



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS
Departamento de Biologia Geral
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas



FERNANDA GOMES DA SILVA

**SAZONALIDADE NO ACÚMULO DE FRUTANOS EM
ÓRGÃOS SUBTERRÂNEOS DE *Gomphrena marginata* SEUB.
(AMARANTHACEAE) EM ÁREA DE CAMPO RUPESTRE**

**MONTES CLAROS
2012**

FERNANDA GOMES DA SILVA

**SAZONALIDADE NO ACÚMULO DE FRUTANOS EM
ÓRGÃOS SUBTERRÂNEOS DE *Gomphrena marginata* SEUB.
(AMARANTHACEAE) EM ÁREA DE CAMPO RUPESTRE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Montes Claros como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Biologia e Conservação.

Orientador: **Prof. Dr. Geraldo Aclécio Melo.**

Co-orientador: **Prof. Dr. Emerson Alves Silva.**

MONTES CLAROS

2012

FERNANDA GOMES DA SILVA

**SAZONALIDADE NO ACÚMULO DE FRUTANOS EM ÓRGÃOS
SUBTERRÂNEOS DE *Gomphrena marginata* SEUB.
(AMARANTHACEAE) EM ÁREA DE CAMPO RUPESTRE**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Biológicas
da Universidade Estadual de Montes Claros
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas.**

Banca examinadora:

Professor Dr. Geraldo Aclécio Melo
(Orientador)

Professor Dr. Victor Martins Maia

Professora Dra. Rita de Cássia Leone Figueiredo Ribeiro

**MONTES CLAROS
2012**

À minha mãe,
DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, o tudo, por tudo!

À minha família, especialmente à minha mãe e Meyre, por sempre acreditarem em mim e pelo apoio nesta importante etapa. Vocês são meu sustentáculo, obrigada por não me deixarem desanimar nem desistir.

Ao professor Dr. Geraldo Aclécio pela preciosa oportunidade, atenção e fundamental orientação.

Aos professores Dr. Emerson Alves, Dra. Rita de Cássia e Dra. Maria Angela pela acolhida, orientação e auxílio durante o estágio no Instituto de Botânica.

Aos colegas e amigos que passaram e aos que continuam no laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas da UNIMONTES que muito me auxiliaram nas coletas e pelos momentos de descontração, especialmente à Fátima pelo café filosófico de sempre.

Ao pessoal do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica, especialmente ao Clube dos Nerds pela acolhida, troca de experiências e pelas agradáveis conversas. Especialmente à Vanessa Oliveira, Aline, Kelly Simões e Pedro.

Aos colegas do Mestrado por compartilhar experiências e pelo companheirismo.

A todos os meus amigos. Aos que acompanharam de perto e aos que torceram de longe. De modo especial Jacy, Elda e Janine.

Aos professores do PPGCB da UNIMONTES.

À prefeitura de Itacambira, por autorizar as coletas na APA do município.

Ao Instituto de Botânica e à UNIMONTES pelo apoio logístico e infraestrutura necessários.

À Capes pela concessão de bolsa de estudos e por disponibilizar recursos para realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	01
2 MATERIAL E MÉTODOS	07
2.1 Caracterização da área de estudo	07
2.2 Material vegetal e condições de coleta.....	09
2.3 Dados meteorológicos.....	10
2.4 Umidade do solo (U_{solo})	10
2.5 Potencial osmótico (Ψ_s).....	11
2.6 Conteúdo relativo de água (CRA).....	12
2.7 Extração e fracionamento de carboidratos não-estruturais	12
2.8 Quantificação de açúcares redutores.....	13
2.9 Determinação de frutose total	14
2.10 Análise qualitativa de carboidratos – Cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC/PAD) e Cromatografia em Camada Delgada (TLC)	14
2.11 Dosagem de prolina.....	15
2.12 Análise estatística.....	16
3 RESULTADOS	17
4 DISCUSSÃO	28
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
6 REFERÊNCIAS	35
7 ANEXO A.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização da área de estudo (A). APA “Conjunto Paisagístico Serra do Resplandecente” (B).....	07
Figura 2 – Aspecto morfológico geral (A) e aspecto da estrutura subterrânea (B) de <i>Gomphrena marginata</i>	09
Figura 3 – Valores médios mensais de temperatura média (A), precipitação acumulada mensal (B), umidade relativa do ar (C) e umidade do solo (D) no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras em D indicam o desvio padrão da média (n=5).....	18
Figura 4 – Conteúdo relativo de água (CRA%) de órgãos subterrâneos (n=5) (A) e potencial osmótico (Ψ s) do suco celular de estruturas subterrâneas de <i>G. marginata</i> (n=3) (B) no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média	19
Figura 5 – Conteúdo de frutose total (A), fruto-polissacarídeos (B) e fruto-oligossacarídeos (C) em extratos de estruturas subterrâneas de <i>G. marginata</i> no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3). Razão entre o conteúdo de fruto-oligossacarídeos e fruto-polissacarídeos (D)	20
Figura 6 – Conteúdo de AR em equivalentes de D-glucose em estruturas subterrâneas de <i>G. marginata</i> no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3)	21
Figura 7- Conteúdo de prolina livre em órgãos subterrâneos de <i>G. marginata</i> no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3).....	21
Figura 8 – Cromatograma das corridas em CCD das frações de fruto-oligossacarídeos. Na sequência encontram-se o padrão levano (L), amostras dos 12 meses de estudo, agosto de 2010 a julho de 2011, o padrão inulina proveniente de extrato de <i>Helianthus tuberosus</i> (Ht), e por fim, uma mistura dos padrões 1-Cestose, 6-Cestose e Neocestose (P). DP: Grau de polimerização	22
Figura 9- Cromatogramas de corridas por HPAEC/PAD da fração fruto-oligossacarídeos de estruturas subterrâneas de <i>G.marginata</i> . As letras no canto superior direito correspondem ao mês analisado, na sequência os períodos chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011) e seco (abril a julho de 2011 e agosto de 2010). F: Frutose, G: Glicose e S: Sacarose	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise do solo da APA do município de Itacambira, MG	08
Tabela 2 - Coeficiente de correlações encontradas entre variáveis bioquímicas, ambientais e de relações hídricas em <i>Gomphrena marginata</i>	27
Tabela 3 – Coeficiente de correlações encontradas para o período total de estudo (agosto de 2010 a julho de 2011)	41
Tabela 4 – Coeficientes de correlações encontradas para o período seco (abril a julho de 2011 + agosto de 2010)	42
Tabela 5 – Coeficientes de correlações encontradas para o período chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011)	43

RESUMO

A sazonalidade climática é uma das principais características do Cerrado e como consequência a vegetação deste bioma desenvolveu diversas adaptações. *Gomphrena marginata* Seub. é uma herbácea de campo rupestre que apresenta estrutura subterrânea espessa e ocorre em uma região marcada pela sazonalidade climática. Neste contexto, este trabalho objetivou analisar a ocorrência e a sazonalidade do acúmulo de carboidratos do tipo frutanos em órgãos subterrâneos de *G. marginata* e a relação destes carboidratos com a disponibilidade de água no solo e relações hídricas das plantas. Exemplares de *G. marginata* foram coletados mensalmente no período de agosto de 2010 a julho de 2011 nos campos rupestres da Área de Preservação Ambiental (APA) “Conjunto Paisagístico da Serra Resplandecente” do município de Itacambira-MG (16°59’47”S, 43°20’01”W). Para tal, no período de um ano, análises quantitativas mensais dos teores de frutose total, fruto-polissacarídeos, fruto-oligosacarídeos, açúcares redutores e prolina livre foram realizadas em órgãos subterrâneos de *G. marginata*. Também foram feitas análises qualitativas dos carboidratos por cromatografia em camada delgada (TLC) e cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detector de pulso amperométrico (HPAEC/PAD). Quanto ao aspecto hídrico foram determinados a umidade do solo, o conteúdo relativo de água (CRA) e o potencial osmótico (Ψ_s) do suco celular das estruturas subterrâneas. Em adição, dados de precipitação (mm), umidade relativa (UR) e temperatura média do ar foram obtidos no site do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. Os dados obtidos foram analisados por meio de correlação simples (Pearson) e entre todos os parâmetros ambientais, de relações hídricas e bioquímicas. Foi utilizado o teste “t” de *Student* para avaliar a significância das correlações em nível de 5% de probabilidade. Durante o período chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011) foi observado o aumento do conteúdo de açúcares redutores enquanto houve decréscimo no conteúdo de fruto-polissacarídeos. Alterações também detectadas nas análises por TLC e HPAEC/PAD. Nos meses de agosto a dezembro elevada quantidade de frutose livre e sacarose foi observada, evidenciando a ocorrência da despolimerização das cadeias de fruto-polissacarídeos. Em campo foi observado que o período de florescimento desta espécie ocorreu predominantemente nos meses de setembro a novembro de 2010. Provavelmente os carboidratos de reserva (fruto-polissacarídeos) foram despolimerizados e translocados para a parte aérea em intenso desenvolvimento. Durante o período seco foram encontradas correlações entre o conteúdo de açúcar redutor e os parâmetros UR e umidade do solo. Neste período houve intenso acúmulo de fruto-polissacarídeos. Este acúmulo pode ser associado à translocação de fotoassimilados para o sistema subterrâneo antes da senescência e abscisão foliar, observadas especialmente nos meses de junho e julho de 2010. A espécie *G. marginata* possivelmente dispõe de estratégias que evitam a perda de água como o controle do movimento estomático e/ou aceleração da senescência e abscisão foliar. O conteúdo de prolina apresentou correlações positivas significativas com o CRA, entretanto, devido à baixa concentração observada, é questionável a atuação deste aminoácido na osmorregulação, apesar de não ser descartada a possibilidade de ser um sinalizador. Concluiu-se que o acúmulo de frutanos em órgãos subterrâneos em *G. marginata* é sazonal. A despolimerização de fruto-polissacarídeos ocorre no período chuvoso, o qual coincide com o período de floração das plantas. Por outro lado, durante o período seco ocorre o acúmulo dos frutanos de cadeia longa.

Palavras-chave: frutanos, *Gomphrena marginata*, sazonalidade.

ABSTRACT

The climatic seasonality is one of the main features of Cerrado and as a consequence, the vegetation of this biome has developed several adaptations. *Gomphrena marginata* Seub. is a herbaceous of 'campos rupestres' that has thick underground structure and occurs in a region marked by climatic seasonality. In this context, this study aims to evaluate the occurrence and the seasonality of accumulation of carbohydrates like fructans in underground organs of *G. marginata* and their relationship with soil water availability and hydric relations of plants. Sample of *G. marginata* were collected monthly from August 2010 to July 2011 in the 'campos rupestres' of Environmental Preservation Area "Complexo Paisagístico Serra Resplandecente " in the city of Itacambira-Minas Gerais State (16°59'47"S, 43°20 '01"W). To this end, monthly quantitative analysis of the levels of total fructose, fructo-polysaccharides, fructo-oligosaccharides, reducing sugars and free proline were carried out in underground organs of *G. marginata*. It was made qualitative analysis of carbohydrates by Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAEC/PAD). Regarding the hydric aspects, it was established soil humidity, the relative content of water (TCW) and osmotic potential from underground organs cell sap. In addition, rainfall data (mm), relative humidity (RH) and average air temperature were obtained from the website of the Institute of Agricultural Sciences of UFMG. Data were analyzed using simple correlation (Pearson) and all the environmental parameters of hydric and biochemical relations. It was used the "t" Student test for assessing the significance of the correlations in 5% level of probability. During the rainy season (September 2010 to March 2011) it was observed an increase of reducing sugars content while there was a decrease in the content of fructo-polysaccharides. Such changes were also detected in the analysis by TLC and HPAEC / PAD. From August to December it was observed high amount of free fructose and sucrose indicating the occurrence of depolymerization of the fructo-polysaccharides chain. In field it was observed that the flowering period of this species occurred predominantly from September to November 2010. Probably reserve carbohydrates (fructo-polysaccharides) were depolymerized and translocated to the shoot of the plant which was in intense development. During the dry period it was found correlations between the reducing sugar content, parameters RH and soil humidity. In this period there was an intense accumulation of fructo-polysaccharides. This accumulation can be associated with translocation of photoassimilates to the underground system before leaf senescence and abscission which was observed especially in the months of June and July 2010. The species *G. marginata* probably has strategies to avoid loss of water as the control of stomatal movement and / or acceleration of leaf senescence and abscission. The proline content showed significant positive correlations with the TCW. However, due to the low concentration observed its performance in the osmoregulation is questionable, although it is not ruled out the possibility of being a flag. It was concluded that the accumulation of fructans in the underground organs in *G. marginata* is seasonal. The depolymerization of fructo-polysaccharides occurs during the rainy season which coincides with the period of plants flowering. On the other hand, during the dry period occurs and accumulation of long-chain fructans.

