



**PACLOBUTRAZOL E RESTRIÇÃO HÍDRICA
NA VEGETAÇÃO E FLORESCIMENTO DA
OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)**

**LAVRAS - MG
2010**

DILI LUIZA DE OLIVEIRA

**PACLOBUTRAZOL E RESTRIÇÃO HÍDRICA NA VEGETAÇÃO E
FLORESCIMENTO DA OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de
concentração em Produção Vegetal, para a obtenção
do título de Doutor.

Orientador

Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun

**LAVRAS - MG
2010**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Oliveira, Dili Luiza de.

Paclobutrazol e restrição hídrica na vegetação e florescimento da
oliveira (*Olea europaea* L.) / Dili Luiza de Oliveira. – Lavras :
UFLA, 2010.

122 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Nilton Nagib Jorge Chalfun.

Bibliografia.

1. Anatomia foliar. 2. Indução floral. 3. Fitorregulador. 4. Déficit
hídrico. 5. Ecofisiologia. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 634.63

DILI LUIZA DE OLIVEIRA

**PACLOBUTRAZOL E RESTRIÇÃO HÍDRICA NA VEGETAÇÃO E
FLORESCIMENTO DA OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de
concentração em Produção Vegetal, para a obtenção
do título de Doutor.

APROVADA em 27 agosto de 2010.

Dr. Rafael Pio	UFLA
Dr ^a . Adriana Tiemi Nakamura	UFLA
Dr ^a . Ester Alice Ferreira	EPAMIG
Dr. Ângelo Albérico Alvarenga	EPAMIG

Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun - UFLA
Orientador

LAVRAS – MG

2010

*Ao exemplo de profissional, Adelson Francisco de Oliveira, meu pai,
A minha mãezinha, Maria, meu irmão Deive e meu amor Diogo, pelo incentivo e
apoio.*

**DEDICO
AMO MUITO TODOS VOCÊS!**

AGRADECIMENTOS

A Deus sempre, pela força espiritual.

Ao meu pai, Adelson Francisco de Oliveira, meu exemplo! Parte fundamental deste trabalho. A minha querida mãe, suporte e base da minha família. A meu irmão, Deive Ciro de Oliveira, que nas horas mais difíceis sempre esteve presente.

Ao meu Amor, Diogo, pela paciência nas horas em que estive ausente.

A Universidade Federal de Lavras – UFLA, que proporcionou a chance de ingressar no curso de pós graduação, doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento de projetos e por possibilitar sua realização.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), por ceder-me toda a estrutura.

Ao professor Nilton Nagib Jorge Chalfun, pelo apoio, amizade e orientação.

Aos professores do setor de fruticultura: Rafael Pio, José Darlan Ramos, Antonio Decarlos e ao técnico administrativo Paulo César.

A professora Maria do Céu Monteiro da Cruz, pela enorme ajuda na condução de todas as partes deste trabalho que além da disposição em ajudar foi sempre a “AMIGA” presente.

Aos professores Evaristo Mauro de Castro e Adriana Tiemi Nakamura do departamento de biologia da UFLA que possibilitaram análises anatômicas deste trabalho.

Aos pesquisadores Ângelo Albérico Alvarenga, João Vieira Neto e Emerson Dias, pela colaboração no decorrer deste. Ao gerente da Fazenda Experimental da EPAMIG de Maria da Fé, Nilton Caetano de Oliveira.

Aos funcionários da Epamig de Maria da Fé: Marina, Luiz Fernando, José Eduardo, pela atenção e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

A mestranda Paula Nogueira Curi, que auxiliou nas avaliações de campo.

As alunas de iniciação científica, Tatiele e Gabriella, que auxiliaram em análises anatômicas e não mediram esforços para ajudar.

O meu muito Obrigada!

E um forte abraço a todos!

