hídrica no solo, as mudanças adaptativas nas plantas também vão depender da espécie.

Figura 25- Razão de área foliar em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.



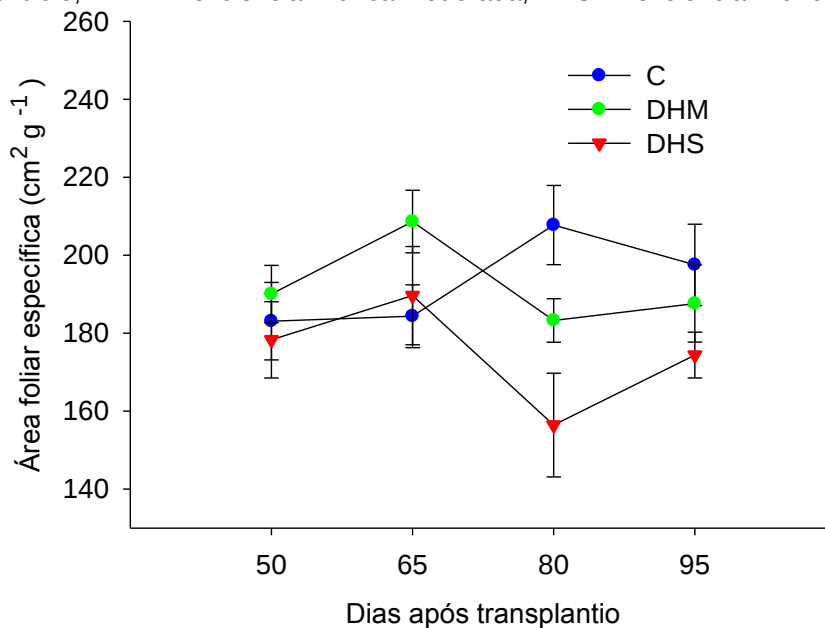
4.5.2 Área foliar específica (AFE)

A AFE é um índice de crescimento que relaciona a superfície foliar total com a massa seca da mesma (Figura 26). A DH é uma modalidade de estresse físico que pode afetar a expansão foliar (JENSEN et al., 1996).

Na avaliação do ensaio de inverno, plantas do tratamento controle não apresentaram alterações em AFE na primeira e segunda avaliação. Este bloco aumentou AFE aos 80 DAT, com expansão foliar maior na faixa de $207.7 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ com leve diminuição aos 95 DAT, com valores na faixa de $197.5 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$. Quando as plantas mantidas sob DH foram avaliadas, AFE aumentou entre a primeira e segunda coleta, com queda brusca aos 80 DAT, sempre com o tratamento DHS apresentando valores inferiores ao DHM.

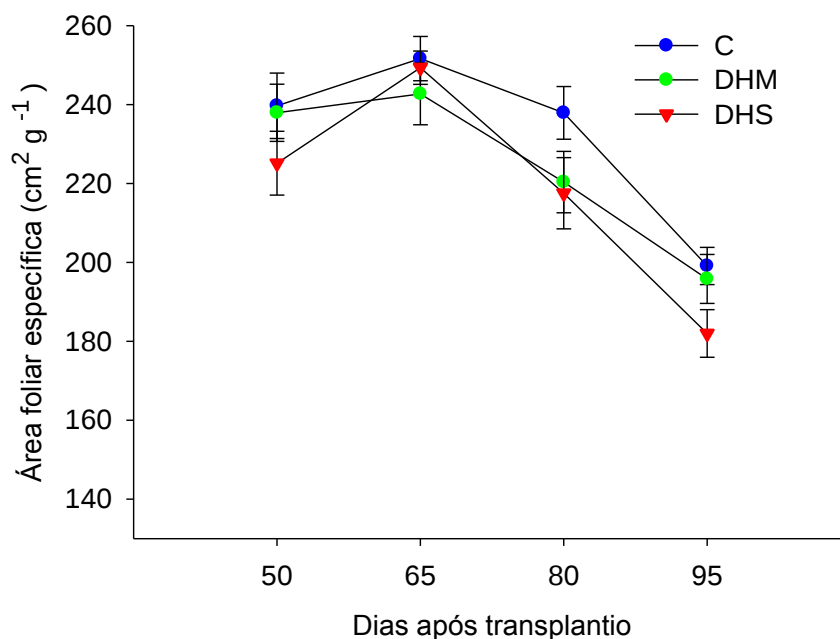
Ao final do experimento, esses tratamentos com DH aumentaram AFE, embora sempre apresentaram taxas menores que o tratamento controle. Nesse sentido, estudos feitos em diferentes espécies vegetais sob deficiência hídrica mostraram aumento ou diminuição da AFE, em função da espécie vegetal, etapa de crescimento, condições ambientais do cultivo, cultivar, fertilização, irrigação, etc. Por exemplo, entre diferentes genótipos de amaranto (*Amaranthus* spp.) a AFE diminuiu quando as plantas foram submetidas à DH comparadas com plantas regularmente irrigadas (LIU; STUTZEL, 2004). Em cultivares de amendoim e gergelim não houve diferença significativa na AFE para cultivar e regime hídrico, no entanto em mamona houve diferenças entre cultivares, e 19.39% de incremento da AFE das plantas estressadas quando comparadas com plantas controle (PINTO et al., 2008).

Figura 26- Área foliar específica em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



A área foliar específica tem sido usada como um indicador de espessura foliar. Uma estratégia das plantas sob DH é diminuir sua área foliar e apresentar folhas mais grossas para que a transpiração seja menor. Observe-se na Figura 27 que AFE nas plantas dos três tratamentos aumentaram na segunda avaliação e diminuiriam com o decorrer do tempo (80 e 95 DAT). Diante disso, pode-se concluir que a DH para o ensaio de verão não repercutiu na expansão foliar nas plantas de pimentão.

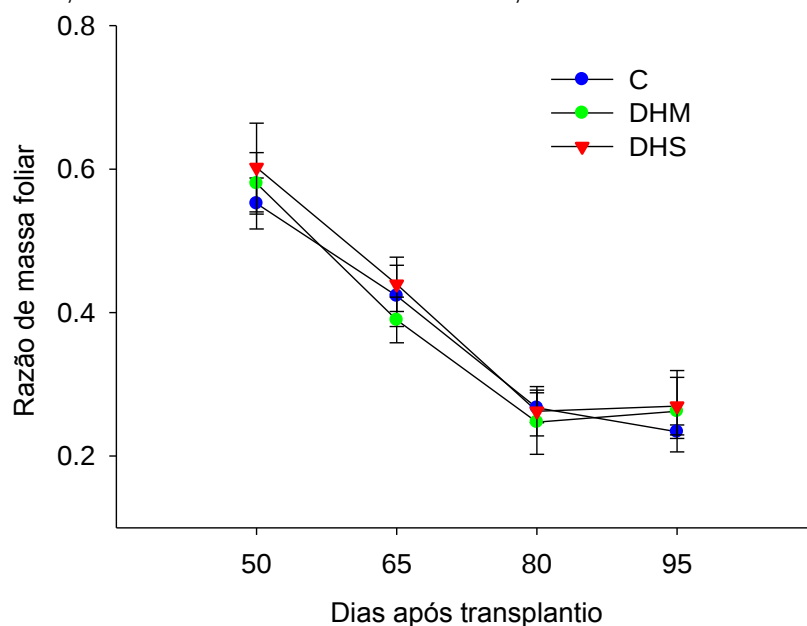
Figura 27- Área foliar específica em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



4.5.3 Razão de massa foliar (RMF)

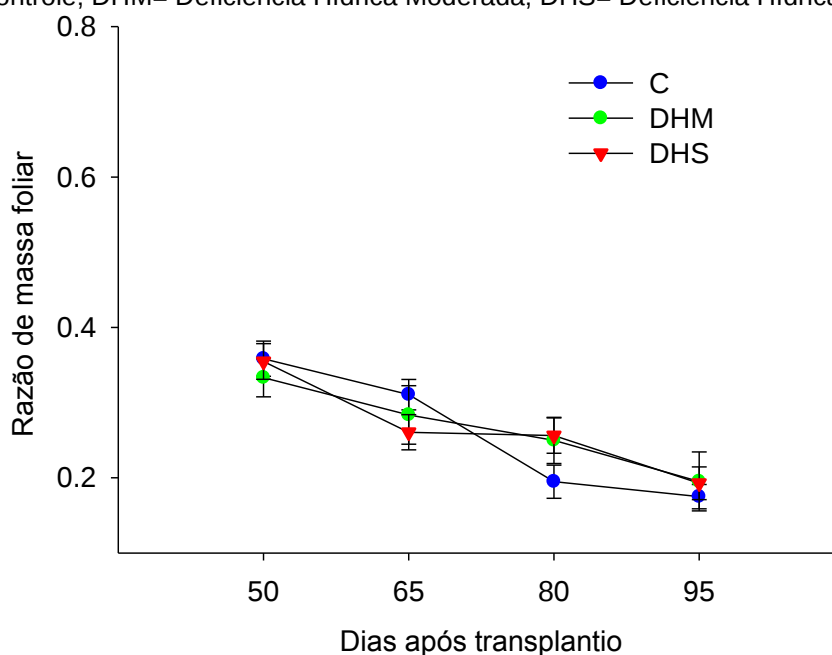
A razão de massa foliar representa um índice de crescimento inverso à AFE (Figura 28). No ensaio de inverno observou-se que para os três tratamentos houve diminuição geral de RMF em função do tempo, sem discriminar qualquer tratamento.