Keywords: fructans, *Gomphrena marginata*, seasonality.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é uma savana tropical, formado principalmente por gramíneas, pequenas árvores e arbustos esparsos (EITEN, 1993). É considerado a segunda maior eco-região do Brasil, cobrindo cerca de 20% do território nacional (MITTERMEIER *et al.*, 1999). O Cerrado abriga parte significativa da diversidade biológica do Brasil (MYERS *et al.*, 2000) e associada a esta grande diversidade de espécies encontra-se uma ampla variedade de ambientes no bioma (WALTER, 2006). Ribeiro e Walter (1998) agruparam as fitofisionomias do Cerrado em formações florestais (mata ciliar, mata de galeria, mata seca e cerradão), savânicas (Cerrado sentido estrito, parque de Cerrado, palmeiral e vereda) e campestres (campo sujo, campo rupestre e campo limpo). Esta classificação resultou num total de 11 tipos principais que ainda podem apresentar subtipos dependendo do ambiente de ocorrência.

Os solos do Cerrado consistem em uma mistura de areia e argila, possuem baixa capacidade de retenção de água e são pobres em nutrientes (GODOY; FELIPPE, 1992). São na maioria ácidos com pH variando entre 4 e 5. Profundos, porosos e permeáveis, podendo ser explorados com facilidade pelo sistema radicular das plantas.

A sazonalidade climática bem definida é uma importante característica do Cerrado, sendo este bioma marcado pelo regime de água que compreende uma estação chuvosa (outubro a março) seguida de um período seco (abril a setembro) (SOUZA *et al.*, 2005; EITEN, 1972; COUTINHO, 2002; EITEN, 1993). A precipitação média anual é de 1500 mm, variando de 750 mm a 2000 mm e as temperaturas são geralmente amenas ao longo do ano, entre 22°C e 27°C (KLINK; MACHADO, 2005; RIBEIRO; WALTER, 1998).

Em ambientes com estação de chuva bem definida, como o Cerrado, ocorrem as denominadas secas sazonais (KRAMER, 1980; ARAÚJO-FILHO, 2002) que exercem influência direta sobre a vegetação (WALTER, 2006). A água é o principal constituinte das plantas, sendo indispensável para o transporte de solutos e gases, e, portanto, essencial para o

metabolismo vegetal. Ela tem fundamental importância para manutenção do crescimento através da promoção da turgescência das células e dos tecidos (FIGUEIRÔA *et al.*, 2004; NOGUEIRA *et al.*, 2005). Neste contexto, em condições de seca as plantas mais resistentes são aquelas que possuem maior eficiência na obtenção ou na utilização de água (TAIZ; ZIEGER, 2010).

Algumas mudanças no desenvolvimento são fatores relevantes para a manutenção do equilíbrio do teor de água em tecidos vegetais e incluem a capacidade de acumular água nos tecidos, o espessamento cuticular e o aumento na razão raiz/parte aérea (VERSLUES *et al.*, 2006). Outras respostas das plantas à restrição hídrica abrangem diminuição da área foliar, a regulação estomática (MCCREE; FERNÁNDEZ, 1989), a abscisão foliar (TAIZ; ZEIGER, 2010) e o ajuste osmótico (ABDUL JALEEL *et al.*, 2007)

O ajuste osmótico consiste na síntese e acúmulo de solutos, no vacúolo ou no citosol, que promovem a osmoproteção por manter o equilíbrio hídrico celular dando continuidade às atividades vitais do vegetal (ABDUL JALEEL *et al.*, 2007). Além de propiciar a manutenção da turgescência, os solutos acumulados servem como reserva de nitrogênio e carbono para a rápida retomada do crescimento assim que as condições ambientais tornam-se favoráveis (NILSEN; ORCUTT, 1996; SZEGLETES *et al.*, 2000). Tais solutos podem ainda auxiliar na estabilização de membranas e proteínas (VALLIYODAN; NGUYEN, 2006).

A maior parte do ajuste osmótico ocorre por meio do aumento na concentração de solutos comuns como ácidos orgânicos, íons inorgânicos (principalmente o potássio), aminoácidos e açúcares (TAIZ; ZIEGER, 2010). Estes dois últimos solutos podem ser acumulados respectivamente em virtude da restrição à síntese de proteínas e da hidrólise do amido armazenado, bem como por distúrbios causados pela escassez de água nos tecidos do

floema reduzindo a sua translocação para outros órgãos do vegetal (SUBBARAO *et al.*, 2000).

Dentre os solutos orgânicos osmorreguladores a prolina é um aminoácido que age como osmólito-chave para o ajuste osmótico em plantas sob déficit hídrico e é geralmente acumulada no citoplasma de células de folhas e raízes (NAYYAR, 2003). Age também como osmoprotetor atuando principalmente na estabilização de proteínas e na proteção contra efeitos deletérios das espécies reativas do oxigênio (SHARMA; DUBEY, 2005).

Os carboidratos são também importantes solutos compatíveis envolvidos no mecanismo de osmorregulação. Estes podem ser armazenados na forma de polissacarídeos insolúveis, como o amido, bem como na forma de açúcares altamente solúveis e higroscópicos, como a sacarose e hexoses (WHITTAKER *et al.*, 2007). Os carboidratos solúveis são considerados os mais eficientes na diminuição do potencial osmótico e na consequente promoção da turgescência celular (SPOLLEN; NELSON, 1994).

A sacarose é o carboidrato mais abundante e universal nas plantas. Devido à sua estabilidade estrutural, natureza não-redutora e solubilidade em água ela é o principal açúcar translocável nos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2010). Entre os polissacarídeos, o amido constitui o principal carboidrato de reserva das plantas superiores, sendo acumulado na forma de grânulos depositados em diferentes órgãos, principalmente naqueles de reserva (FIGUEIREDO-RIBEIRO *et al.*, 2008). Depois da sacarose e do amido, os frutanos são outra classe de carboidratos não-estruturais de maior ocorrência nos vegetais superiores (HENDRY; WALLACE, 1993). Esta classe de carboidratos é encontrada em cerca de 15% da flora contemporânea de angiospermas (HENDRY, 1993).

Os frutanos são carboidratos não-redutores formados por adições sucessivas de unidades de frutose a uma molécula de sacarose (POLLOCK *et al.*, 1996). Estes carboidratos constituem séries homólogas de oligo e polissacarídeos que contém resíduos de frutose

ligados a grupos hidroxila de uma molécula de sacarose. Cada membro da série contém um resíduo a mais de frutose que o membro anterior (EDELMAN; JEFFORD, 1968, POLLOCK; CHATTERTON, 1988).

Acredita-se que a flora acumuladora de frutanos apareceu coincidentemente com o surgimento da seca sazonal durante o período Eoceno-Mioceno (HENDRY, 1993). Neste período a disponibilidade de água parece ter pressionado seletivamente e direcionado a evolução do metabolismo de frutanos nas plantas (PILON-SMITS *et al.*, 1995). A distribuição atual das famílias que contém frutanos em regiões temperadas ou semiáridas, ambientes com marcada sazonalidade, suporta essa proposição (HENDRY, 1993).

Segundo Pollock (1986) durante o crescimento e desenvolvimento das plantas os frutanos podem ser acumulados e variações sazonais de temperatura bem como outras variações ambientais podem influenciar na concentração e composição destes carboidratos, indicando que os mesmos desempenham funções fisiológicas além do papel de reserva (HOUSLEY; POLLOCK, 1993; PONTIS, 1989). Estes carboidratos parecem atuar na tolerância de algumas espécies vegetais expostas a estresses ambientais como seca prolongada e queimadas, constituindo deste modo uma estratégia adaptativa destas plantas às condições adversas do ambiente, além de fornecer energia para as plantas (HENDRY; WALLACE, 1993; RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

No Cerrado muitas espécies dispõem de estratégias adaptativas para sobreviver aos períodos de restrição hídrica (MANTOVANI; MARTINS, 1988). Em algumas herbáceas estas estratégias consistem em adaptações fenológicas (MORELLATO *et al.*, 2000; MANTOVANI *et al.*, 2003), podendo ser observadas a dormência durante o período seco, após abscisão foliar e morte de ramos (MANTOVANI; MARTINS, 1988) e a produção de folhas, flores e frutos, concentrada na estação chuvosa (BATALHA *et al.*, 1997; RIZZO *et al.*, 1971; MANTOVANI; MARTINS, 1988). A presença de órgãos subterrâneos espessos

que acumulam fotoassimilados em determinado período do seu ciclo de desenvolvimento consiste também numa importante adaptação observada em herbáceas deste bioma (MANTOVANI; MARTINS, 1988). Estes órgãos subterrâneos após a estação seca dão origem a novos órgãos aéreos (RACHID, 1947).

Em algumas herbáceas tuberosas brasileiras é possível observar o aumento do teor de carboidratos não-estruturais nos meses mais frios e secos do ano (CARVALHO; DIETRICH, 1993; ISEJIMA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993; VIEIRA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993). Estudos realizados com 35 espécies do Cerrado indicaram que os frutanos são os carboidratos de reserva que predominam entre as asteráceas. Em cerca 60% das espécies analisadas os frutanos constituíram o principal carboidrato de reserva (TERTULIANO; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993).

Dentre as asteráceas, a espécie *Vernonia herbacea*, nativa do Cerrado, acumula aproximadamente 80% do seu peso seco em frutanos do tipo inulina (CARVALHO; DIETRICH, 1993). Em *Gomphrena macrocephala*, membro da família Amaranthaceae, os frutanos corresponderam a 50 % do peso seco do órgão subterrâneo e foram observadas variações sazonais no acúmulo destes carboidratos (VIEIRA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993). Em *Gomphrena decipiens*, *Gomphrena scapigera* e *Gomphrena moniqui*, espécies que ocorrem naturalmente em campos rupestres, também foi detectada a presença de frutanos (SILVA, 2001). Acredita-se que os frutanos desempenham um importante papel como osmorreguladores, permitindo não só a sobrevivência, mas o crescimento vegetal em condições de baixa disponibilidade hídrica, decorrente de baixas temperaturas ou da falta de água no ambiente em determinados períodos do ano (BROCKLEBANK; HENDRY, 1989; POLLOCK; JONES, 1979).

A ocorrência e o acúmulo de frutanos em espécies do Cerrado, ambiente caracterizado por acentuada sazonalidade climática, sugerem o envolvimento desta classe de

carboidratos na tolerância à seca. Uma vez que as cadeias de frutanos podem ser facilmente despolimerizadas elevando o teor de hexoses, sacarose e fruto-oligossacarídeos no vacúolo celular, acredita-se que estas moléculas promovem a redução do potencial osmótico levando ao influxo de água ou evitando o seu efluxo, e à manutenção da turgescência celular mesmo sob condições de reduzida disponibilidade de água no solo.

A espécie *Gomphrena marginata* apresenta órgãos subterrâneos espessos e ocorre espontaneamente em campos rupestres, uma fitofisionomia do Cerrado. Devido à sua ocorrência neste ambiente, esta espécie encontra-se exposta a períodos de reduzida disponibilidade hídrica. Diante deste cenário, o presente estudo objetivou analisar a ocorrência de sazonalidade no acúmulo de frutanos em órgãos subterrâneos de *G. marginata* em condição de campo rupestre, bem como verificar se fatores ambientais estão associados ao metabolismo dos solutos em questão, contribuindo para elucidação de mecanismos fisiológicos adaptativos que a espécie dispõe para tolerar o estresse hídrico ambiental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área de estudo

O estudo foi conduzido na Área de Preservação Ambiental (APA) “Conjunto Paisagístico da Serra Resplandecente” do município de Itacambira, norte de Minas Gerais (16°59’47”S, 43°20’01”W). Nesta área, que faz parte do Complexo do Espinhaço (Figura 1), predominam formações vegetacionais do tipo Campo Rupestre.

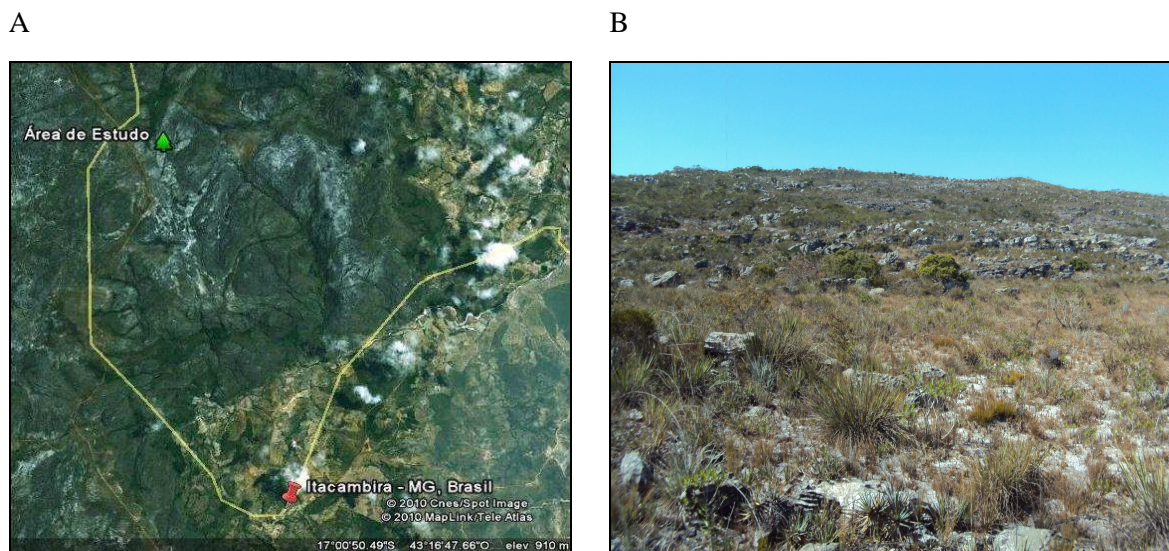


Figura 1 – Localização da área de estudo (A). **Fonte:** <http://earth.google.com>. APA “Conjunto Paisagístico Serra do Resplandecente” (B). **Fonte:** arquivo pessoal.