RESUMO GERAL

O objetivo geral desse trabalho foi comparar as mudanças anatômicas e ecofisiológicas em mudas de oliveira em resposta à aplicação de déficit hídrico e paclobutrazol na indução floral de plantas de oliveira. Foram realizados três experimentos. O primeiro em casa de vegetação foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 sendo (4 períodos de déficit hídrico e duas cultivares de oliveira, 'Barnea' e 'Grappolo 541'). Avaliou-se potencial hídrico foliar, altura e diâmetro de plantas e caracterização anatômica. Os menores valores de potencial hídrico foram observados na cultivar Barnea, sendo essa a que cresce menos. As plantas da cultivar Grappolo 541 apresentam características anatômicas que favorecem melhor adaptação aos déficit hídrico. No segundo experimento, realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4 (sendo 4 doses de PBZ – 0; 0,5; 1,0 e 1,5 mL planta e 4 períodos de regimes hídricos – sem déficit de água, déficit de água de maio a junho, de junho a julho; e de julho a agosto). As características avaliadas foram potencial hídrico foliar, teor relativo de clorofila e características anatômicas. O potencial hídrico foliar das plantas submetidas ao mesmo período de déficit hídrico é menor em épocas que ocorrem maiores temperaturas. O aumento das doses de PBZ diminui os valores de potencial hídrico foliar, bem como os valores de comprimento de entrenós. Plantas submetidas a déficit hídrico de julho a agosto apresentam maior número de brotações. O teor de clorofila diminui em plantas submetidas a déficit hídrico e aumenta em plantas tratadas com PBZ. Quanto à caracterização anatômica as plantas tratadas com PBZ e déficit hídrico respondem com modificações em sua estrutura interna. O terceiro experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado constituído de cinco doses de PBZ. Foram avaliados potencial hídrico foliar, comprimento de entrenós e número de ramos, carboidratos e caracterização anatômica. O potencial hídrico foliar de plantas de oliveira não variou em função das doses de PBZ. A aplicação do PBZ reduziu o comprimento de entrenós e proporcionou aumento no número de ramos florais. A aplicação de PBZ reduz a densidade estomática e aumenta o diâmetro dos estômatos.

Palavras - chave: Fitorregulador. Ecofisiologia. Anatomia. Indução floral.

GENERAL ABSTRACT

The general aim of this work was comparing the anatomical and ecophysiological changes on olive seedlings in response to the application of water deficit and paclobutrazol on flower induction of olive plants. Three experiments were conducted. The first in a greenhouse was conducted in a completely randomized factorial scheme 4 x 2, namely (4 periods of water deficit and two olive cultivars, 'Barnea' and 'Grappolo 541'). Leaf water potential, height and plant's diameter and anatomical characterization were evaluated. The lowest values of water potential were found on cultivar Barnea, this being the one which grows the least. The plants of cultivar Grappolo 541 present anatomical characteristics which favored better adaptation to water deficit. In the second experiment conducted in completely randomized design in factorial scheme 4 x 4 (that is, 4 doses of PBZ – 0; 0.5; 1.0 and 1.5 mL plant and 4 periods of water regimes – no water deficit, water deficit from May to June, from June to July and from July to August). The evaluated characteristics were leaf water potential, relative chlorophyll content and anatomical characteristics. The leaf water potential of the plants submitted to the same period of water deficit is poorer in times which higher temperatures occur. The increased doses of PBZ decrease the leaf water potential values as well as the values of internode length. Plants submitted to water deficit from July to August present greater number of shoots. Chlorophyll content decreases in plants submitted to water deficit and increases in PBZ-treated plants. As to the anatomical characterization, the PBZ-treated plants and with water deficit responded with modifications in their internal structure. The third experiment was undertaken in completely randomized design constituted of five doses of PBZ. Leaf water potential, internode length and number of racemes, carbohydrates and anatomical characterization were evaluated. The leaf water potential of olive plants has not ranged as result from the doses of PBZ. Application of PBZ reduced the internode length and provided an increase in the number of floral racemes. Application of PBZ reduces the stomatal density and increases the diameter of stomata.