Figura 28- Razão de massa foliar em plantas pimentão cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



Na Figura 29 se observa que a razão da massa foliar no verão tendeu a diminuir nas plantas dos três tratamentos. Sendo que aos 80 e 95 DAT, as plantas do controle apresentaram os valores mais baixos de RMF. Como já foi dito anteriormente, as plantas do tratamento controle apresentaram maior massa seca total (somando a massa seca de frutos, dados não apresentados), quando comparadas com as plantas sob DH o que contribuiu menor RMF.

Figura 29- Razão de massa foliar em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica



4.6 Avaliação nutricional em folhas

4.6.1 Teor de macronutrientes em folhas de pimentão nos ensaios de inverno e verão

Diversos estudos reportam que a DH diminui o teor de nutrientes de folhas em diferentes cultivos (KIRNAK et al., 2002; KAYA et al., 2003).

A análise em folhas para os ensaios inverno e verão (Tabela 13), não revelou efeito dos tratamentos sobre o teor de macronutrientes. Os resultados obtidos em ambos os ensaios (inverno e verão), diferem aos reportados por Rouphael et al. (2008) os quais trabalharam com plantas de mini melancia sob DH, em que a concentração de macronutrientes nas folhas diminuiu significativamente, quando

comparadas com as do tratamento controle, a exceção foi o cálcio que manteve teor similar entre os tratamentos.

Tabela 13- Teor de macronutrientes em folhas de pimentão, nos ensaios inverno e verão sob três níveis de irrigação

Macronutrientes (g kg ⁻¹ MS)						
Inverno				Verão		
Tratamentos	Nutriente	50 DAT	95 DAT	Nutriente	50 DAT	95 DAT
C	N	42 a	48 a	N	50 a	33 a
DHM		43 a	46 a		50 a	31 a
DHS		43 a	45 a		52 a	27 a
C	P	3,3 a	2,5 a	P	3,4 a	1,2 a
DHM		3,4 a	2,0 a		3,2 a	1,1 a
DHS		3,4 a	2,1 a		3,0 a	1,1 a
C	K	60 a	57 a	K	41 a	45 a
DHM		62 a	56 a		38 a	42 a
DHS		59 a	54 a		39 a	39 a
C	Ca	20 a	21 a	Ca	11 a	23 a
DHM		20 a	19 a		10 a	20 a
DHS		19 a	17 a		9 a	18 a
C	Mg	9,6 a	7,9 a	Mg	4,9 a	5,7 a
DHM		9,8 a	7,4 a		4,6 a	5,0 a
DHS		10,1 a	6,5 a		4,7 a	4,6 a
C	S	4,6 a	4,0 a	S	3,8 a	2,8 a
DHM		4,4 a	3,8 a		3,5 a	2,7 a
DHS		4,2 a	3,5 a		3,6 a	2,4 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.6.2 Teor de micronutrientes em folhas de pimentão nos ensaios de inverno e verão

No inverno (Tabela 14), resultados similares aos observados no teor de macronutrientes também foram encontrados para o teor de micronutrientes, em que após 45 dias da imposição da DH não foram constatadas alterações para a maioria dos microelementos, a exceção do manganês e zinco, os quais diminuíram exclusivamente por efeito da DHS. No verão, apenas o teor de ferro foi diminuído de maneira similar e significativa por efeito da deficiência hídrica.

Os resultados obtidos no teor de macro e micronutrientes podem ser atribuídos à aplicação homogênea da fertilização em todos os tratamentos, conforme

recomendado por Trani e Carrijo (2004). Neste sentido, a fertilização frequente e alta solubilidade dos fertilizantes possivelmente contribuiu na absorção dos nutrientes, apesar da baixa disponibilidade de água nas plantas sob DH.

Tabela 14- Teor de micronutrientes em folhas de pimentão, nos ensaios inverno e verão sob três níveis de irrigação

Micronutrientes (mg Kg ⁻¹ MS)						
Inverno				Verão		
Tratamentos	Nutriente	50 DAT	95 DAT	Nutriente	50 DAT	95 DAT
C	B	34 a	47 a	B	49 a	89 a
DHM		33 a	46 a		47 a	61 a
DHS		31 a	39 a		45 a	51 a
C	Cu	15 a	27 a	Cu	11 a	9 a
DHM		13 a	27 a		11 a	7 a
DHS		12 a	21 a		11 a	4 a
C	Fe	157 a	322 a	Fe	130 a	192 a
DHM		154 a	281 a		119 a	137 b
DHS		136 a	261 a		116 a	136 b
C	Mn	41 a	111 a	Mn	138 a	341 a
DHM		38 a	90 ab		121 a	341 a
DHS		35 a	69 b		104 a	200 a
C	Zn	87 a	140 a	Zn	88 a	41 a
DHM		82 a	129 a		81 a	33 a
DHS		76 a	107 b		78 a	32 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa

4.7 Características fisiológicas das plantas

4.7.1 Trocas gasosas

4.7.1.1 Assimilação líquida de CO₂ (A)

Para o ensaio de inverno após 15 dias da imposição da DH as plantas dos tratamentos DHM e DHS apresentaram significativamente a menor atividade fotossintética quando comparadas com as plantas controle, sendo as plantas do tratamento DHS as mais fortemente afetadas (Tabela 15). Para a terceira e quarta avaliação (80 e 95 DAT) as plantas dos tratamentos sob restrição hídrica, apresentaram o mesmo comportamento, diferindo significativamente apenas das plantas controle.

Resultados similares aos deste estudo onde reportam que a taxa fotossintética e condutância estomática (g_s) diminuem após a implementação da DH foram citados por Kulkarni e Phalke (2009). Os autores trabalharam com diferentes cultivares de pimenta ardida em condições de ambiente protegido. Da mesma forma, em mudas enxertadas e não enxertadas de mini-melancia, esses componentes de trocas gasosas diminuíram conforme aumento da DH (ROUPHAEL et al., 2008).

Tabela 15- Assimilação líquida de CO_2 (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de pimentão cultivadas no inverno, sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	25,5 a	27,2 a	23,9 a	22, 3 a
DHM	27,6 a	14,0 b	16,0 b	4,1 b
DHS	28,5 a	6,4 c	15,8 b	4,2 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C=Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa

Em plantas de pimentão cultivadas no verão a atividade fotossintética geral foi superior aos mesmos parâmetros avaliados no ensaio de inverno. Para a assimilação líquida de CO_2 (Tabela 16) os valores foram superiores provavelmente em função do fotoperíodo maior. Plantas de pimentão são considerada neutras para o período de floração, ou seja, independentemente da duração do dia (horas luz) e seja qual for a estação do ano não sofrem interferências para florescer. Porém, quando as plantas foram submetidas à DH a fotossíntese diminuiu gradativamente conforme a o nível de restrição hídrica.

Do mesmo modo, Ohashi et al (2006) trabalharam com soja sob DH os quais reportaram que as plantas nessas condições diminuem diversos processos como fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E). Esses autores sugerem que a diminuição da fotossíntese está relacionada com o fechamento estomático, evento diretamente correlacionado com a disponibilidade hídrica. Dessa forma, pode-se observar que para os ensaios inverno e verão, nas plantas de pimentão sob DH a fotossínteses e g_s diminuíram significativamente quando

comparadas com as plantas controle em resposta direta aos tratamentos e em todos os pontos de avaliação após o início dos tratamentos.

Tabela 16- Assimilação líquida de CO₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão, sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	34,2 a	30,5 a	29,1 a	26,6 a
DHM	34,2 a	17,1 b	18,8 b	13,1 b
DHS	35,8 a	12,2 c	11,8 c	7,7 c

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.7.1.2 Condutância estomática (g_s)

A g_s indica a abertura e fechamento dos estômatos, em função da disponibilidade de água para a planta. Assim a DH promove a redução da abertura dos poros estomáticos, já que a quantidade de água para as células guarda é reduzida. No inverno, a g_s começou a se diferenciar do controle após o início dos tratamentos da DH (65, 80 e 95 DAT) (Tabela 17). Paiva et al (2005) reportaram que em folhas de feijoeiro cultivado em campo, a g_s diminuiu significativamente nas etapas de floração e enchimento de grãos no tratamento com menor disponibilidade de água.

Tabela 17-. Condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	0,33 a	0,21 a	0,42 a	0,52 a
DHM	0,38 a	0,08 b	0,22 b	0,05 b
DHS	0,35 a	0,08 b	0,19 b	0,04 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Pode-se observar que a g_s no ensaio de verão (Tabela 18), apresentou comportamento semelhante ao inverno, apresentando diminuição significativa após a diferenciação dos tratamentos hídricos. No entanto, os valores da g_s foram maiores no verão. Assim, pode-se concluir que a abertura e fechamento estomático também dependem de outros fatores intrínsecos como CO_2 , intensidade de luz, umidade relativa do ar, temperatura, idade da folha, nutrição e doenças (JONES, 1992).