Os campos rupestres, segundo Ribeiro e Walter (1998), são formações campestres do Cerrado e caracterizam-se por vegetação herbáceo-arbustiva associada a solos litólicos predominantemente quartzíticos. Estas formações ocorrem em altitudes superiores a 900 metros, ocupando as regiões mais altas da Serra do Espinhaço, desde o norte da Chapada Diamantina na Bahia até a Serra de Ouro Branco em Minas Gerais (RAPINI *et al.*, 2008). Segundo Benites *et al.* (2003) os solos destes ambientes são pobres em nutrientes, possuem

textura arenosa, elevados teores de alumínio trocável e cor escura nos horizontes superficiais em virtude do acúmulo de matéria orgânica.

Foi realizada uma análise do solo da área de estudo pelo Laboratório de Análises de Solos do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), localizado em Montes Claros - MG. O solo da região é arenoso, ácido, apresenta baixos teores de fósforo, cálcio, magnésio e potássio e teor médio de matéria orgânica (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise do solo da APA do município de Itacambira, MG.

Atributos do solo	Amostras	
	1	Nível
pH em água	4,7	Bx
P Mehlich (mg Kg ⁻¹)	1,86	MBx
P remanescente (mg Kg ⁻¹)	44,30	
K (mg Kg ⁻¹)	18	Bx
Ca (cmolc dm ⁻³)	0,20	MBx
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,10	MBx
Al (cmolc dm ⁻³)	0,30	Bx
Al (cmolc dm ⁻³)	0,30	MBx
H+Al (cmolc dm ⁻³)	3,24	M
SB (cmolc dm ⁻³)	0,35	MBx
t (cmolc dm ⁻³)	0,65	MBx
m (%)	46	M
T (cmolc dm ⁻³)	3,58	Bx
V (%)	10	MBx
Mat. Org (dag Kg ⁻¹)	2,24	M
Areia grossa (dag Kg ⁻¹)	27,20	
Areia fina (dag Kg ⁻¹)	62,80	
Silte (dag Kg ⁻¹)	6,00	
Argila (dag Kg ⁻¹)	4,00	Ar
MBx=muito baixo; Bx=baixo; B=bom; M=médio; A=alto; MB=muito bom; MA=muito alto; Ar= arenoso; Tme=textura média; Arg=argiloso; Marg=muito argiloso.		

2.2 Material vegetal e condições de coleta

A espécie *Gomphrena marginata* pertence à família Amaranthaceae. Segundo Siqueira (1991) esta é representada no Brasil por cerca de 100 espécies. O gênero *Gomphrena* possui aproximadamente 46 espécies no país e a maioria delas ocorre em áreas de Cerrados, campos rupestres e caatingas. *G. marginata* é uma herbácea que atinge no máximo 40 centímetros de altura, ereta e com folhas basais rosuladas e linear-lanceoladas de até sete centímetros de comprimento e quatro milímetros de largura com pelos nas margens. Apresenta inflorescências capituliformes, terminais, hemisféricas e longo-pendunculadas e perigônio amarelado com 1,2 centímetros de comprimento (SIQUEIRA, 1991). Possui sistema subterrâneo espessado semelhante a uma raiz tuberosa por meio do qual se reproduz vegetativamente (Figura 2).

Esta espécie foi considerada endêmica de campos rupestres de Diamantina por Siqueira (1991), entretanto, no presente estudo é relatada a sua ocorrência nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Itacambira, Minas Gerais.

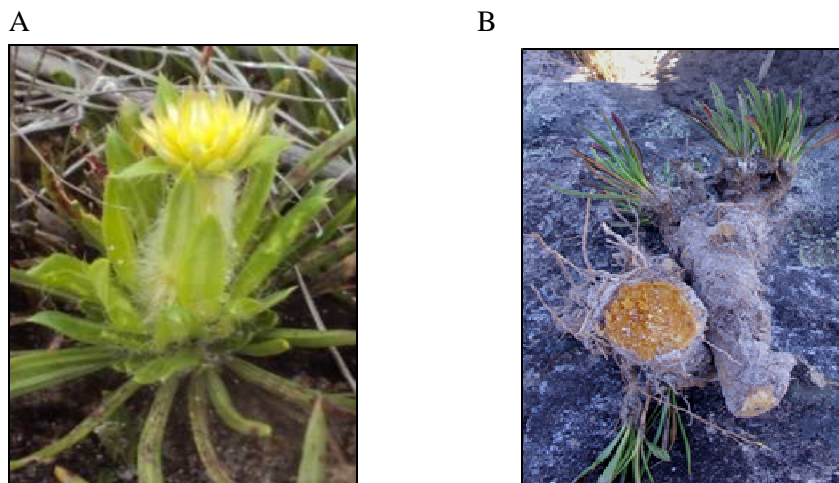


Figura 2 – Aspecto morfológico geral (A) e aspecto da estrutura subterrânea (B) de *Gomphrena marginata*. **Fonte:** arquivo pessoal.

A fim de verificar a sazonalidade no acúmulo de carboidratos em *Gomphrena marginata* (Herbário SP 441822), coletas mensais foram realizadas no período de agosto de 2010 a julho de 2011. Em cada expedição nove plantas de tamanho similar foram coletadas, devidamente acondicionadas e levadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas da Universidade Estadual de Montes Claros. As análises foram realizadas com estruturas subterrâneas de plantas com aspectos morfológicos sadios.

No laboratório os órgãos subterrâneos foram lavados, congelados em nitrogênio líquido e triturados. Em seguida, foram armazenados em freezer a -20°C até a realização da extração de carboidratos e prolina. Para cada mês do período de estudo foram coletadas 3 amostras de órgãos subterrâneos compostas por 3 plantas cada.

2.3 Dados meteorológicos

Dados de temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação acumulada foram obtidos no site do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. Os dados apresentados neste trabalho são de Montes Claros-MG, que possui a estação meteorológica mais próxima da área de estudo.

2.4 Umidade do solo (U_{solo})

Em cada expedição foram retiradas cinco amostras de solo na faixa de profundidade entre 10 e 20 cm, que corresponde à profundidade efetiva do órgão subterrâneo de *G. marginata*. As amostras foram depositadas em saco de papel e em saco plástico para minimizar a perda de umidade. Em seguida foram acondicionadas em caixa de isopor e levadas para o laboratório para determinação do teor de umidade das mesmas.

As amostras de solo foram pesadas para determinação de sua massa fresca (MF), depois foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante a 70°C até atingir massa constante. Em seguida, foram novamente pesadas para determinação da massa seca (MS).

Através da fórmula abaixo a umidade do solo foi determinada:

$$U_{\text{solo}} (\%) = \frac{MF - MS}{MS} \times 100$$

Onde: MF = massa fresca do solo;

MS = massa seca do solo.

2.5 Potencial osmótico (Ψ_s)

O potencial osmótico foi calculado a partir da osmolaridade determinada com auxílio de um osmômetro de ponto de orvalho (modelo VAPRO 5220 – Wescor, Logan, Utah, EUA).

Nas determinações da osmolaridade foi usado suco celular extraído do material vegetal coletado. As extrações ocorreram logo após as coletas e as amostras de suco foram acondicionadas em tubos tipo eppendorf e armazenadas em geladeira até a data das análises. O cálculo do potencial osmótico foi feito pela conversão da osmolaridade em milimoles por quilograma por meio da equação de Van't Hoff, citada por Silva e colaboradores (2009):

$$\Psi_s (\text{MPa}) = -c (\text{mOsmol Kg}^{-1}) \times 2,58/1000$$

Onde c é a osmolalidade.

Esta análise foi realizada a partir de dezembro de 2010. Portanto, apenas os dados de potencial para o período seco (abril a julho de 2011) foram incorporados na análise estatística.

2.6 Conteúdo Relativo de Água (CRA)

Dentre as nove plantas coletadas mensalmente, cinco tiveram fragmentos subterrâneos cortados para determinação do conteúdo relativo de água. Os fragmentos cortados foram pesados para determinação da massa fresca (MF). Posteriormente, deixados em água destilada por 24 horas e pesados novamente para determinação da massa túrgida. Em seguida, foram submetidos à secagem em estufa de ar circulante a 70°C até atingir massa constante e ter a sua massa seca determinada (WEATHERLEY, 1950).

O conteúdo relativo de água foi estimado através da fórmula:

$$\text{CRA (\%)} = \frac{\text{MF} - \text{MS}}{\text{MT} - \text{MS}} \times 100$$

Onde:

MF = massa fresca da estrutura subterrânea;

MS = massa seca da estrutura subterrânea;

MT = massa túrgida da estrutura subterrânea determinada 24 horas após a amostra ser embebida em água.

2.7 Extração e fracionamento de carboidratos não-estruturais

A extração de carboidratos solúveis foi realizada conforme descrito por Carvalho *et al.* (1998). Amostras de um grama do material vegetal de cada amostra composta de *G. marginata* foram colocadas em 10 mL de etanol 80% e levadas ao banho-maria a 80°C durante 15 minutos. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 700 g durante 15 minutos a temperatura ambiente. Os resíduos foram re-extraídos mais duas vezes em etanol 80% com o mesmo volume inicial e os sobrenadantes etanólicos foram reunidos. Na sequência, os

resíduos foram re-extraídos duas vezes em 10 mL de água destilada a 60° C durante 30 minutos e em seguida filtrados a vácuo. Os sobrenadantes etanólicos e os aquosos foram reunidos e armazenados para realização de análises quantitativas de açúcares redutores e de frutose total por métodos colorimétricos específicos.

Alíquotas destes extratos foram utilizadas para o fracionamento de carboidratos não-estruturais como descritos a seguir. Três mililitros do extrato foram mantidos em refrigerador “overnight” com três volumes de etanol 95%. O extrato foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos e houve consequente separação das frações de fruto-oligossacarídeos (sobrenadante) e fruto-polissacarídeos (precipitado). Este último foi ressuspensionado e solubilizado em volume conhecido de água destilada. A quantificação destes açúcares foi realizada pelo método de antrona.

2.8 Quantificação de açúcares redutores

A quantificação de açúcares redutores foi realizada conforme a metodologia descrita por Miller (1959). Alíquotas do extrato de carboidratos não-estruturais foram pipetadas e depositadas em tubos de ensaio cujo volume foi completado para 1500 µL com água destilada. Em seguida, foi adicionado 1 mL do reagente DNS (ácido dinitrossalicílico) (15g de tartarato duplo de sódio e potássio dissolvidos em 25 mL de água destilada + 0,5g de ácido dinitrossalicílico + 10 mL de solução de hidróxido de sódio 2M). A mistura foi homogeneizada e deixada em banho-maria a 100° C por 5 minutos. Após o resfriamento, foi realizada a leitura da absorbância da reação a 540 nm e a concentração dos açúcares foi então estimada através de uma reta padrão de calibração feita com concentrações crescentes de D-glucose.

2.9 Determinação de frutose total

A determinação de frutose total das amostras foi realizada utilizando o método de antrona descrito por Jermyn (1956). Alíquotas do extrato das amostras foram depositadas em tubos de ensaio e o volume foi completado para 250 μ L com água destilada. Em seguida, foram adicionados 2,5 mL do reagente de antrona (2g de antrona dissolvido em 100 mL de ácido sulfúrico 76%) e o conteúdo foi homogeneizado. O homogenato foi levado ao banho-maria por 45 minutos a 37°C e a leitura da absorbância da reação foi procedida em espectrofotômetro a 620 nm. A concentração de frutose total foi estimada com base em uma reta padrão de calibração construída com concentrações crescentes de Inulina.

2.10 Análise qualitativa de carboidratos – Cromatografia de Troca Aniônica de Alta Resolução com Detecção por Pulso Amperométrico (HPAEC/PAD) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Amostras dos extratos da fração de fruto-oligossacarídeos contendo aproximadamente 400 μ L de frutose por mL de água foram deionizadas em colunas de trocas catiônica (Dowex 50x8) e aniônica (Dowex 1x8) (CARVALHO; DIETRICH, 1993). Após a deionização, as amostras foram filtradas e analisadas por HPAEC/PAD em sistema de cromatografia Dionex modelo ICS-3000, utilizando-se coluna CarboPac PA-1 (2 x 250 mM). A eluição dos carboidratos foi feita utilizando-se um gradiente da mistura do eluente A (150 mM de hidróxido de sódio) e eluente B (500 mM de acetato de sódio em 150 mM de hidróxido de sódio) com a seguinte programação: 0 - 2 min, 25 mM; 2,1 - 8 min, 50 mM; 8,1 - 8,5 min, 75 mM; 8,6 - 10 min, 100 mM; 10,1 - 28 min, 450 mM; 28,1 - 30, 500 mM; 30,1

– 40, 25mM. O potencial aplicado ao PAD para 0 - 0,4 s, 0,41 – 0,42 s, 0,43 s, 0,44 - 1 s foram 0,1, -2, 0,6, -0,1, respectivamente e o fluxo aplicado foi de 0,25 mL min⁻¹.

As frações de fruto-oligossacarídeos após deionização, como descrito acima, também foram analisadas por cromatografia em camada delgada em placas de sílica gel 60 F 254 20x20 cm. No dia anterior à corrida cromatográfica, foi procedida a aplicação das alíquotas dos padrões (80 µg de inulina de *Helianthus tuberosus*, 1-Cestose, 6-Cestose, Neocestose e Levano) e dos extratos que continham cerca de 80 µg em equivalentes de frutose. Todas as amostras equidistaram cerca de 1 cm entre si. A corrida foi realizada em cuba saturada com a fase móvel constituída de álcool isobutílico, 1-propanol e água na proporção 3:12:4 (v/v). A cuba foi mantida fechada até a fase móvel atingir aproximadamente 1 cm antes do final da placa. A placa foi retirada e submetida à secagem em capela com o auxílio de secador. No dia seguinte a corrida foi repetida e após secagem a placa foi então revelada. Com o auxílio de um borrifador foi aplicado uniformemente ácido ortofosfórico contendo uréia sobre a placa e em seguida esta foi levada para estufa a 150°C e deixada por três minutos até o aparecimento das bandas.

2.11 Dosagem de prolina livre

A determinação do teor de prolina foi realizada conforme a metodologia de Bates *et al.* (1973). Amostras de 0,5g da estrutura subterrânea foram maceradas em ácido sulfossalicílico 3%. Em seguida foram centrifugadas a 3000g e os sobrenadantes foram coletados. Alíquotas de 2 mL foram transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de ninhidrina ácida (1,25g de ninhidrina + 30 mL de ácido acético glacial + 20 mL de ácido fosfórico 6M) e 2 mL de ácido acético glacial concentrado. Logo após, os tubos foram fechados hermeticamente e homogeneizados. Em seguida, os tubos foram mantidos em

banho-maria a 100°C por 1 hora. Após este período foram colocados em banho de gelo para redução imediata da temperatura e interrupção da reação. Foram adicionados 4 mL de tolueno ao meio de reação e foi agitado vigorosamente por cerca de 30 segundos. Nos tubos foram formadas duas fases, entretanto somente a fase superior (avermelhada) de cada tubo foi recuperada e submetida à leitura em espectrofotômetro a 520 nm. Os teores de prolina foram estimados com base em uma reta padrão de concentrações crescentes de L-prolina.

2.12 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados por meio de correlações simples (Pearson) entre todas as variáveis ambientais, relações hídricas e bioquímicas. Foi utilizado o teste “t” de *Student* para avaliar a significância das correlações em nível de 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

Durante o período de estudo, agosto de 2010 a julho de 2011, a temperatura média mensal variou entre 19,81°C e 26,86°C. Os meses mais quentes corresponderam ao período chuvoso (outubro de 2010 a março de 2011), enquanto temperaturas mais amenas ocorreram nos meses que compreenderam o período seco (agosto de 2010 e abril a julho de 2011) (Figura 3A).

A precipitação acumulada foi expressivamente menor durante o período seco. O volume máximo neste período foi de 114 mm de chuva em abril de 2011 e reduziu drasticamente nos meses seguintes atingindo 16,47 mm em maio, 1,5 mm em junho e 0,5 mm em julho. No mês de agosto de 2010, que também constitui o período seco, não houve precipitação. Durante o período chuvoso a maior precipitação foi observada em novembro de 2010, 298,18 mm. Em fevereiro choveu apenas 8,9 mm. Neste mês provavelmente ocorreu um “veranico”, período que compreende uma semana ou até trinta dias sem precipitação durante a estação chuvosa (Figura 3B).

A umidade relativa do ar (UR) variou entre 53% (em outubro de 2010) e 82% (em março de 2011). De modo geral, os meses que apresentaram menor UR corresponderam aos meses com menor precipitação, enquanto que em meses que apresentaram maior volume de chuva ocorreram maiores UR (Figura 3C).

Ao longo do período de estudo, o teor de umidade do solo variou de 0,59% em agosto de 2010 a 26,83% em março de 2011. Os maiores teores de umidade do solo foram observados de novembro de 2010 a março de 2011, excetuando fevereiro que apresentou apenas 2,35% de umidade. Os meses de setembro e outubro, que também integraram o período chuvoso, apresentaram baixos teores de umidade, 0,63% e 3,11% respectivamente. Dentre os meses do período seco a maior umidade do solo, 17,21%, foi observada em abril de

2011. Nos meses subsequentes o teor de umidade reduziu chegando a 0,64% em julho de 2011 (Figura 3D).

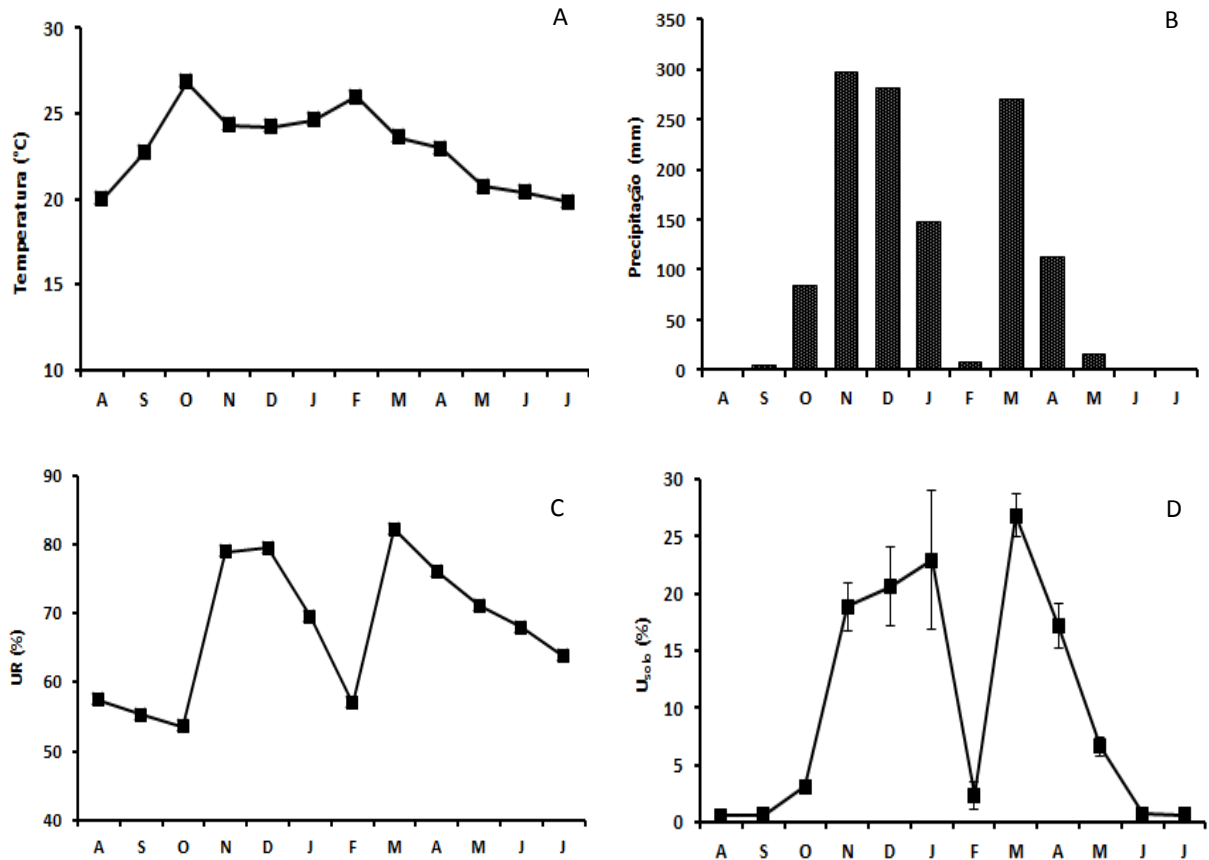


Figura 3 – Valores médios mensais de temperatura média (A), precipitação acumulada mensal (B), umidade relativa do ar (C) e umidade do solo (D) no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras em D indicam o desvio padrão da média (n=5).

O Conteúdo Relativo de Água (CRA) das estruturas subterrâneas se manteve praticamente constante ao longo dos meses com valores superiores a 87,12%, CRA observado para o mês de fevereiro de 2011 (Figura 4A).

Análises de potencial osmótico foram realizadas somente no período de dezembro de 2010 a julho de 2011. Durante o referido período foram observados potenciais mais elevados em dezembro (-0,83 MPa), janeiro (-0,37 MPa) e março (-0,60 MPa). Ao longo de todo o período analisado o mês de fevereiro apresentou o potencial mais negativo (-1,08 MPa). Salvo fevereiro, mês do período chuvoso, os potenciais mais negativos foram

observados durante o período seco, aqui representado pelos meses de abril a julho de 2011 (Figura 4B).

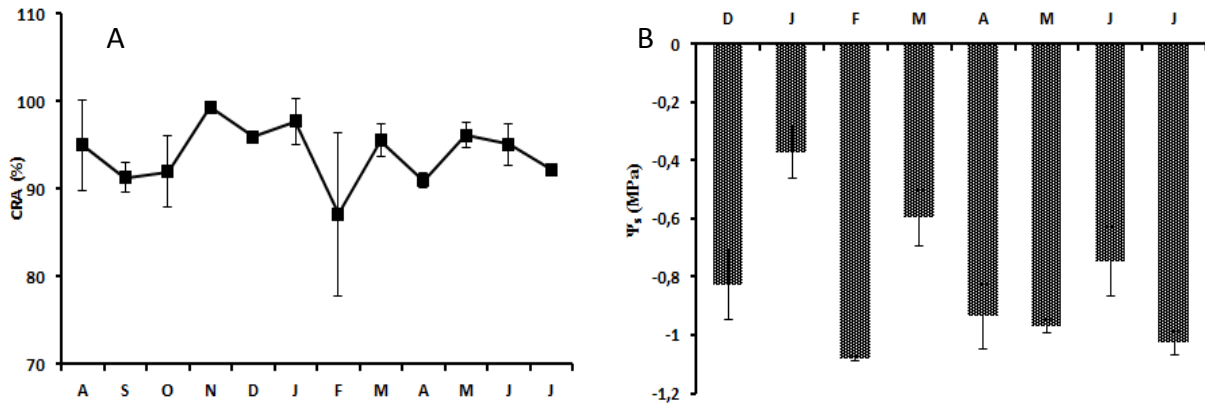


Figura 4 – Conteúdo relativo de água (CRA%) de órgãos subterrâneos (n=5) (A) e potencial osmótico (Ψ_s) do suco celular de estruturas subterrâneas de *G. marginata* (n=3) (B) no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Os conteúdos de frutose total e fruto-polissacarídeos foram menores entre os meses de agosto a dezembro de 2010 (Figuras 5A e B). A menor concentração de fruto-polissacarídeos ocorreu no mês de novembro de 2010 (169,38 mg.g⁻¹MS). A partir de janeiro de 2011 houve um pronunciado e constante aumento na concentração destes solutos, com a maior concentração observada no mês de maio (600,13 mg.g⁻¹MS) (Figura 5B). Concomitante ao aumento dos fruto-polissacarídeos ocorreu a elevação do teor de frutose total, com maior teor observado no mês de fevereiro (832,58 mg.g⁻¹MS). Examinando o conteúdo de fruto-oligosacarídeos foi constatado que sua menor concentração ocorreu em agosto de 2010 (64,14 mg.g⁻¹MS) e a maior em fevereiro de 2011 (264,10 mg.g⁻¹MS). Depois de fevereiro, os meses de setembro e outubro de 2010 apresentaram maior teor destes carboidratos com 224,44 mg.g⁻¹MS e 213,62 mg.g⁻¹MS respectivamente (Figura 5C). A razão entre fruto-oligosacarídeos e fruto-polissacarídeos foi maior em setembro e novembro de 2010; em seguida decresceu, mantendo-se pouco variável entre março e julho de 2011 (Figura 5D).