Tabela 18- Condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	0,62 a	0,77 a	0,49 a	0,46 a
DHM	0,62 a	0,18 b	0,16 b	0,08 b
DHS	0,61 a	0,09 b	0,08 b	0,04 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.7.1.3 Concentração intercelular de CO_2 (C_i)

No ensaio de inverno, a concentração interna de CO_2 tanto na etapa de adaptação quanto nas avaliações onde as plantas foram submetidas à DH, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto, os valores de C_i das plantas sob DH foram numericamente menores que as do tratamento controle (Tabela 19). Do mesmo modo, Bloch et al (2006) trabalharam com beterraba (*Beta vulgaris* L.) sob diferentes regimes de água, as plantas sob o tratamento considerado como severo tiveram um comportamento similar quando comparadas com as plantas controle. Desse modo, além da diminuição da condutância estomática, o efeito da DH severa na fotossíntese poderia ser atribuído também aos efeitos não estomáticos (KIRKHAM, 1990).

Tabela 19- Concentração intercelular de CO₂ (*C_i*; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	241,5 a	126,1 a	227,0 a	212,5 a
DHM	251,9 a	99,8 a	209,0 a	166,0 a
DHS	230,4 a	96,0 a	190,7 a	151,0 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Diferente do monitorado no inverno, no ensaio de verão (Tabela 20) a concentração intercelular de CO₂ (*C_i*) diminuiu significativamente a partir da diferenciação dos tratamentos hídricos (65 DAT). As plantas mantiveram concentrações baixas de carbono ao longo das avaliações por efeito da deficiência hídrica. O efeito da diminuição da *C_i* em plantas sob DH, também foi reportada por Nakayama et al. (2007), os quais trabalharam com duas cultivares de soja e reportaram que os valores da *C_i* diminuiriam levemente após três dias da imposição da DH e com o decorrer do tempo também houve diferenças significativas consideráveis. Comparando-se os ensaios de inverno e verão, observou-se que em ambos a *C_i* acompanhou o movimento de abertura estomática (*g_s*) que, para o ensaio de verão, a correlação destas duas variáveis parece ter sido melhor, com diferença significativa.

Tabela 20- Concentração intercelular de CO₂ (*C_i*) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	251,2 a	302,2 a	259,1 a	234,7 a
DHM	256,9 a	195,1 b	173,1 b	131,9 b
DHS	249,3 a	147,6 b	137,5 b	84,2 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.7.1.4 Transpiração (*E*)

A transpiração em plantas cultivadas no inverno (Tabela 21) diminuiu até os 80 DAT, apresentando o mesmo comportamento na última avaliação. Esse comportamento, resultado da DH, manteve relação direta com o acontecido na condutância estomática, ocorrendo o fechamento dos estômatos nas plantas com menor disponibilidade de água como estratégia para evitar a perda excessiva de água dos tecidos vegetais.

Tabela 21-. Transpiração (*E*; mmol H₂O m⁻² s⁻¹) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	3,5 a	2,8 a	5,9 a	8,2 a
DHM	3,9 a	1,3 a	2,6 b	1,4 b
DHS	3,7 a	1,4 a	2,4 b	1,1 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplantio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Quando as plantas têm excelente disponibilidade hídrica no solo (capacidade de campo) apresentam altas taxas transpiratórias facilitando o movimento hídrico entre o solo-planta-atmosfera. Entretanto, à medida que o conteúdo de água no solo vai diminuindo em função dos tratamentos, as plantas diminuem sua taxa transpiratória para reduzir a perda de água em forma de vapor. No ensaio de verão (Tabela 22) essa diminuição na *E* induziu efeitos marcantes nas plantas sob DHM e DHS aos 65 e 80 DAT respectivamente. Já aos 95 DAT, plantas do tratamento DHS atingiram taxas de transpiração semelhantes às da DHM, porém sempre menores que aquelas do tratamento controle. Resultados similares aos deste ensaio foram reportados por Ferrara et al. (2011) ao submeter plantas de pimenteira à DH nas fases vegetativa e reprodutiva a *E* diminuiu significativamente, quando comparadas com as plantas controle.

Tabela 22-. Transpiração (E) $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	12,2 a	14,2 a	6,6 a	7,2 a
DHM	12,3 a	6,2 b	3,4 b	2,2 b
DHS	13,7 a	3,8 c	1,9 c	1,5 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Conforme os resultados obtidos nos ensaios (inverno e verão) e para melhor distinguir, nas figuras 30, 31, 32 e 33 podem-se observar detalhadamente as diferenças no comportamento das trocas gasosas em duas estações climáticas contrastantes.

Figura 30- Assimilação líquida de CO_2 (A) em plantas de pimentão, sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS Deficiência Hídrica Severa. Ensaios inverno e verão.

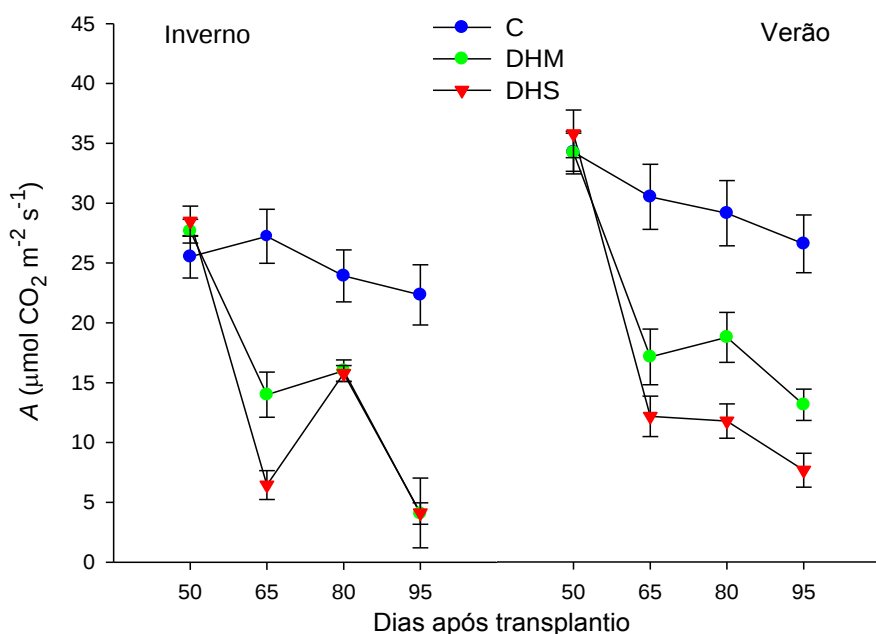


Figura 31- Condutância estomática (g_s) em plantas de pimentão, sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS Deficiência Hídrica Severa. Ensaios inverno e verão.

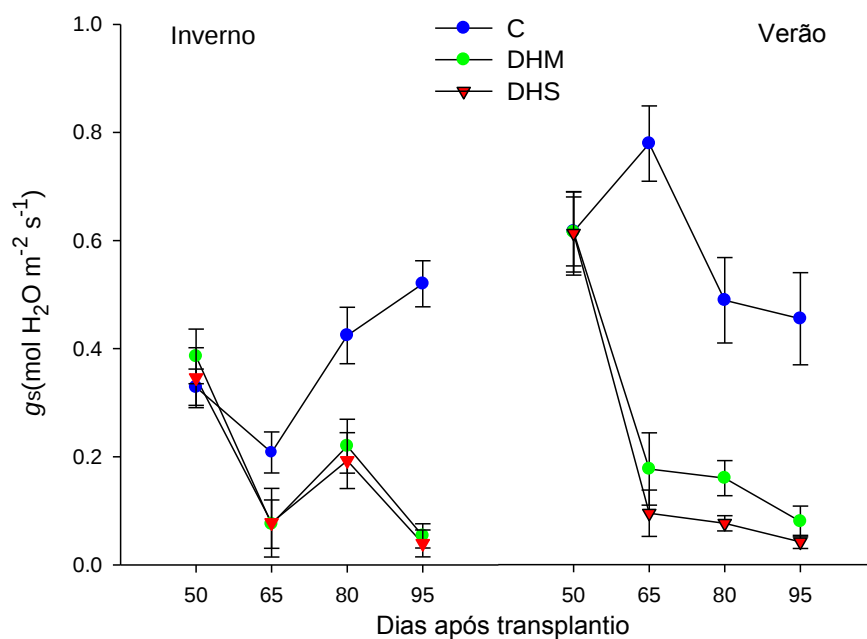


Figura 32- Concentração intercelular de CO_2 (C_i) em plantas de pimentão, sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS Deficiência Hídrica Severa. Ensaios inverno e verão.