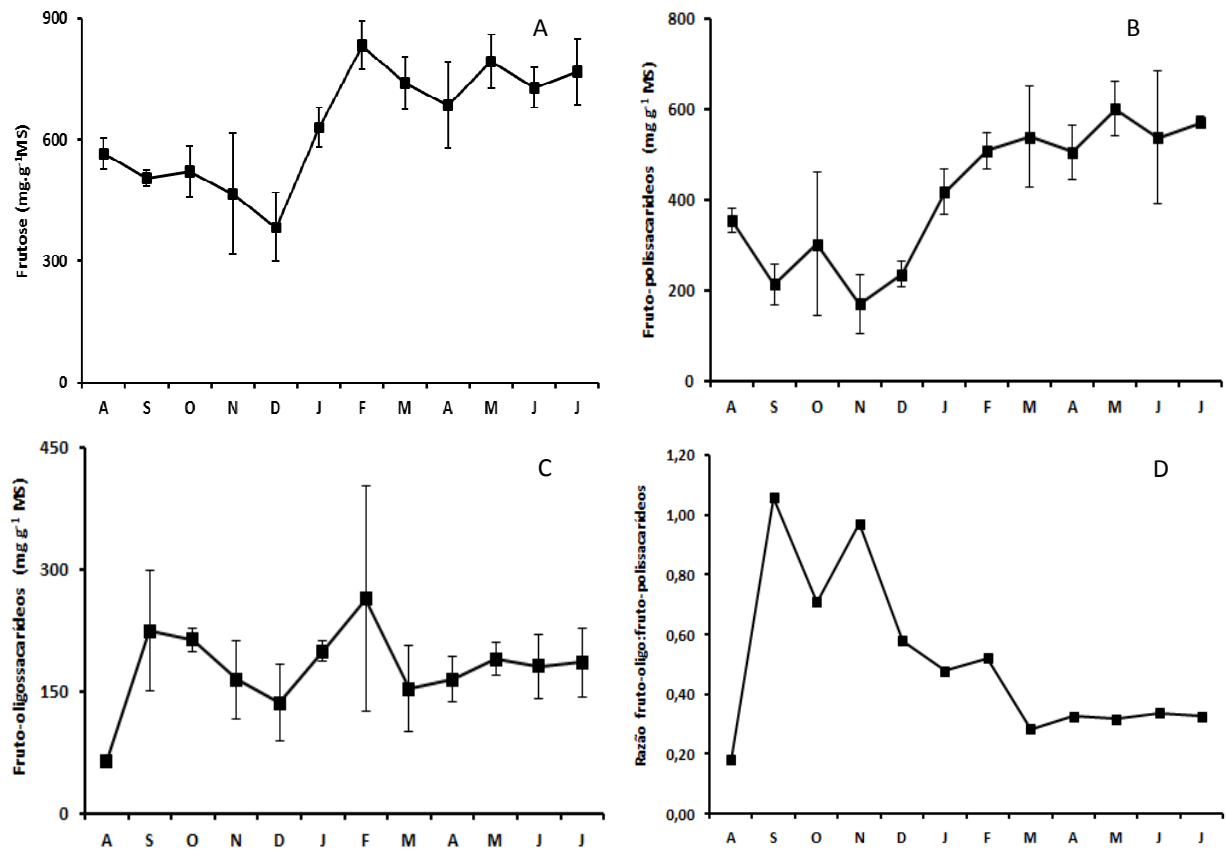


Figura 5 – Conteúdo de frutose total (A), fruto-polissacarídeos (B) e fruto-oligosacarídeos (C) em extratos de estruturas subterrâneas de *G. marginata* no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3). Razão entre o conteúdo de fruto-oligosacarídeos e fruto-polissacarídeos (D).

O conteúdo de açúcar redutor (AR) compreendeu teores de 38,01 mg.g⁻¹MS em fevereiro de 2011 a 67,77 mg.g⁻¹MS em outubro de 2010. Maiores concentrações destes carboidratos foram encontradas entre setembro e dezembro de 2010 bem como nos meses de junho e julho de 2011 (Figura 6).

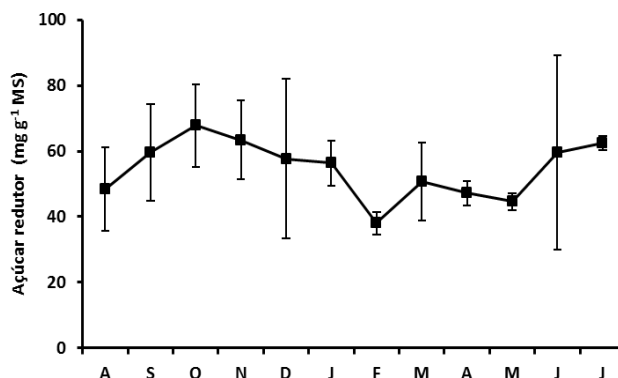


Figura 6 – Conteúdo de AR em equivalentes de D-glucose em estruturas subterrâneas de *G. marginata* no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3).

Os teores de prolina livre observados ao longo do estudo variaram entre 0,83 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS em outubro de 2010 e 1,31 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS em novembro de 2011 (Figura 7).

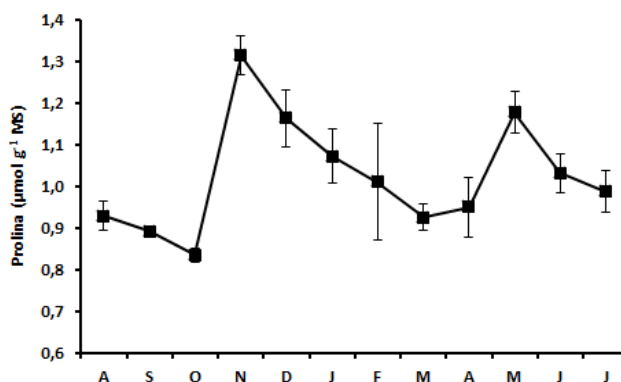


Figura 7- Conteúdo de prolina livre em órgãos subterrâneos de *G. marginata* no período de agosto de 2010 a julho de 2011. As barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=3).

Na figura 8 é apresentado o cromatograma da corrida cromatográfica em camada delgada das frações de fruto-oligossacarídeos. As bandas contendo carboidratos da série inulina (Ht) assim como os demais padrões 1-Cestose (1K), 6-Cestose (6K) e Neocestose (N) aparecem nitidamente, enquanto o padrão levano (L) permaneceu na origem. Além do padrão levano, que ficou retido na origem, também foi verificada a retenção de grande parte das amostras na origem em todos os meses analisados, indicando a presença de carboidratos de

alto grau de polimerização. Em setembro de 2010 foi detectado maior teor de frutose total evidenciado pela maior intensidade da banda correspondente a este monossacarídeo. Em janeiro de 2011 parece ocorrer o início de um novo período de síntese de frutanos uma vez que são observadas bandas de sacarose mais intensas no período subsequente, fevereiro a julho de 2011, e pouca frutose livre no mesmo período.

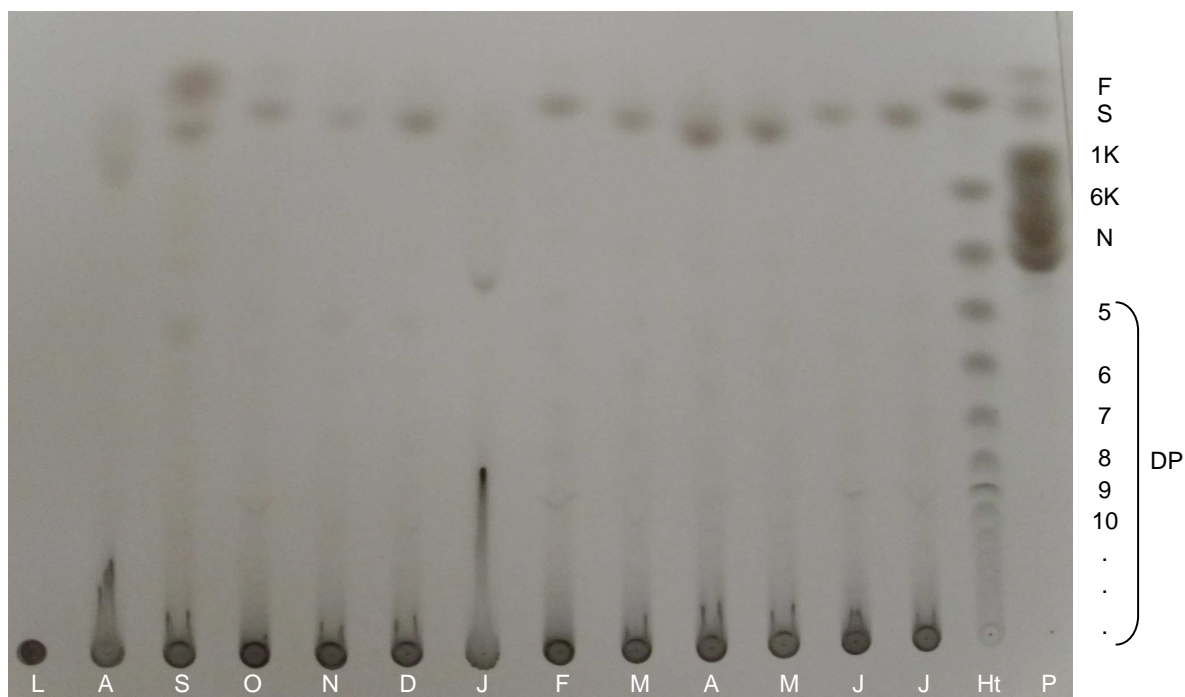


Figura 8 – Cromatograma das corridas em CCD das frações de fruto-oligossacarídeos. Na sequência encontram-se o padrão levano (L), amostras dos 12 meses de estudo, agosto de 2010 a julho de 2011, o padrão inulina proveniente de extrato de *Helianthus tuberosus* (Ht), e por fim, uma mistura dos padrões 1-Cestose, 6-Cestose e Neocestose (P). DP: Grau de polimerização.

Cromatogramas das análises qualitativas realizadas com a fração de fruto-oligossacarídeos por cromatografia de troca aniônica de alta resolução (HPAEC-PAD) são apresentadas na figura 9. Em todos os meses foram detectados glucose (G), frutose (F), sacarose (S) e a presença de uma série homóloga de frutanos. Foi observado no início da estação chuvosa, a partir do mês de setembro, um aumento nos picos dos monossacarídeos frutose e glucose e menores picos de sacarose e de frutanos com alto grau de polimerização (DP). De modo oposto, a partir do mês de abril, início do período seco, foi observado um aumento no pico de sacarose, coincidindo com a maior intensidade da banda deste açúcar

observada na cromatografia de camada delgada. Este aumento também foi observado para cadeias de frutanos com alto DP.