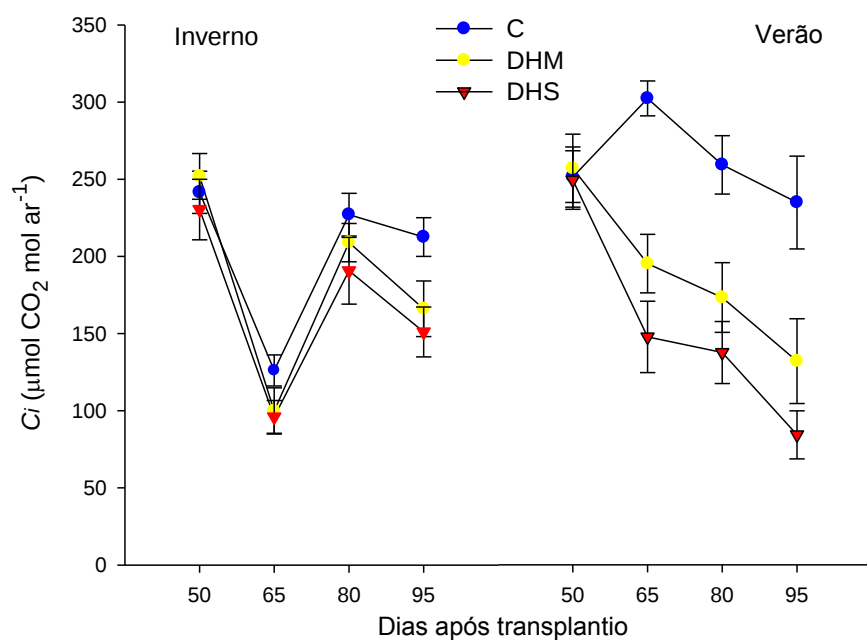
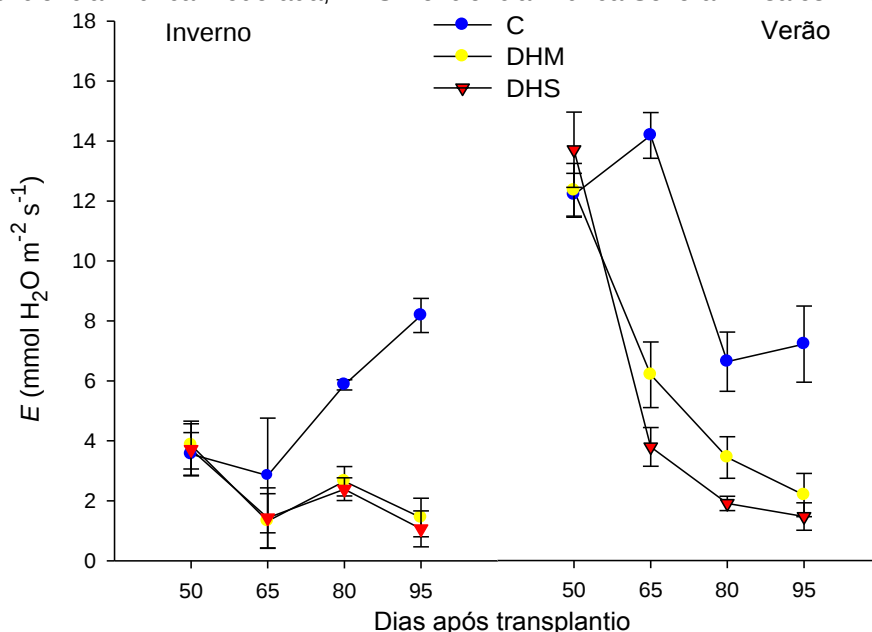


Figura 33- Transpiração (E) em plantas de pimentão, sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS Deficiência Hídrica Severa. Ensaios inverno e verão.



4.7.2 Teor de pigmentos

4.7.2.1 Clorofilas *a* e *b*

Plantas de pimentão cultivadas no inverno sob diferentes regimes hídricos não apresentaram diferenças importantes no conteúdo de clorofila *a* e *b*. A exceção foi na última avaliação para clorofila *a* (Tabela 23), onde plantas do controle apresentaram maior conteúdo desse pigmento em comparação com às plantas da DHM e DHS. Resultados similares foram encontrados no cultivo de milho (*Zea mays* L.) onde as plantas sob DH não apresentaram diferenças significativas no conteúdo relativo de clorofila *b*, e sim na clorofila *a* quando comparadas com o tratamento controle (ALI et al., 2011). Por outro lado, em estudos feitos também com milho (HOLÁ et al., 2010), o conteúdo de clorofila *a* e *b* diminuíram significativamente, em resposta à DH. Cabe ressaltar também, que a proporção de 3:1 (clorofila *a* / clorofila *b*) normalmente encontrada em plantas superiores foi mantida em plantas de pimentão durante todo o ciclo experimental. Assim, conclui-se que os tratamentos hídricos (DHM e DHS) não induziram a degradação dos pigmentos visando o aproveitamento de nitrogênio, o que de fato foi demonstrado na análise foliar em relação a esse macronutriente (Tabela 13).

Tabela 23- Clorofilas *a* e *b* ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) em plantas de pimentão cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>
C	17,4 a	6,5 a	19,7 a	8,7 a	17,8 a	8,2 a	19,6 a	8,5 a
DHM	18,7 a	7,0 a	19,6 a	8,3 a	17,1 a	8,6 a	16,7 b	6,7 a
DHS	18,6 a	6,9 a	19,4 a	7,5 a	17,4 a	9,0 a	16,4 b	6,6 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

A deficiência hídrica no ensaio de verão (Tabela 24) alterou níveis de pigmentos fotossintéticos somente na última avaliação (95 DAT). Nesta análise, houve menor teor de clorofilas *a* e *b* em plantas cultivadas sob DHS quando comparadas ao tratamento controle. Resultados diferentes aos deste estudo foram reportados por Yuan et al (2016) os quais trabalharam com plantas de tomateiro em condições de ambiente protegido e quatro níveis de água no solo (controle, leve, moderado e severo). O teor de pigmentos fotossintéticos foi menor desde a etapa vegetativa até a maturação dos frutos nas plantas irrigadas com os níveis considerados como moderado e severo (45-50% e 35-40% da Capacidade de campo), sendo as plantas do tratamento controle que apresentaram o maior teor de clorofilas *a* e *b*. Diferente do experimento de inverno, a DHS causou decréscimo acentuado nos teores de clorofila *a* e *b* e que este resultado parece se correlacionar bem com decréscimo dos níveis de nitrogênio em folhas, conforme resumido na Tabela 13.

Tabela 24. Clorofilas *a* e *b* ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) em plantas de pimentão cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT		65 DAT		80 DAT		95 DAT	
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>
C	18,78 a	7,9 a	20,0 a	8,8 a	21,0 a	10,4 a	21,7 a	11,0 a
DHM	16,26 a	7,2 a	18,5 a	7,4 a	19,5 a	8,5 a	21,0 ab	10,0 ab
DHS	18,79 a	7,8 a	18,3 a	7,3 a	19,4 a	10,4 a	19,6 b	8,7 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.7.2.2 Carotenoides

Os teores de carotenoides além de serem classificados como pigmentos acessórios, protegem o aparelho fotossintético contra o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), o qual é extremamente reativo prejudicando componentes celulares (TAIZ; ZEIGER 2009). Esses pigmentos são muito importantes na prevenção de danos oxidativos causados pelo estresse (WAHID, 2007). Na presente condição experimental e semelhante ao ocorrido no teor da clorofila *a*, o efeito da DH nas plantas somente induziu redução destes pigmentos aos 95 DAT (Tabela 25).

Tabela 25- Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) em plantas de pimentão cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	4,7 a	5,1 a	4,5 a	4,9 a
DHM	4,8 a	5,2 a	4,6 a	4,3 b
DHS	4,7 a	5,2 a	4,7 a	4,0 b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Pode-se observar que para o ensaio de verão, a diminuição de água no solo não teve repercussão no teor de carotenoides (Tabela 26). Da mesma forma, em plantas de feijão caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) o conteúdo de carotenoides não diferiu significativamente em plantas sob DH quando comparadas com as plantas controle (CARDONA et al., 2014).

Tabela 26- Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) em plantas de pimentão cultivadas no verão sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	4,8 a	4,8 a	5,3 a	5,7 a
DHM	4,3 a	4,7 a	4,7 a	5,6 a
DHS	4,8 a	4,4 a	4,9 a	5,2 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.8 Parâmetros bioquímicos

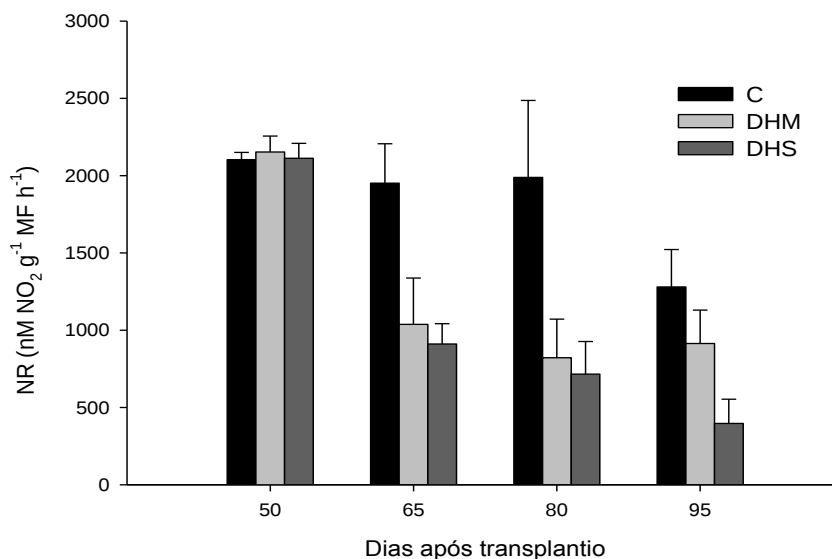
4.8.1 Atividade da enzima nitrato redutase (NR)

A atividade da enzima nitrato redutase tem sido usada como indicadora de estresses e mudanças ligadas a fatores moduladores de crescimento das plantas (SRIVASTAVA, 1980; CARELLI et al., 1996).

Neste ensaio de deficiência hídrica, as plantas do tratamento DHM apresentaram diminuição na atividade de NR em função do tempo de imposição do estresse (Figura 34). Esta diminuição foi na faixa de 52, 62 e 58 % nos tempos de 65, 80 e 95 DAT, respectivamente. Esta diminuição é relativa à atividade analisada na primeira avaliação (50 DAT). Plantas submetidas a DHS, igualmente apresentaram supressão da atividade de NR, com maior queda determinada aos 95 DAT. Nestas avaliações, plantas em DHS apresentaram diminuição de NR, nas faixas de 57, 66 até 81%, ao longo das coletas aos 65, 80 e 95 DAT, respectivamente. Este efeito de repressão da NR, já foi elucidado e registrado na literatura e provavelmente é resultado da diminuição do fluxo de nitrato da raiz até a folha, afetando assim o seu metabolismo. Por outro lado, Costa et al. (2008) trabalhando com dois cultivares de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) verificaram redução da NR quando foram submetidos ao estresse hídrico (num período de cinco 5 dias) comparado com o tratamento controle.

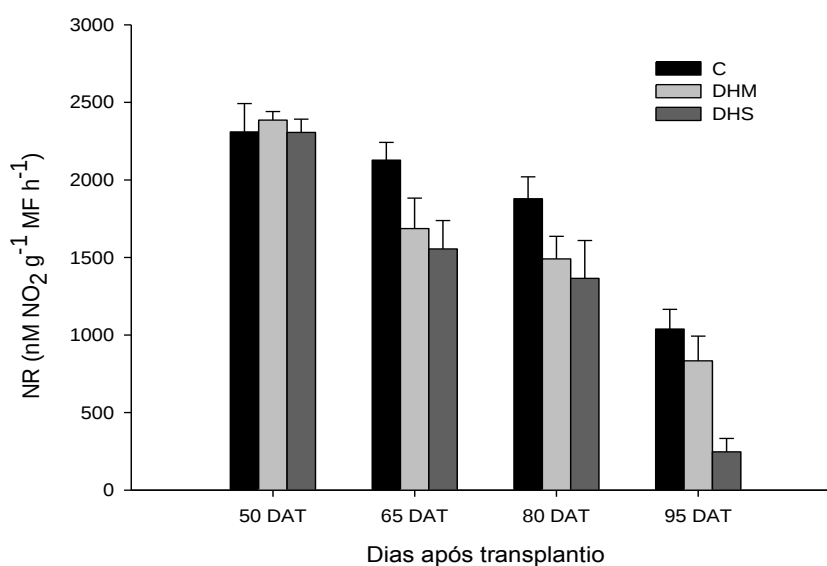
Da mesma forma, em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e batata doce submetida ao estresse hídrico foi reportada queda na atividade da NR paralelamente a diminuição do potencial hídrico foliar (MARUR et al., 2000; SUNG 1981).

Figura 34- Atividade da enzima Nitrato Redutase em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.



Muitos estudos têm corroborado que plantas sob deficiência hídrica diminuem a atividade enzimática da NR, provavelmente a menor fluxo de nitrato do solo à raiz (CAMPBELL, 1988). No ensaio de verão, a atividade da NR também foi reduzida nas plantas sob DH (Figura 35). Em relação à primeira avaliação, as plantas do tratamento DHM tiveram uma redução de 29, 37 e 65% aos 65,80 e 95 DAT. Também para essas datas de avaliação as plantas do tratamento DHS tiveram uma redução de 33, 41 e 89%.

Figura 35- Atividade da enzima Nitrato Redutase em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação. C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa



4.8.2 Teor de proteína solúvel total (PST)

No ensaio de inverno as plantas sob DHS aos 65 DAT afetaram significativamente a quantidade de proteína, quando comparadas com as plantas do tratamento controle (Tabela 27). Nas demais épocas de avaliação não houve diferença significativa para qualquer tratamento. A resposta das plantas à DH no teor de proteínas é diferente dependendo das espécies vegetais. Por exemplo Paixão et al. (2014) trabalharam com duas cultivares de girassol, onde os valores de proteína foram maiores nas plantas sob DH na cultivar mais sensível. Saleh et al. (2018) trabalharam com duas cultivares de feijoeiro submetidas a lâminas de irrigação 60, 80 e 100 % da evapotranspiração (ET), ditos autores reportaram que não houve diferença para essa variável entre as lâminas de 100 e 80% da ET e os valores mais altos de proteína foram em plantas sob 80% da ET quando comparadas com as plantas sob o 60% da ET. Ressalta-se também que houve diferença dos valores dessa variável entre as cultivares o qual também pode ser influenciado pelos parâmetros genéticos próprios de cada cultivar. Em geral, pode-se concluir que o teor de proteínas em plantas sob DH depende da severidade da restrição hídrica, duração e época de aplicação.

Tabela 27-. Proteína (mg g⁻¹ MFF) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	9,4 a	9,5 a	5,6 a	6,0 a
DHM	9,7 a	8,0 b	5,2 a	5,2 a
DHS	9,6 a	7,1 b	4,9 a	5,2 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

No ensaio de verão a resposta das plantas à DH no teor de proteínas, foi relativamente diferente ao ensaio de inverno (Tabela 28). Apresentando maior teor de proteínas as plantas sob DHS, exclusivamente aos 65 e 80 DAT. Diversos estudos em diferentes espécies de plantas, reportam maior ou menor quantidade de proteína sob DH. Por exemplo, em duas variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.)

sensível e tolerante, o teor de proteína diminuiu em ambas variedades quando as plantas foram submetidas à DH, apresentando maior redução do teor de proteína a variedade sensível (ABID et al., 2018). Já em plantas de pimenta em condições de sequeiro, o teor de proteína aumentou com o decorrer do tempo, quando comparadas com as plantas irrigadas regularmente (DELFINE et al., 2000). Por outro lado, em diferentes genótipos de feijão não houve diferença considerável para essa variável em plantas sob DH em comparação com as plantas controle (CARDONA et al., 2014).

Tabela 28-. Proteína em plantas de pimentão (mg g^{-1} MFF), cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	7,4 a	8,0 b	7,4 b	10,6 a
DHM	7,2 a	10,1 ab	9,7 ab	11,9 a
DHS	7,9 a	11,7 a	11,7 a	12,0 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.8.3 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

O aumento da enzima Superóxido dismutase é uma resposta de defesa das plantas sob condições de estresse, já que é a primeira linha do sistema de resposta antioxidativo (ALSCHER et al., 2002). Neste ensaio aos 80 e 95 DAT (Tabela 29), as plantas do tratamento DHS apresentaram os valores mais altos de atividade da SOD como mecanismo de resistência à DH.

Tabela 29-. Atividade da enzima superóxido dismutase ($\text{UI } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	1,6 a	1,4 a	2,8 b	3,0 b
DHM	1,3 a	1,6 a	3,2 ab	3,7 ab
DHS	1,5 a	1,9 a	4,0 a	4,3 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

No ensaio de verão (Tabela 30) apenas as plantas sob a DHS aos 80 DAT apresentaram a maior atividade de SOD. Na última avaliação as plantas dos tratamentos DHS e DHM tiveram um comportamento similar, porém com valores maiores aos do tratamento controle. Por outro lado, Yuan et al. (2016) trabalharam com tomate sob quatro níveis de umidade no solo, durante dois ciclos em condições de ambiente protegido. Os valores da SOD nas folhas de tomate foram aumentando conforme a severidade hídrica, nas etapas de crescimento.

No entanto, na etapa de maturação dos frutos, as plantas do tratamento controle (75 a 80% da capacidade de campo) e as plantas do tratamento considerado como deficiência hídrica leve (55 a 60% da capacidade de campo) apresentaram significativamente valores similares de SOD. Dessa forma, conforme os resultados reportados por Yuan et al. (2016) e aos ensaios realizados no inverno e verão em plantas de pimentão, os valores da SOD dependem da época de aplicação da DH, severidade, e etapa de crescimento das plantas.

Tabela 30. Atividade da enzima superóxido dismutase (UI $\mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	1,2 a	1,2 a	1,3 b	1,6 b
DHM	1,1 a	1,6 a	1,5 b	2,2 ab
DHS	1,0 a	1,9 a	2,5 a	2,7 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.8.4 Atividade da enzima catalase (CAT)

Diversos estudos mostram que as plantas sob condições de estresse apresentam produção acelerada das espécies reativas de oxigênio (EROs), o que pode ser tóxico para o metabolismo das plantas ou inibir seu crescimento. A dismutação de espécies reativas de oxigênio é executada pelo sistema antioxidativo. O sistema antioxidativo compreende numerosas enzimas e compostos de baixo peso molecular (NOCTOR; FOYER, 1998).