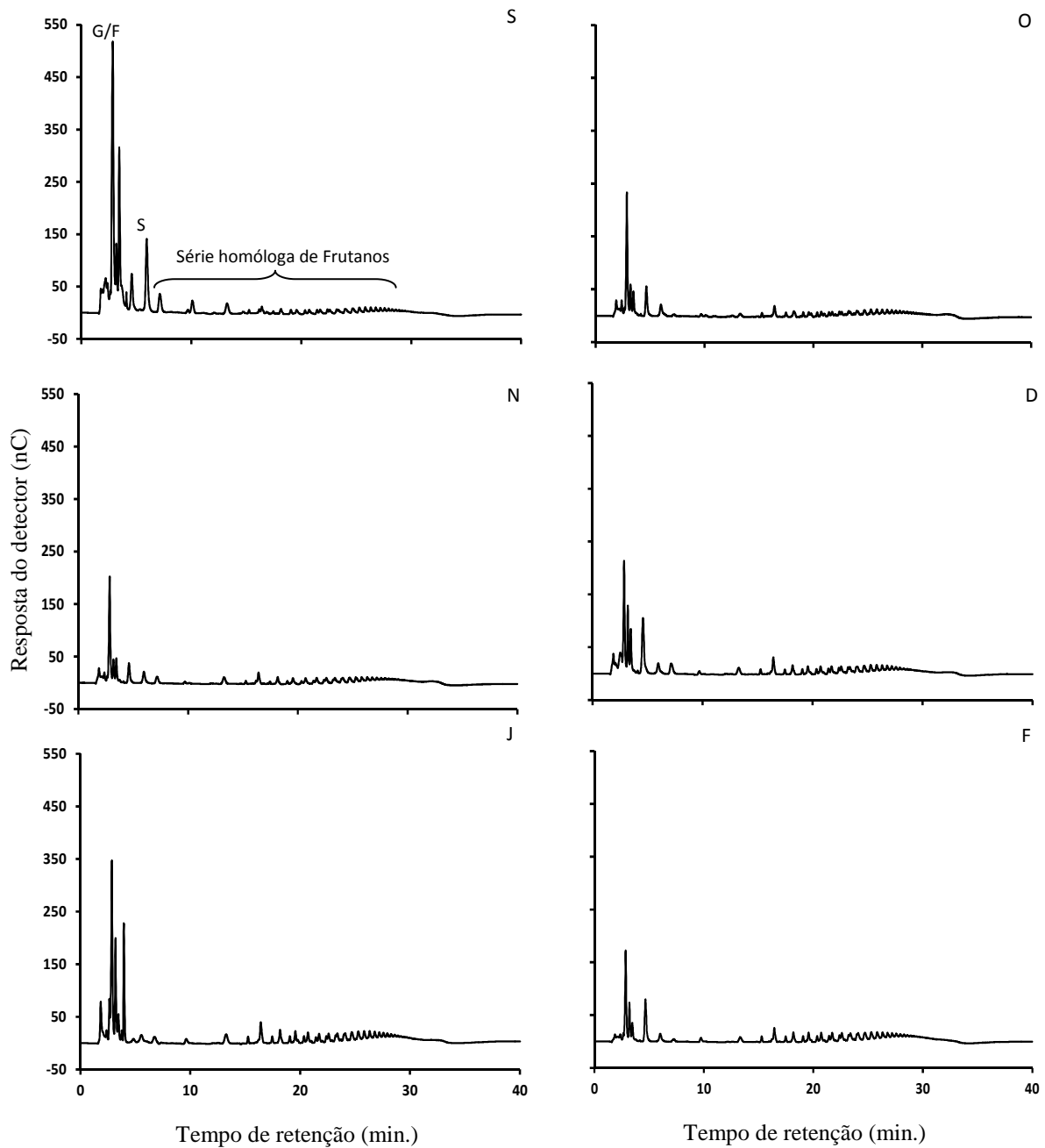


Figura 9- Cromatogramas de corridas por HPAEC/PAD da fração fruto-oligossacarídeos de estruturas subterrâneas de *G.marginata*. As letras no canto superior direito correspondem ao mês analisado, na sequência os períodos chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011) e seco (abril a julho de 2011 e agosto de 2010). F: Frutose, G: Glicose e S: Sacarose.

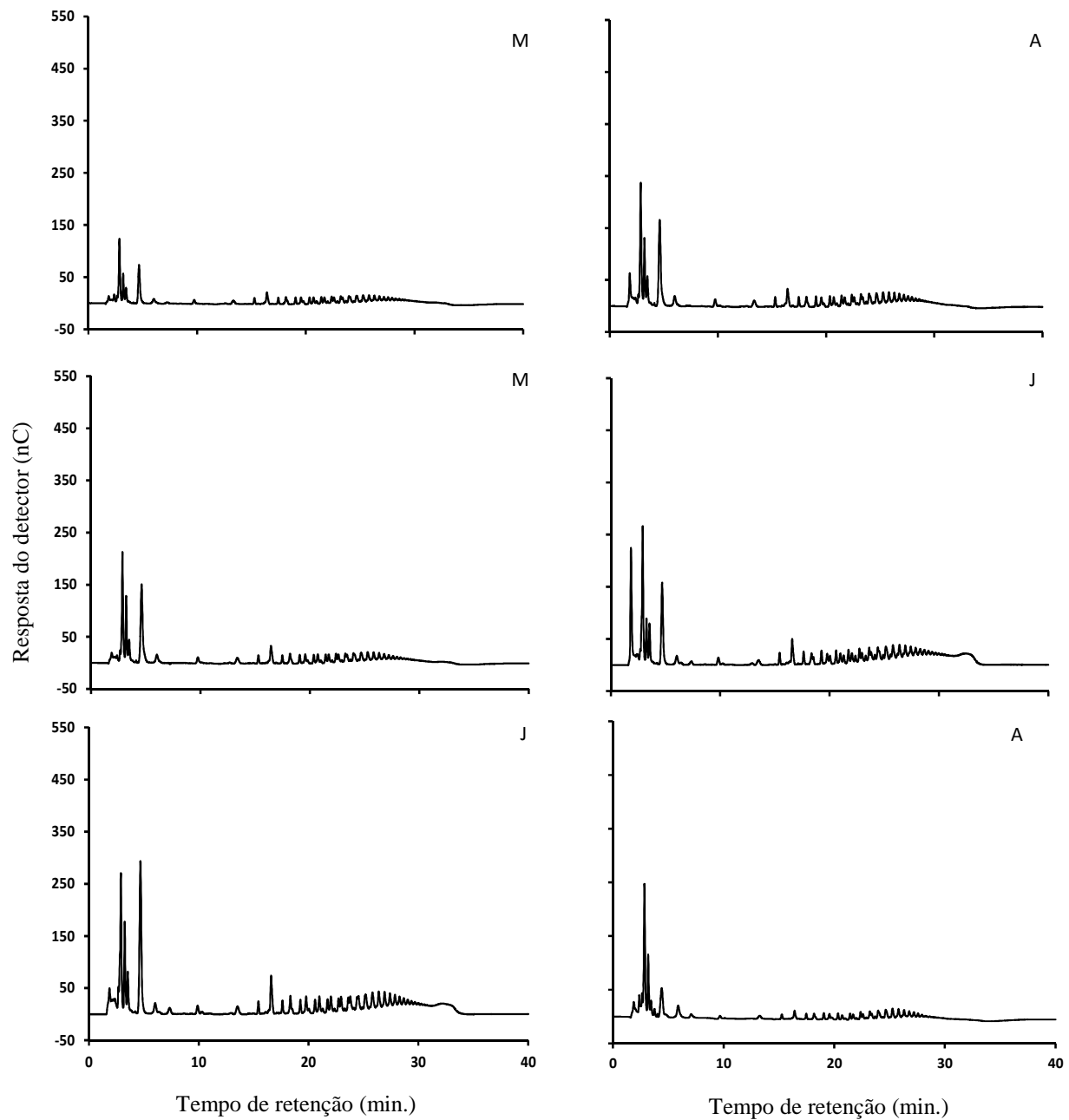


Figura 9 – Continuação.

Poucas correlações foram encontradas entre as variáveis bioquímicas (frutose total, fruto-oligossacarídeos, fruto-polissacarídeos, açúcar redutor e prolina livre), ambientais (temperatura média do ar, precipitação acumulada, UR e umidade do solo) e de *status* hídrico das plantas (CRA e potencial osmótico) quando analisado todo o período de estudo (agosto de 2010 a julho de 2011). As únicas correlações foram entre as variáveis ambientais, umidade

relativa, precipitação e umidade do solo (Umidade do solo e UR, $r=0,83$, $p=0,02$; umidade do solo e precipitação, $r=0,88$, $p=0,02$; UR e precipitação, $r=0,77$, $p=0,03$) e entre frutose total e fruto-polissacarídeos ($r=0,93$, $p=0,01$) (Anexo A).

A fim de verificar a ocorrência da sazonalidade no acúmulo de frutanos, o período de estudo foi então dividido em chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011) e seco (abril a julho de 2011 e abril a julho de 2011 + agosto de 2010) e novas análises de correlação foram realizadas. A inclusão do mês de agosto foi feita por este também constituir o período seco.

Durante o período chuvoso, excetuando a variável temperatura, o CRA correlacionou positivamente com todas as variáveis ambientais, precipitação ($r=0,83$, $p=0,02$), umidade do solo ($r=0,81$, $p=0,03$) e UR ($r=0,77$, $p=0,03$). Neste período ainda foi observado o aumento do conteúdo de AR enquanto houve decréscimos nos conteúdos de fruto-polissacarídeos ($r=-0,74$, $p=0,04$) e de frutose total ($r=-0,81$, $p=0,03$). Também nesse período o conteúdo de fruto-oligossacarídeos esteve correlacionado negativamente à precipitação ($r=-0,93$, $p=0,01$), umidade do solo ($r=-0,81$, $p=0,03$) e UR ($r=-0,88$, $p=0,02$) (Anexo A).

Durante o período seco (abril a agosto) ocorreram aumentos simultâneos nos conteúdos de frutose total e fruto-oligossacarídeos ($r=0,95$, $p=0,01$) e fruto-polissacarídeos ($r=0,99$, $p=0,01$). Também o teor de prolina correlacionou positivamente com o conteúdo de frutose total ($r=0,74$, $p=0,04$) e fruto-polissacarídeos ($r=0,71$, $p=0,05$). A precipitação acumulada, temperatura média, umidade relativa e umidade do solo correlacionaram positivamente entre si. Todas as correlações encontradas neste período encontram-se disponíveis no anexo A. Quando o período seco considerado abrangeu apenas os meses sequenciais, abril a julho de 2011, mais correlações foram encontradas, ao passo que ocorreu a permanência das supracitadas, porém, com coeficientes diferenciados. Às análises de

correlação do referido período foram incluídos valores de potencial osmótico do suco celular das estruturas subterrâneas de *G. marginata* (Tabela 2).

Tabela 2 - Coeficiente de correlações encontradas entre variáveis bioquímicas, ambientais e de relações hídricas em *Gomphrena marginata*.

Período seco (abril a julho de 2011)											
	AR	Frutose Total	Fruto-Oligo	Fruto-Poli	Prolina	CRA	Ψ_s	U_{solo}	Precipitação	UR	T°C
AR	1,00										
Frutose Total	0,02	1,00									
Fruto-Oligo	0,22	0,96**	1,00								
Fruto-Poli	-0,06	1,00***	0,94**	1,00							
Prolina	-0,45	0,78*	0,75*	0,82*	1,00						
CRA	-0,14	0,66*	0,75*	0,67*	0,89**	1,00					
Ψ_s	-0,20	0,38	0,15	0,40	0,02	-0,38	1,00				
U_{solo}	-0,75*	-0,60	-0,78*	-0,54	-0,26	-0,51	0,20	1,00			
Precipitação	-0,58	-0,76*	-0,90**	-0,70*	-0,47	-0,65	0,13	0,97**	1,00		
UR	-0,84*	-0,56	-0,69*	-0,49	-0,04	-0,21	-0,08	0,93*	0,87*	1,00	
T°C	-0,66	-0,74*	-0,87*	-0,68	-0,36	-0,52	0,01	0,98**	0,98**	0,94*	1,00

: açúcar redutor, Fruto:oligo: fruto-oligossacarídeos, fruto-poli: fruto-polissacarídeos, CRA: conteúdo relativo de água, UR: Umidade relativa, T°C: Temperatura Média. * p valor $\leq 0,05$, ** p valor $\leq 0,02$ e *** p valor $\leq 0,01$.

4 DISCUSSÃO

Variações nos parâmetros ambientais umidade relativa do ar (UR), precipitação e temperatura média do ar ao longo do período analisado (agosto de 2010 a julho de 2011) evidenciam a sazonalidade climática para a região de estudo. A ocorrência de sazonalidade de regimes de chuva é típica de regiões de Cerrado caracterizadas por verão úmido e inverno seco (COUTINHO, 2002). A umidade do solo correlacionou positiva e significativamente às variáveis precipitação ($r=0,88$, $p=0,02$) e UR ($r=0,83$, $p=0,03$) e, considerando isoladamente os períodos seco e chuvoso, estas correlações foram mais significativas no período seco, período no qual a umidade do solo atingiu níveis críticos chegando a 0,59% conforme observado em agosto de 2010.

A marcante sazonalidade na distribuição das chuvas e os baixos valores de umidade do solo no período seco podem restringir a absorção e hidratação dos tecidos vegetais, principalmente de órgãos subterrâneos que estão em contato direto com o solo. Neste estudo, no entanto, o CRA de órgãos subterrâneos de *G. marginata* (Figura 4A) apresentou pequenas variações ao longo do ano indicando que a espécie apresenta grande capacidade de manter a hidratação de seus tecidos, a qual pode ser em função do seu metabolismo de carboidratos.

Durante o período chuvoso foi observada correlação positiva significativa entre o CRA e as variáveis ambientais umidade do solo ($r=0,82$, $p=0,03$), precipitação ($r=0,84$, $p=0,03$) e UR ($r=0,78$, $p=0,04$). Estas correlações são esperadas uma vez que as chuvas aumentam tanto o reservatório de água no solo como a UR do ar. Maiores valores de UR contribuem para reduções na evapotranspiração e deste modo, diminuem a perda de água para a atmosfera (MEDEIROS, 2002).

Correlações negativas significativas entre o conteúdo de AR e os teores de fruto-polissacarídeos ($r=-0,75$, $p=0,04$) e frutose total ($r=-0,81$, $p=0,03$) foram encontradas no período chuvoso. Especialmente nos meses de setembro de 2010 a janeiro de 2011 elevada quantidade de frutose livre e sacarose evidenciam a ocorrência de despolimerização de cadeias de fruto-polissacarídeos nesse período. Desta forma, a despolimerização de cadeias de fruto-polissacarídeos em *G. marginata* parece estar associada ao suprimento da demanda energética da planta para o seu crescimento. Conforme observações feitas em campo, brotações vegetativas e reprodutivas da espécie ocorreram no início do período chuvoso compreendendo predominantemente os meses de setembro a novembro.