No ensaio de inverno (Tabela 31), houve aumento da enzima catalase aos 80 e 95 DAT nas folhas de pimentão nos tratamentos sob DHM e DHS como sinal de proteção contra a DH. Resultados similares aos obtidos neste ensaio, foram reportados por Abid et al. (2017) em duas cultivares de feijão-fava (*Vicia faba* L.) em casa de vegetação no período de inverno sob três lâminas de irrigação (90, 60 e 30% da CC). Plantas de ambas as cultivares (tolerante e susceptível) sob restrição hídrica severa que apresentaram significativamente maior atividade da CAT, quando comparadas com as plantas do tratamento controle.

Tabela 31 - Atividade da enzima catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	42,6 a	45,0 a	54,0 b	58,6 b
DHM	39,1 a	66,1 a	83,8 a	88,8 a
DHS	40,7 a	73,0 a	91,6 a	110,2 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

A atividade da CAT no verão (Tabela 32) não foi ativada aos primeiros 15 dias da restrição hídrica (65 DAT). Nas últimas avaliações (80 e 95 DAT), as plantas dos tratamentos DHM e DHS apresentaram valores significativamente maiores e similares entre tratamentos, no entanto, apenas as plantas da DHS diferiram das plantas do tratamento controle.

Tabela 32- Atividade da enzima catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	44,8 a	47,5 a	50,6 b	56,9 b
DHM	46,7 a	60,3 a	64,5 ab	70,7 ab
DHS	45,7 a	71,5 a	75,7 a	84,5 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.9 Discriminação isotópica de carbono e nitrogênio

4.9.1 Discriminação isotópica de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$)

No ensaio de inverno o $\delta^{15}\text{N}$ não apresentou alterações significativas em relação aos tratamentos hídricos (50 DAT), em que as plantas foram irrigadas regularmente e durante a imposição da DH (Tabela 33).

Semelhante ao constatado neste ensaio, em quatro genótipos de trigo duro [*Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf.)] sob condições de deficiência hídrica moderada e severa na fase de crescimento, as plantas do tratamento considerado como moderado, somente um genótipo apresentou os valores mais baixos de $\delta^{15}\text{N}$ quando comparadas com as plantas controle (MEDINA et al., 2016). Este resultado que sugere que os valores de $\delta^{15}\text{N}$ provavelmente estão influenciados por fatores genéticos de cada espécie vegetal, além da DH. Embora existam avanços recentes na interpretação do $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas, ainda há uma falta de conhecimento na dinâmica desse isótopo nas espécies vegetais (ARIZ et al., 2015).

Tabela 33-. Discriminação isotópica de Nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	3,7 a	5,0 a	6,4 a	5,7 a
DHM	3,3 a	4,6 a	5,4 a	5,6 a
DHS	3,5 a	4,2 a	5,2 a	5,5 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

Similar ao ensaio de inverno, a diminuição de água no solo não afetou o $\delta^{15}\text{N}$ nas folhas de pimentão para o ensaio de verão (Tabela 34). Ressaltasse também que os valores do $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas podem ser influenciados pelas características específicas de cada espécie vegetal. Igualmente, os valores do $\delta^{15}\text{N}$ mudam dependendo do órgão das plantas (PEUKE et al., 2006).

Tabela 34-. Discriminação isotópica de Nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	5,5 a	5,8 a	5,8 a	5,4 a
DHM	4,9 a	5,4 a	5,6 a	5,4 a
DHS	4,5 a	5,2 a	5,4 a	5,3 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.9.2 Discriminação isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$)

O isótopo ^{13}C tem sido usado como critério para programas de melhoramento das culturas sob condições de estresse hídrico e salino (YOUSFI et al., 2012; ARAUS et al., 2013). Porém, pode-se observar na Tabela 35 que para este estudo, somente aos 80 DAT as folhas das plantas sob DHS apresentaram menor discriminação isotópica do ^{13}C quando comparadas com as plantas controle.

Tabela 35-. Discriminação isotópica de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em plantas de pimentão, cultivadas no inverno sob três níveis de irrigação.

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	-27,7 a	-27,3 a	-27,8 b	-27,9 a
DHM	-28,0 a	-27,4 a	-27,2 ab	-27,1 a
DHS	-27,3 a	-27,0 a	-26,2 a	-26,3 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

No ensaio de verão (Tabela 36) a DHM e DHS influenciaram de maneira similar nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (80 DAT). Na última avaliação (95 DAT) foi a DHS que afetou negativamente os valores de $\delta^{13}\text{C}$. Resultados similares aos deste estudo

foram reportados em folhas de beterraba (BLOCH et al 2006) e soja (KAO, 1998), em que o $\delta^{13}\text{C}$ diminuiu após a imposição da DH. A menor discriminação de $\delta^{13}\text{C}$ em plantas de DHS a partir de 80 DAT pode ter sido influenciada pela menor pressão de CO_2 em função do fechamento estomático ocorrido no mesmo ponto de avaliação fator que contribuiria com a discriminação durante a difusão e carboxilação (FARQUAHR et al., 1982).

Tabela 36-. Discriminação isotópica de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em plantas de pimentão, cultivadas no verão sob três níveis de irrigação

Tratamentos	50 DAT	65 DAT	80 DAT	95 DAT
C	-29,3 a	-30,1 a	-29,6 b	-29,3 b
DHM	-29,3 a	-30,2 a	-28,4 a	-28,6 b
DHS	-29,7 a	-29,8 a	-27,7 a	-27,1 a

Medias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAT= Dias Após Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa.

4.10 Produção de frutos de pimentão

Nos ensaios inverno e verão foram designadas 20 plantas por tratamento para avaliar a produção final. A colheita realizou-se desde que os frutos apresentaram 70% de coloração vermelha. Também, separou-se os frutos não comerciáveis (NC), em função de deformações morfológicas, podridão apical, e queimadura.

Pode-se observar no Quadro 6 que para o ensaio de inverno se obtiveram em média oito frutos por planta no tratamento controle, com massa total de 1,536 kg por planta. Dessa massa por planta e considerando uma densidade de 2,5 plantas por m^2 (densidade recomendada para a cultura) estimou-se uma produtividade total de $38,4 \text{ t ha}^{-1}$ e com produtividade comercial de $35,8 \text{ t ha}^{-1}$.

No tratamento DHM se obteve 0,680 kg/planta com produtividade comercial de $13,1 \text{ t ha}^{-1}$. Para o tratamento DHS houve queda na produção, a qual alcançou 0,282 kg/planta correspondente a produtividade comercial $3,0 \text{ t ha}^{-1}$.

A produção obtida nas plantas controle é compatível com os estudos feitos por Frizzone et al. (2001), os quais reportaram produção comercial de 37,50 t ha⁻¹ (pimentão amarelo) com peso médio de 178 g por fruto sob condições de ambiente protegido, com duração de colheita de 40 dias.

Entretanto, no ensaio de inverno se obteve uma produtividade comercial de 35,8 t ha⁻¹, com duração de colheita de 28 dias, pelo qual nossos resultados reportados foram adequados para o tempo de colheita que foi relativamente curto.

Quadro 6- Produção de frutos maduros de pimentão cultivados no inverno sob três níveis de irrigação

	NFP	MMF (kg)	MTFP (kg)	PT (ha ⁻¹)	FNC (%)	PC (t ha ⁻¹)
C	8,0	0,192	1,536	38,4	7	35,8
DHM	5,0	0,136	0,680	17,0	23	13,1
DHS	3,2	0,088	0,282	7,0	58	3,0

FP= Número de frutos por planta; MMF= Massa média de fruto; MTFP = massa total de frutos por planta; FNC= Frutos não comerciáveis; PC= Produção comercial.

O crescimento vegetativo das plantas no ensaio de verão foi superior ao ensaio de inverno, pelo qual se esperava maior produtividade comercial. No entanto, se obtiveram em média 7,4 frutos por planta para o tratamento controle, com produtividade comercial de 31,1 t ha⁻¹ (Quadro 7). Entretanto, as plantas dos tratamentos DHM e DHS apresentaram produtividade comercial de 11,2 e 2,7 t ha⁻¹ respectivamente.

Carvalho et al. (2016) trabalharam com diferentes tensões de água no solo na fase reprodutiva do pimentão vermelho cv. Konan e reportaram produção para o tratamento controle de 5,85 frutos por planta. Neste cultivo, os autores chegaram a uma produção comercial de 12,03 t ha⁻¹ (densidade de plantas por hectare não especificada) em condições de ambiente protegido com período de colheita de 42 dias. Deste modo, conforme os resultados obtidos nos ensaios de inverno e verão e de acordo com os reportados por outros autores (DERMITAS; AYAS, 2009; FRIZZONE et al 2001), conclui-se que a diminuição de água no solo afeta a

produtividade do pimentão. Além disso, argumenta-se que a diferença na produtividade depende de cada cultivar, época e condições climáticas do local.

Quadro 7- Produção de frutos maduros de pimentão cultivados no verão sob três níveis de irrigação

	NFP	MMF (kg)	MTFP (kg)	PT (ha ⁻¹)	% FNC	PC (t ha ⁻¹)
C	7,4	,183	1,354	33,9	8	31,1
DHM	5,4	,128	0,691	17,3	35	11,2
DHS	4,0	,070	0,280	7,0	62	2,7

FP= Número de frutos por planta; MMF= Massa média de fruto; MTFP = massa total de frutos por planta; FNC= Frutos não comerciáveis; PC= Produção comercial.

5 CONCLUSÃO

Diferentes lâminas de água simulando a deficiência hídrica (DH) causam impacto sobre diferentes aspectos da cultura do pimentão.

As plantas sob DHM e DHS diminuíram relativamente o Ψ_{hf} trazendo como consequência diminuição do CRA e aumento da perda de eletrólitos. No entanto, a resposta das plantas sob DH diferiram em relação aos períodos avaliados, apresentando maior crescimento vegetativo da parte aérea as plantas no ensaio de verão, porém menor produção.

A deficiência hídrica não promoveu alterações nos valores da discriminação isotópica de nitrogênio ($\delta^{15}N$) nas folhas de pimentão para ambos os ensaios. Em relação à discriminação isotópica de Carbono ($\delta^{13}C$), os valores foram mais afetados no ensaio de verão, observando-se alterações negativas com o decorrer do tempo e em função da severidade da DH.

REFERÊNCIAS

- ABID, G. et al. Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in faba bean (*Vicia faba* L.). **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 4, p. 536-552, 2017.
- ABID, M. et al. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Scientific Reports**, v. 8, p. 1-15, 4615, 2018.
- AHMED, A.F. et al. Deficit irrigation affects growth, yield, vitamin C content, and irrigation water use efficiency of hot pepper grown in soilless culture. **Hortscience**, v. 49, n.6, p.722–728, 2014.
- ALI, B. Leaf longevity in plants under water stress – A review. **International Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 127-133, 2015.
- ALI, Z. et al. Mitigation of drought stress in maize by natural and synthetic growth promoters. **Journal of Agriculture & Social Sciences**, v. 7, n. 2, p. 56–62, 2011.
- ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1331-1341, May. 2002.
- ANA – Agência Nacional de Águas. (2015). **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: 2015**. Brasília: ANA, 432 p.
- ANA – Agência Nacional de Águas. **Atlas irrigação: uso da água na agricultura irrigada** -- Brasília: ANA, 2017. 86 p.
- ANJUM, S.A. et al. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. — **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026–2032, 2011.
- ANYIA, A.O.; HERZOG, H. Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under mid-season drought. **European Journal of Agronomy**, v.20, p.327-339, 2004.
- APEL K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373–399, 2004.
- ARAUS, J. L. et al. Comparative performance of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{15}\text{N}$ for phenotyping durum wheat adaptation to a dryland environment. **Functional Plant Biology** v. 40, p. 595–608, 2013.
- ARIZ, I. et al. Leaf $\delta^{15}\text{N}$ as a physiological indicator of the responsiveness of N_2 -fixing alfalfa plants to elevated $[\text{CO}_2]$, temperature and low water availability. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 574, p. 1-10, 2015.

ASSAHA, D.V.; LIU, L.; Ueda, A.; Nagaoka, T.; Saneoka H. Effects of drought stress on growth, solute accumulation and membrane stability of leafy vegetable, huckleberry (*Solanum scabrum* Mill.). **Journal of Environmental Biology**, v. 37, p. 107–114, 2016.

BEERLING, D. J.; WOODWARD, F. I. Leaf stable carbon isotope composition records increased water-use efficiency of C3 plants in response to atmospheric CO₂ enrichment. **Functional Ecology**, v. 9, n.3, p. 394–401, jun., 1995.

BLOCH, D.; Hoffmann, C. M.; Marlander, B. Impact of water supply on photosynthesis, water use and carbon isotope discrimination of sugar beet genotypes. **European Journal Agronomy**, v. 24, p. 218–225, 2006.

BLUM, A. **Crop responses to drought and the interpretation of adaptation**. In: Drought tolerance in higher plants. Genetical, physiological and molecular biological analysis. Belhassen E. (Ed.). Kluwer Academic Publ., Dordrecht. 1997. 57-70 p.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72 p. 248-254, 1976.

BRAGA, M. B.; MAROUELLI, W.A. Produção integrada de pimentão - PIP: irrigação e fertirrigação na cultura do pimentão. Fonte/Imprensa: Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2017.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plants. **Physiologia Plantarum**, v.74, p.214-219, 1988.

CARDONA –AYALA C. et al. Respuesta fisiológicas y bioquímicas del frijol caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) bajo déficit hídrico. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas** , v 8, n.2, p.250-261, jul./ dic. 2014.

CARELLI, M.L.C. et al. Níveis de nitrogênio, metabolismo, crescimento e produção de girassol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.8, p.123-130, 1996.

CARVALHO, J. A. et al. Pimentão cultivado em ambiente protegido sob diferentes tensões de água no solo. **Engenharia na agricultura**, Viçosa - MG, v. 23 n.3, Maio / Jun. 2016

CONDÉS RODRÍGUEZ L. F. **Pimiento**, In: cultivos hortícolas al aire libre (Maroto B. JV & Baixauli S.C. Eds, Serie Agricultura España, 2017. V.13, 471-507.

COSTA, R.C.L. et al. Laughinghouse IV HD Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Journal of Agronomy**, v. 7, n. 1 p. 98-101, 2008.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLES, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v. 34, p. 1023-1028, 1993.

DELFINE S, LORETO F, ALVINO A. Drought-stress effects on physiology, growth and biomass production of rainfed and irrigated bell pepper plants in the mediterranean region. **J. Amer. Soc Hort. Sci**, v.126, n.3, p. 297–304, 2001.

DELFINE, S. et al. Effects of water stress on the yield and photosynthesis of field-grown sweet pepper (*Capsicum annum* L.). **Acta Hort**, v. 537, p. 223–229, 2000.

DERMITAS, C.; AYAS, S. Deficit irrigation effects on pepper (*Capsicum annum* L. Demre) yield in unheated greenhouse condition. **Journal of Food, Agricultural and Environment**, Helsinki, v. 7, n. 3-4, p. 989-1003, 2009.

DIETZ, K. J. et al. The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n.8 p. 1697–1709, 2006.

DORJI, K.; BEHBOUDIAN, M.; ZEGBE-DOMINGUEZ, J.A. Water relations, yield, and fruit quality of hot pepper under deficit irrigation and partial rootzone drying. **Scientia. Horticulturae**, v.104 p. 137–149, 2005.

DUCATTI, C.; MATSUI, E.; SALATTI, E.; Fundamentos teóricos dos fatores de correção para a análise das variações relativas das razões $^{13}\text{C}/\text{C}^{12}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ por espectrometria de massa. **Energ. Nucl. Agric**, v 4, p. 41-58, 1982.

FAO (2018). Land & Water: Pepper. <http://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/pepper/en/> Acesso: enero 2018.

FAO/Faostat– **Statistics Database**. Disponível em <<http://www.fao.org/statistics/en/>>, Acesso: 17/05/2017

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration of leaves. **Journal Plant Physiology**, Australian, v.9, n.1, p. 121-137, 1982.

FERRARA, A. et al. Flowering, growth and fruit setting in greenhouse bell pepper under water stress. **Journal of Agronomy**, v.10, n.1, p. 12–19, 2011.

FRIZZONE, J.A.; GONÇALVES, A. C. A.; REZENDE R. Produtividade do pimentão amarelo, *Capsicum annum* L., cultivado em ambiente protegido em função do potencial mátrico de água no solo. **Acta Scientiarum**, v. 23, n.5, p. 1111-1116, 2001.

GIANNOPOLITIS, C.N.; REIS, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. Waterbury, v. 59, p. 309-314, 1997.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol. Biochem**, v. 48, n.12, p. 909–930, 2010.

GONZALEZ-DUGO et al. Responses of pepper to deficit irrigation for paprika production. **Scientia Horticulturae**, v. 114, p. 77-82, 2007.

GUIMARÃES, C. M. **Relações Hídricas**. In: Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil. Araujo, R. S.; Rava, C. A.; Stone, L. F.; Zimmermann, M. J. de O. (Ed.), Piracicaba, 1996. 139-167 p.

HOLÁ D. et al. The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny? **Photosynthetica**, Praga, v. 48, n. 4, p. 545-558, 2010.

HORTIFRUTI/CEPEA: **Principais características do pimentão no BR**. Disponível em <https://www.hfbrasil.org.br/br/hortifruti-cepea-principais-caracteristicas-do-pimentao-no-br.aspx> Acesso em: 20 sep.2017.

HSIAO, T. C; ACEVEDO, E. A. Plant responses to water deficits, water-use efficiency, and drought resistance. **Agric. Meteorol**, V. 14, n.1, p, 59-84, 1974.

HUNT, R. Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis. London: E. Arnold, 1982. 248 p.

HUSSAIN, B.; BARKET, A. Leaf longevity in plants under water stress – a review. **International Journal of Plant Sciences**, v.4, n.4, p. 127-133, oct./dec. 2015.

JAIMEZ, R.E. et al. Effect of water deficit on the dynamics of flowering and fruit production in *Capsicum chinese* Jacq in a tropical semiarid region of Venezuela. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 185, n.2, p.113-119, sep. 2000.

JAMAUX, I.; STEINMETZ, A.; BELHASSEN, E. Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. **New Phytologist**, Oxford, v. 137, p. 117-127, 1997.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, n. 6, p. 1274–1279, 18 jun. 1971.