A despolimerização de frutanos de cadeia longa durante o período de crescimento aéreo e a síntese e armazenamento de fruto-polissacarídeos no final do crescimento vegetativo em espécies de Cerrado foi documentada também por Carvalho em 1991, Carvalho e colaboradores (1997) e Carvalho e Dietrich (1993).

Carvalho (1991) observou em *Vernonia herbacea* redução no conteúdo total de frutanos nos períodos de brotação e floração e aumento no conteúdo de frutose livre. Em concordância, Vieira e Figueiredo-Ribeiro (1993) estudando *G. macrocephala*, verificaram variações sazonais na quantidade e composição dos frutanos. Nas fases de brotação e crescimento vegetativo houve o predomínio de frutanos de baixo peso molecular. Enquanto houve o aumento no peso molecular dos fruto-polissacarídeos e redução no teor de fruto-oligossacarídeos nas fases de floração/frutificação e início de dormência.

Contrariamente à baixa concentração de frutanos durante a estação chuvosa, no período seco (abril a julho de 2011 + agosto de 2010) ocorreu o aumento simultâneo no conteúdo de fruto-oligossacarídeos e fruto-polissacarídeos ($r=0,98$, $p=0,01$), com consequente aumento no conteúdo de frutose total. O conteúdo de fruto-oligossacarídeos durante o período seco manteve pouco variável, exceto em agosto de 2010. Considerando os

meses sequenciais, abril a julho de 2010, o aumento no conteúdo de AR correlacionou negativa e significativamente com as seguintes variáveis UR ($r=-0,84$, $p=0,02$) e umidade do solo ($r=-0,75$, $p=0,04$). Alterações no teor de fruto-oligosacarídeos durante o período seco também correlacionaram significativamente com as oscilações das condições ambientais preponderantes. Estes carboidratos aumentaram suas concentrações quando foram observados menores valores em todas as variáveis ambientais de temperatura do ar ($r=-0,87$, $p=0,02$), precipitação ($r=-0,90$, $p=0,02$), UR ($r=-0,69$, $p=0,05$) e umidade do solo ($r=-0,78$, $p=0,03$) e ainda estiveram associados positivamente com o CRA ($r=0,75$, $p=0,04$). Associado a isso, correlações significativas entre prolina e fruto-polissacarídeos e fruto-oligosacarídeos foram observadas. Em adição, este aminoácido também correlacionou positivamente ao CRA. O acúmulo de prolina em plantas expostas a estresses abióticos pode promover a estabilização de proteínas (SHARMA; DUBEY, 2005), a remoção de espécies reativas de oxigênio e ajustamento osmótico juntamente com o aumento nos níveis de outros osmólitos (VALLIYODAN; NGUYEN, 2006).

Em *V. herbacea*, ocorreu o aumento da síntese de prolina em rizóforos de plantas estressadas. Foi observado aos 22 dias de suspensão de rega a concentração de $25 \mu\text{mol.g}^{-1}\text{MS}$ de prolina e sugerida a atuação deste aminoácido como osmorregulador ou sinalizador e regulador de outras respostas em plantas de *V. herbacea* em condições de deficiência hídrica (GARCIA, 2009). Em oposição, plantas de *Costus arabicus* submetidas a déficit hídrico apresentaram baixos teores de prolina ($<0,15 \mu\text{mol.g}^{-1}$) em folhas, raízes e rizomas, deste modo, foi descartada a sua atuação como osmorregulador (COSTA, 2010). Também em *G. marginata* o baixo teor deste aminoácido ($<1,31 \mu\text{mol.g}^{-1}$) torna questionável o seu papel como osmorregulador embora não seja descartada a possibilidade de que atue como sinalizador nesta espécie.

A manutenção da turgescência de tecidos vegetais sob condições de deficiência hídrica, como observado neste estudo, tem sido associada à redução do potencial osmótico devido ao acúmulo de solutos nas células (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001; GARCIA, 2009). Garcia (2009) sugeriu o envolvimento dos frutanos na tolerância ao estresse hídrico em *Vernonia herbacea* devido ao aumento nos conteúdos de fruto-oligossacarídeos, principalmente nos AR, frutose e sacarose, evidenciando a ocorrência de ajustamento osmótico nos rizóforos das plantas submetidas ao estresse.

Dias-Tagliacozzo e colaboradores (2004), também em estudo realizado com *Vernonia herbacea*, observaram que as plantas conseguiram manter alto conteúdo de água em órgãos subterrâneos nos 30 primeiros dias de suspensão de rega, atribuindo-se a este fato a redução do potencial hídrico promovida pelo acúmulo de frutanos. Neste sentido, Pollock e Jones (1979) já afirmavam que os frutanos estão envolvidos em mecanismos de osmorregulação em plantas que passam por períodos de restrição hídrica e/ou baixas temperaturas em determinadas épocas do ano.

Apesar do aumento no teor de AR e fruto-oligossacarídeos, carboidratos envolvidos em mecanismos osmorregulatórios, os dados de potencial osmótico do suco celular não resultaram em correlações significativas. No entanto, é importante destacar que nos meses do período chuvoso (dezembro de 2010 a março de 2011) (Figura 4) foram observados potenciais menos negativos, com exceção de fevereiro, que apresentou o potencial mais negativo dentre os meses. Este resultado é interessante uma vez que no referido mês a precipitação foi de apenas 8,9 mm e a umidade do solo apresentou grande queda dentro período chuvoso chegando a 2,35%. Nesta ocasião ocorreu maior conteúdo de fruto-oligossacarídeos que são conhecidos por sua atuação no ajustamento osmótico. A partir de abril, com exceção de junho, os demais meses apresentaram os potenciais mais negativos e

maiores conteúdos de açúcares redutores. Deste modo, a possibilidade de que ocorra osmorregulação em *G. marginata* não pode ser excluída.

Por outro lado, as plantas dispõem de outras estratégias para evitar a desidratação sob condições de deficiência hídrica. Dentre elas, o fechamento estomático para minimizar as perdas de água pela transpiração (PAIVA; OLIVEIRA, 2006), a redução da área foliar e intensificação da senescência e abscisão foliar (MCCREE; FERNÁNDEZ, 1989; TAIZ; ZIEGER, 2010). Plantas de *G. marginata* apresentaram sinais de senescência foliar e abscisão nos meses de junho e julho, meses com baixa umidade no solo. Provavelmente esta constitui uma das estratégias que a espécie dispõe para tolerar o período de reduzida disponibilidade de água no solo. Esta característica é observada também em outras espécies de Cerrado durante o período seco (MANTOVANI; MARTINS 1988). Tagliacozzo (1995) afirmou que o aumento de fruto-polissacarídeos em órgãos subterrâneos de plantas sob déficit hídrico pode ocorrer devido ao transporte de fotoassimilados provenientes da parte aérea, visto a senescência foliar.

Conforme dados deste estudo, o acúmulo de frutanos em *G. marginata* é sazonal. A variação destes açúcares acompanha as oscilações ambientais, especialmente a precipitação e umidade do solo. O acúmulo de fruto-polissacarídeos em órgãos subterrâneos de *G. marginata* ocorreu durante o período seco e estes carboidratos foram despolimerizados durante o período chuvoso. A degradação dos frutanos de cadeia longa provavelmente ocorreu em virtude da demanda energética para o crescimento e o acúmulo durante o período seco pode estar relacionado à tolerância desta espécie à seca, uma vez que os tecidos permaneceram hidratados durante todo o período de estudo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A sazonalidade climática é uma das principais características do Cerrado (SOUZA *et al.*, 2005) e em resposta a esta sazonalidade a vegetação deste bioma desenvolveu diversas adaptações (MANTOVANI; MARTINS, 1988). *Gomphrena marginata* é uma herbácea que ocorre em campos rupestres, uma fitofisionomia do Cerrado marcada pela sazonalidade climática.

Os frutanos constituem uma classe de carboidratos encontrada em cerca de 15% da flora atual de angiospermas. O acúmulo destes açúcares tem sido relatado em espécies que colonizam regiões com ocorrência de seca sazonal como no Cerrado. Nestas espécies, o presente metabolismo de frutanos tem sido considerado importante na promoção do ajustamento osmótico permitindo às plantas sobreviverem à baixa umidade do solo durante períodos de baixa precipitação.

Neste trabalho verificou-se que a espécie *G. marginata* sintetiza e acumula carboidratos do tipo frutanos. Durante o estudo, o acúmulo de frutanos foi sazonal e esteve associado às variações ambientais. A despolimerização das cadeias de frutanos com alto grau de polimerização ocorreu durante o período chuvoso coincidente à estação de crescimento das plantas. A redução no conteúdo de frutanos totais e fruto-polissacarídeos neste período evidenciam o seu transporte para a parte aérea em desenvolvimento. O início de um novo período de síntese ocorreu durante o período chuvoso, em janeiro de 2011, e aumentou gradativamente atingindo altas concentrações no período seco.

Durante a seca ocorreu o acúmulo de frutanos de alto peso molecular que pode ter sido favorecido pelo transporte de fotoassimilados da parte aérea em senescência para os órgãos subterrâneos. Esta constitui uma estratégia que permite às plantas economizar água

durante a seca e que pode ter sido utilizada uma vez que os órgãos subterrâneos mantiveram hidratação mesmo sob deficiência de água no solo.

A osmorregulação relacionada ao metabolismo de frutanos não foi evidenciada em *G. marginata* apesar de não ser descartada esta possibilidade. Estudos posteriores em condições controladas são sugeridos no intuito de verificar se o acúmulo destes carboidratos está envolvido em processo de osmorregulação nesta espécie.

Concluiu-se por meio deste trabalho que a espécie *G. marginata* acumula sazonalmente frutanos em seus órgãos subterrâneos. Estes carboidratos são acumulados durante o período de menor precipitação e são degradados durante o período chuvoso coincidente com a estação de crescimento desta espécie. O acúmulo e a mobilização destes carboidratos, além de relacionados ao seu crescimento, podem estar envolvidos na tolerância à seca uma vez que esta espécie ocorre em ambiente de seca sazonal.

REFERÊNCIAS

- ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*, v.59, p.150-157, 2007.
- ARAÚJO FILHO, J.A. Histórico do uso dos solos da caatinga. In: ARAÚJO, Q.R. de 500 anos de uso do solo no Brasil. Bahia: UESC, 2002.
- BATALHA, M.C.; ARAGAKI, S.; MANTOVANI, W. Variações fenológicas das espécies do Cerrado em Emas (Pirassununga, SP). *Acta Botanica Brasileira*, v.11, p.61-78, 1997.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, v.39, p.205-207, 1973.
- BENITES, V. M.; CAIAFA, A. N.; MENDONÇA, E. S.; SCHAEFER, C. E.; KER, J.C. Solos e vegetação nos complexos rupestres de altitude da Mantiqueira e do Espinhaço. *Floresta e Ambiente*, v.10, p.76-85, 2003.
- BROCKLEBANK, J. HENDRY, G.A.F. Characteristics of plant species which store different types of reserve carbohydrates. *New Phytologist*, v.112, p.255-260, 1980.
- CARVALHO, M.A.M. 1991. *Variações no conteúdo e na composição de frutanos em rizóforos de Vernonia herbaceae (Vell.) Rusby*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- CARVALHO, M.A.M., PINTO, M.M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica*, v.21, p.281-285, 1998.
- CARVALHO, M.A.M.; ZAIDAN, L.B.P.; DIETRICH, S.M.C. Growth and fructan contents in plants of *Vernonia herbacea* (Asteraceae) regenerated from rhizophores. *New Phytologist*, v.136, p.153-161, 1997.
- CARVALHO, M.A.M.; DIETRICH, S.M.C. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytologist*, v.23, p.735-740, 1993.
- CHAVES-FILHO, J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Botânica*, v.24, p.199-204, 2001.
- COSTA, V.P. 2010. *Influência do déficit hídrico no crescimento, acúmulo de carboidratos de reserva e na anatomia e ultra-estrutura do rizoma de Costus arabicus L. (Costaceae, Monocotyledoneae)*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba,

- COUTINHO, L.M. *Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois*. In: KLEIN, A.L. (Org), Unesp/Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, São Paulo, 2002.
- DIAS-TAGLIACOZZO, G.M., ITAYA, M.A.M., CARVALHO, M.A.M., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.C. Fructans and water suppression on intact and fragmented rhizophores of *Vernonia herbacea*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.47, p.363-373, 2004.
- EDELMAN, J.; JEFFORD, T.G. The mechanism of fructose metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. *New Phytologist*, v.67, p.517-531, 1968.
- EITEN, G. The cerrado vegetation of Brazil. *Botanical Review*, v.38, p.201-341, 1972.
- EITEN, G. Vegetação do Cerrado. In: MARIA NOVAES PINTO (org.). *Cerrado: Caracterização, Ocupação e Perspectivas*. Brasília, Editora Universidade de Brasília, p. 17-73, 1993.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L, CHU, E.P.; ALMEIDA, V.P. Tuberização. p.409-419 In: KERBAUY, G.B. (Ed.). *Fisiologia Vegetal*. 2.ed. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 2008.
- FIGUEIRÔA, J.M.; BARBOSA, D.C.A.; SIMABUKURO, E.A. Crescimento de plantas jovens de *Mycacrodrion urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. *Acta Botânica Brasília*, v.18, p.573-580, 2004.
- GARCIA, P.M.A. 2009. *Variações no metabolismo de frutanos em Vernonia herbacea (Vell) Rusby (Asteraceae) em resposta ao déficit hídrico e sua relação com a tolerância à seca*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, São Paulo.
- GODOY, S.M.A.; FELIPPE, G.M. Crescimento inicial em *Qualea gradiflora*, uma árvore dos Cerrados. *Revista Brasileira de Botânica*, v.15, p.23-30, 1992.
- HENDRY, G.A.F. Evolutionary origins and natural functions of fructans - a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist*, v.123, p.3-14, 1993.
- HENDRY, G.A.F.; WALLACE, R.K. The origin, distribution and evolutionary significance of fructans. In: SUZUKI M.; CHATTERTON, J.N. (Eds.). *Science and Technology of fructan*. Boca Raton: CRC Press, 1993.
- HOUSLEY, T.L.; POLLOCK, C.J. The metabolism of fructan in higher plants. In: SUZUKI, M.; CHATTERTON, N. J. (Ed.). *Science and Technology of Fructans*, Boca Raton: CRC Press, p.120-139, 1993.
- ISEJIMA, E.M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Fructan variations in tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae): the influence of phenology. *Plant Cell Physiology*, v.34, p.723-727, 1993.
- JERMYN, M.A. A new method for determination of ketohexoses in presence of Indohexoses. *Nature*, v.177, p.38-39, 1956.

- KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, v.1, p.147-155, 2005.
- KRAMER, P.J. Drought, stress, and the origin of adaptations. In: TURNER, N.C.; KRAMER, P.J. (EDS.). *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. New York: Wiley, p.7-20, 1980.
- MANTOVANI, M.; RUSCHEL, A.R.; REIS, M.S.; PUCHALSKI, A.; NODARI, R.O. Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em uma formação secundária de floresta Atlântica. *Revista Árvore*, 27, p.451-458, 2003.
- MANTOVANI, W.; MARTINS, F.R. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu, Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, v.11, p.101-112, 1988.
- MCCREE, K.J.; FERNÁNDEZ, C.J. Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. *Crop Science*, v.29, p.353-360, 1989.
- MEDEIROS, A.T. 2002. *Estimativa da evapotranspiração de referência a partir da equação de Penman-Monteith, de medidas lisimétricas e de equações empíricas em Paraipaba, CE*. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo,
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylle acid for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v.11, p.426-428, 1959.
- MITTERMEIER, R.A.; MITERMEIER, C.G.; MYERS, N.; ROBLES GIL, P. *Hotspots: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. CEMEX, Conservation International, Agrupacion Sierra Madre, Ciudad México. 1999.
- MORELLATO, L.P.C.; TALORA, D.C.; TAKAHASI, A., BENCKE, C.C.; ROMERA, E.C.; ZIPPARO, V.B. Phenology of Atlantic rain forest trees: a comparative study. *Biotropica*, v.32, p.811-823, 2000.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B; KENT, J. Biodiversity Hotspots for conservation priorities. *Nature*, v.403, p.853-858, 2000.
- NAYYAR, H. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany*, v.50, p.253-264, 2003.
- NILSEN, E.T.; ORCCUT, D.M. *Physiology of plants under stress: abiotic factors*. New York: John Wiley & Sons, 1996.
- NOGUEIRA, R.J.M.C.; ALBUQUERQUE, M.B.; SILVA, E.C. Aspectos ecofisiológicos de tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E.L. WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T. *Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas*. Recife: UFPE, Imprensa Universitária, p.22-31, 2005.
- PAIVA, R.; OLIVEIRA, L.M. *Fisiologia e Produção Vegetal*. Lavras: UFLA, 104 p. 2006.

- PILON-SMITS, E.A.H., EBSKAMP, M.J.M., PAUL, M.J., JEUKEN, M.J.W., WEISBEEK, P.J.; SMEEKENS, S.C.M. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiology*, v.107, p.125-130, 1995.
- POLLOCK, C.J.; CAIRNS, A.J.; SIMS, I.M.; HOUSLEY, T.L. Fructans as reserve carbohydrates in crop plants. In: ZAMSKI, E.; SHAFFER, A.A. (Eds) *Photoassimilate distribution in plants and crops: source – sink relationships*. New York: A.A. Marcel Dekker Inc, p. 97-113, 1996.
- POLLOCK, C.J. Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. *New Phytologist*, v.104, p.1-24, 1986.
- POLLOCK, C.J.; CHATTERTON, N.J. Fructans. In: PREISS, J. (ed). *The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*. New York: Academic Press, p.109-140, 1988.
- POLLOCK, C.J.; JONES, T. Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses. *New Phytologist*, v.83, p.9-15, 1979.
- PONTIS, H.G. Fructans and cold stress. *Journal of Plant Physiology*, v.134, p.148-150, 1989.
- RACHID, M. Transpiração e sistemas subterrâneos de vegetação de verão dos campos cerrados de Emas. *Boletim da Faculdade de Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica*, v.5, p.1-140, 1947.
- RAPINI, A.; RIBEIRO, P.L.; LAMBERT, S.; PIRANI, J.R. A flora dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade*, v.4, p.16-24, 2008.
- RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANOS, S.M; ALMEIDA, S.P. (ed). *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, p.90-166, 1998.
- RITSEMA, T.; SMEEKENS, S. Engineering fructan metabolism in plants. *Journal of Plant Physiology*, v.160, p.811-820, 2003.
- RIZZO, J. A.; CENTENO, A. J.; SANTOS-LOUSA, J.; FILGUEIRAS, T. S. Levantamento de dados em áreas do cerrado e da floresta caducifolia tropical do planalto centro-oeste. In: FERRI, M.G. (coord.) III Simpósio sobre o cerrado, São Paulo: Edgard Blücher e EDUSP, p.103-109, 1971.
- SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. *Journal of Plant Physiology*, v.162, p.854-862, 2005.
- SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RODRIGUES, C.R.F.; LIMA, C.S.; VIÉGAS, R.A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v.44, p.437-445, 2009.

- SILVA, I.G.M.P. *Carboidratos solúveis de reserva em órgãos subterrâneos de espécies de Gomphrena (Amaranthaceae) de campos rupestres*. Monografia. Universidade Metodista de São Paulo. São Bernardo do Campo, 2001.
- SIQUEIRA, J.C. 1991. O gênero *Gomphrena* L. (Amaranthaceae) no Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Unicamp, Campinas.
- SOUZA, A.; MORAES, M.G.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. *Acta Botanica Brasileira*, v.19, p.81-90, 2005.
- SPOLEEN, W.G.; NELSON, C.J. Response of fructan to water deficit in growing leaves of tall fescue. *Plant Physiology*, v.106, p.329-336, 1994.
- SUBBARAO, G.V.; NAN, N.H.; CHAUHAN, Y.S.; CHRIS, J. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water stress. *Journal of Plant Physiology*, v.157, p.651-659, 2000.
- SZEGLETES, Z.; ERDEI, L.; TARI, I.; CSEUZ, L. Accumulation of osmoprotectants in wheat cultivars of different drought tolerance. *Cereal Research Communications*, v.28, p.403-410, 2000.
- TAGLIACOZZO, G.M.D. 1995. *Frutanos de Vernonia herbaceae (Vell) Rusby: Variações em função da temperatura e da disponibilidade de água*. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*, 5.ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2010.
- TERTULIANO, M.F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. *New Phytologist*, v.123, p.741-749, 1993.
- VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H.T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, v.9, p.1-7, 2006.
- VERSLUES, P.E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, v.45, p.523-539, 2006.
- VIEIRA, C.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Fructose-containing carbohydrates in the tuberous root of *Gomphrena macrocephala* St. Hil. (Amaranthaceae) and different phenological phase. *Plant Cell & Environment*, v.19, p.919-928, 1993.
- WALTER, B.M.T. 2006. *Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas*. Tese de doutorado. Universidade de Brasília, Brasília.
- WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist*, v.49, p.81-97, 1950.

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

ANEXO A – Tabelas de coeficientes de correlações encontradas entre variáveis bioquímicas e de relações hídricas em *Gomphrena marginata* e variáveis ambientais.

Tabela 3 – Coeficiente de correlações encontradas para o período total de estudo (agosto de 2010 a julho de 2011).

Período total (agosto de 2010 a julho de 2011)										
	AR	Frutose Total	Fruto-Oligo	Fruto-Poli	Prolina	CRA	U _{solo} (%)	Precipitação	UR	T°C
AR	1,00									
Frutose Total	-0,58	1,00								
Fruto-Oligo	-0,02	0,35	1,00							
Fruto-Poli	-0,51	0,94**	0,14	1,00						
Prolina	-0,01	-0,16	-0,09	-0,17	1,00					
CRA	0,34	-0,38	-0,52	-0,25	0,63	1,00				
U _{solo}	-0,02	-0,22	-0,22	-0,12	0,37	0,52	1,00			
Precipitação	0,23	-0,49	-0,26	-0,42	0,46	0,56	0,89*	1,00		
UR	-0,05	-0,06	-0,34	0,09	0,58	0,59	0,84*	0,78*	1,00	
T°C	0,08	-0,29	0,48	-0,41	-0,03	-0,19	0,37	0,46	-0,03	1,00

AR: açúcar redutor, Fruto:oligo: fruto-oligossacarídeos, fruto-poli: fruto-polissacarídeos, CRA: conteúdo relativo de água, UR: Umidade relativa, T°C: Temperatura Média. * p valor $\leq 0,05$, ** p valor $\leq 0,02$ e *** p valor $\leq 0,01$.

Tabela 4 – Coeficientes de correlações encontradas para o período seco (abril a julho de 2011 + agosto de 2010).

Período seco (abril a julho de 2011 + agosto de 2010)										
	AR	Frutose Total	Fruto-Oligo	Fruto-Poli	Prolina	CRA	U _{solo} (%)	Precipitação	UR	T°C
AR	1,00									
Frutose Total	0,26	1,00								
Fruto-Oligo	0,32	0,95**	1,00							
Fruto-Poli	0,24	0,99***	0,98***	1,00						
Prolina	-0,24	0,75*	0,60	0,72*	1,00					
CRA	-0,21	0,03	-0,16	-0,03	0,60	1,00				
U _{solo}	-0,57	0,06	0,22	0,14	-0,04	-0,56	1,00			
Precipitação	-0,45	-0,06	0,14	0,03	-0,25	-0,68	0,97**	1,00		
UR	-0,29	0,53	0,68	0,60	0,36	-0,35	0,83*	0,76*	1,00	
T°C	-0,50	-0,02	0,19	0,08	-0,13	-0,56	0,98***	0,98***	0,82*	1,00

AR: açúcar redutor, Fruto:oligo: fruto-oligossacarídeos, fruto-poli: fruto-polissacarídeos, CRA: conteúdo relativo de água, UR: Umidade relativa, T°C: Temperatura Média. * p valor $\leq 0,05$, ** p valor $\leq 0,02$ e *** p valor $\leq 0,01$.

Tabela 5 – Coeficientes de correlações encontradas para o período chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011).

Período chuvoso (setembro de 2010 a março de 2011)										
	AR	Frutose Total	Fruto-Oligo	Fruto-Poli	Prolina	CRA	U _{solo}	Precipitação	UR	T°C
AR	1,00									
Frutose Total	-0,81*	1,00								
Fruto-Oligo	-0,39	0,53	1,00							
Fruto-Poli	-0,75*	0,92**	0,26	1,00						
Prolina	0,05	-0,35	-0,47	-0,39	1,00					
CRA	0,51	-0,49	-0,81*	-0,34	0,63	1,00				
U _{solo}	0,02	-0,06	-0,81*	0,19	0,49	0,82*	1,00			
Precipitação	0,26	-0,37	-0,94**	-0,16	0,64	0,84*	0,87**	1,00		
UR	0,01	-0,18	-0,88**	0,02	0,63	0,78*	0,93**	0,95**	1,00	
T°C	-0,03	0,23	0,41	0,23	-0,16	-0,36	-0,34	-0,26	-0,43	1,00

AR: açúcar redutor, Fruto:oligo: fruto-oligossacarídeos, fruto-poli: fruto-polissacarídeos, CRA: conteúdo relativo de água, U_{solo}: Umidade do solo, UR: Umidade relativa, T°C: Temperatura Média. * p valor $\leq 0,05$, ** p valor $\leq 0,02$ e *** p valor $\leq 0,01$.