JENSEN, C. R. et. al. Leaf photosynthesis and drought adaptation in field-grown oilseed rape (*brassica napus* L.). **Functional plant biology**, v. 23, p. 631-644, 1996.

JONES, H.G. *Plants and microclimate*. 2nd ed. Cambridge: University Press, 1992. 428 p.

KAO W-Y, TSAI T-T. Tropic leaf movements, photosynthetic gas exchange, leaf $\delta^{13}\text{C}$ and chlorophyll a fluorescence of three soybean species in response to water availability, *Plant, Cell and Environment*, vol. 21 pg. 1055-1062. 1998.

KAYA, C. et al. Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under wellwatered and water-stressed conditions. **Plant Soil**, v. 253, p. 287–292, 2003.

KIRKHAM, M.B. **Plant responses to water deficits**. In: B.A. Stewart and D.R. Nielsen (Eds.). *Irrigation of Agricultural Crops*. Agronomy Monograph No. 30. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, 1990, 323-342 p.

KIRNAK, H. et al. Effects of deficit irrigation on growth, yield, and fruit quality of eggplant under semiarid conditions. **Journal of Agricultural Research**, Australian, v. 53, p. 1367–1373, jan. 2002.

KOHL, D. H.; SHEARER, G. Isotopic fractionation associated with symbiotic N₂ fixation and uptake of NO₃ - by plants. **Plant Physiology**, v. 66, p. 51-56, 1980.

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

KULKARNI, M.; PHALKE, S.; Evaluating variability of root size system and its constitutive traits in hot pepper (*Capsicum annum* L.) under water stress. **Scientia Horticulturae**, v. 120, p. 159-166, 2009.

KUSVURAN, S.; DASGAN, H.Y. Drought induced physiological and biochemical responses in *Solanum lycopersicum* genotypes differing to tolerance. **Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus**, v.16, n.6, p. 19–27, 2017.

LAFUENTE, M. T. et al. Effect of temperature conditioning on chilling injury of cucumber cotyledons: possible role of abscisic Acid and heat shock proteins. **Plant physiology**, v.95, n. 2, p.443-449,1991.

LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v.89, n. 7 p. 871- 885, 2002.

LEE, D.W.; BREMMEIER, S.; SMITH, A.P. The selective advantage of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. **Biotropica**, v. 19, n. 1 p. 40-49, mar. 1987.

LIU, F.; STÜTZEL, H. Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to water stress. **Scientia Horticulturae**, v.102, p. 15–27, 2004.

MARUR, C. J.; P. MAZZAFERA.; A.C. MAGALHÃES. Atividade da enzima redutase do nitrato em algodoeiro submetido ao déficit hídrico e posterior recuperação da turgescência. **Sci. Agricola**, v. 57 p. 277-281, 2000.

MATEO, M.A.; FERRIO, P.; ARAUS, J.L. Isotopos estables en ecofisiologia vegetal. **La Ecofisiologia Vegetal, una ciencia de síntesis**. Eds Reigosa M.J., Pedrol N. y Sanchez-Moreiras. Madrid: Paraninfo S.A, 2004. 113-160 p.

MEDINA, S. et al. Interactive effects of elevated [CO₂] and water stress on physiological traits and gene expression during vegetative growth in four durum wheat genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-17, 1738, 2016.

MEYERS JUNIOR., O.; YOPP, J.H.; KRISHNAMANI, M.R.S. **Plant breeding reviews**. West Port: AVI, v. 4. 1986. 203-243 p.

MILLER, G. et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v.33, p.453–467, 2010.

MIRABAD, A. A.; Lotfi M.; Roozban, M. R. Impact of water-deficit stress on growth, yield and sugar content of cantaloupe (*Cucumis melo* L.). **Intl. J. Agric. Crop Sci.** v.5, n.22, p. 2778-2782, 2013.

MONTAVON, P.; KUKIC, K. R.; BORTILIK, K. A simple method to measure effective catalase activities: Optimization, validation, and application in green coffee. **Analytical Biochemistry**, v. 360, p. 207-215, 2006.

MORALES, R.G.F. et al. Caracterização do tomateiro submetido ao déficit hídrico. **Scientia Agraria**, v. 16, n. 1, p. 9-17, jan./fev. 2015.

NAKAYAMA, N. et al. Response of Growth, Photosynthetic Gas Exchange, Translocation of ^{13}C -labelled Photosynthate and N Accumulation in two Soybean (*Glycine max* L. Merrill) Cultivars to Drought Stress. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 9, n. 5, p. 669–674, 2007.

NARDINI, A.; TYREE M. T.; SALLEO, S. Xylem cavitation in the leaf of *Prunus laurocerasus* L. and its impact on leaf hydraulics. **Plant Physiol**, v. 125, n.4, p. 1700–1709, 2001.

NICK, C.; BOREM, A. Pimentão do plantio à colheita. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2016. 204 p.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 249–279, 1998.

OHASHI, Y. et al. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. **Biologia Plantarum**, v. 50 n.1, p. 138–141, 2006.

PADRÓN, R.A.R. et al. Desenvolvimento vegetativo de pimentão cultivado com lâminas e frequências de irrigação. **Tecnol. Ciênc. Agrope**, V.9, n.2, p.49-55, 2015.

PAIVA, A.S. et. al. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p. 161-169, jan/abr. 2005.

PAIXÃO, C. L. et al. Caracterização fisiológica e bioquímica de genótipos de girassol com tolerância diferenciada ao estresse hídrico. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p.2011-2022, 2014.

PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137–143, 1999.

PEUKE, A.D.; GESSLER, A.; RENNENBERG, H. The effect of drought on C and N stable isotopes in different fractions of leaves, stems and roots of sensitive and tolerant beech ecotypes. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, p. 823–835, 2006.

PINTO, C. de M. et al. Crescimento, distribuição do sistema radicular em amendoim, gergelim e mamona a ciclos de deficiência hídrica. **Revista ciência agronômica**, v. 39, n.3, p.429-436, jul./set. 2008.

RAIJ, B. V. et al. (Ed.). Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. rev. Campinas: Instituto Agrônomo, Fundação IAC, 1997. 285p. (**Boletim técnico**, 100).

ROUPHAEL, Y. et al. Yield, mineral composition, water relations, and water use efficiency of grafted mini-watermelon plants under deficit irrigation. **HortScience**, v.43, p. 730–736, 2008.

SALEH, S. et al. N. Effect of Irrigation on Growth, Yield, and Chemical Composition of Two Green Bean Cultivars. **Horticulturae**, v. 4, n. 3, p. 1-10, 2018.

SANTANA, M. J. et al. Produção do pimentão (*Capsicum annuum* L.) irrigado sob diferentes tensões de água no solo e doses de cálcio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.6, p. 1385-1391, nov./dez., 2004.

SANTOS, R. F.; CARLESSO R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998

SCHOLANDER, P.F.et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **National Academy of Sciences of the United States of America Proceedings**, Washington, v.51, p.119-125, 1965.

SEZEN, S. M.; YAZAR, A.; EKER, S. Effect of drip irrigation regimes on yield and quality of field grown bell pepper. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 81, n. 1-2, p. 115-131, 2006.

SHAO, G.C. et al. Growth, yield and water use efficiency response of greenhouse-grown hot pepper under Time-Space deficit irrigation. **Scientia Horticulturae**, v.126, p. 172–179, 2010.

SILVA, P.I.B. et al. Crescimento de pimentão em diferentes arranjos espaciais. **Pesq. Agropec. Bras, Brasília**, v. 45, n.2, p. 132-139, fev. 2010.

SILVA, V.F. et al. Effect of different irrigation level with different qualities of water and organic substrates on cultivation of pepper. **African Journal of agricultural research**, v.11, n.15, p.1373-13780, 2016.

SRIVASTAVA, H.S. Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. **Phytochemistry**, v. 19, p. 725-731, 1980.

SUNG, F.J.M. The effect of leaf water status on stomatal activity, transpiration and nitrate reductase of sweet potato. **Agricultural Water Management**, v. 4 p. 465–470,1981.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 3rd ed. California: Sinauer Associates, Inc., (1998), 2002, 690p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4a ed. Artmed, Porto Alegre, 2009, 820p.

TANG, A. C. et al. Photosynthetic oxygen evolution at low water potential in leaf discs lacking an epidermis. **Ann. Bot**, v. 89, n.1, p. 861- 870, 2002.

TRANI, P.E.; CARRIJO, O.A. **Fertirrigação em Hortalças**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2004, 53 p. (Boletim Técnico IAC, 196)

VAN GENUTCHEN, M. T. H. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of insaturated. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 41, p. 892 – 898, 1980.

WADA, E.; HATTORI. A. Nitrogen isotope effects in the assimilation of inorganic nitrogenous compounds by marine diatoms. **Geomicrobiological Journal**, v. 1 p. 85-101, 1978.

WAHID, A. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. **Journal of Plant Research**, Faisalabad, v. 120, n. 2, p. 219- 228, 2007.

YOUSFI, S. et al. Combined use of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{15}\text{N}$ tracks nitrogen metabolism and genotypic adaptation of durum wheat to salinity and water deficit. **New Phytologist**. v. 194, p. 230–244, 2012.

YUAN, X. K. et al. Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato. **Photosynthetica**, v. 54, n. 1, p. 28–39, 2016.