Key words: Plant-regulator. Eco physiology. Anatomy. Flower induction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Secções paradérmicas de folhas de duas cultivares de oliveira em diferentes condições hídricas. A – D = cultivar Barnea, E – H = cultivar Grappolo 541. A e E = sem restrição hídrica; B e F = 30 dias de restrição hídrica; C e G = 60 dias de restrição hídrica; D e H = 90 dias de restrição hídrica. Barras= 50 µm. Legenda figura 12 - C: btr- base tricoma, cc- células epidérmicas, es- estômatos. 56
- Figura 2 Secções transversais de folhas de duas cultivares de oliveira em diferentes condições hídricas. A–D=cultivar Barnea, E–H = cultivar Grappolo 541. A e E= sem restrição de água; B e F=30 dias de restrição hídrica; C e G=60 dias de restrição hídrica; D e H=90 dias de restrição hídrica. Barras = 100 µm. Legenda figura 13 - A: c- cutícula, ead- epiderme adaxial, eab- epiderme abaxial, pe- parênquima esponjoso, pp- parênquima paliçádico, x- xilema, fl- floema, tr- tricoma. 57
- Figura 3 Secções paradérmicas de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B - Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Legenda: btr = base do tricoma; es = estômato; ce = células epidérmicas. Barras = 50 µm. 82

- Figura 4 Secções paradérmicas de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B – Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Legenda: es = estômato; ce = células epidérmicas; btr = base do tricoma. Barras = 50 µm. 86
- Figura 5 Secções transversais de mesofilo de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B - Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Barras = 50 µm. 88
- Figura 6 Secções transversais de mesofilo de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B - Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Barras = 50 µm. 90
- Figura 7 Secções paradérmicas de folhas de oliveira cv. Arbequina sob aplicação de PBZ. A – Plantas sem aplicação de PBZ; B – 2,0 mL de PBZ por planta; C – 4,0 mL de PBZ por planta; D – 8,0 mL de PBZ por planta; E – 12,0 mL de PBZ por planta; Barras = 50 µm. 112

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Potencial hídrico do solo, na profundidade 20 cm, nos vasos com oliveiras submetidas à restrição hídrica, em função do período de avaliação.....	37
Gráfico 2	Médias de temperaturas, mínimas, máximas e de umidade relativa, registradas na casa-de-vegetação no período de maio de 2009 a agosto de 2009.....	37
Gráfico 3	Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira sem restrição de água, 30 dias com restrição de água, 60 dias com restrição de água e 90 dias com restrição de água.....	42
Gráfico 4	Avaliação do número total de brotações vegetativas em oliveiras submetidas a diferentes períodos de restrição hídrica. ...	46
Gráfico 5	Crescimento em altura em oliveiras submetidas a diferentes períodos de restrição hídrica.....	47
Gráfico 6	Diâmetro polar e equatorial de estômatos de folhas de oliveiras submetidas a períodos de restrição hídrica.....	50
Gráfico 7	Funcionalidade de estômatos e índice estomático de folhas de oliveiras submetidas a períodos de restrição hídrica.....	51
Gráfico 8	Espessura do parênquima esponjoso de duas cultivares de oliveira submetidas a períodos de restrição hídrica.....	53
Gráfico 9	Número de vasos do floema de duas cultivares de oliveira submetida a períodos de restrição hídrica.....	54
Gráfico 10	Índice de vulnerabilidade de Carlquist de duas cultivares de oliveira submetidas a períodos de restrição hídrica.....	55
Gráfico 11	Espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura da epiderme abaxial (EAB) e espessura da cutícula (EC) de folhas de oliveiras submetidas a períodos de restrição hídrica.....	56

Gráfico 12	Potencial hídrico do solo, na profundidade 20 cm, nos vasos com oliveiras submetidas à restrição hídrica, e aplicação de PBZ, em função do período de avaliação.....	67
Gráfico 13	Médias mensais de temperatura, registradas em Casa de Vegetação no período de Maio a Outubro de 2009.....	68
Gráfico 14	Médias mensais de umidade relativa do ar, registradas em Casa de Vegetação no período de Maio a Outubro de 2009	68
Gráfico 15	Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ sem restrição de água.	72
Gráfico 16	Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ com restrição de água no início de Maio.....	73
Gráfico 17	Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ com restrição de água no início de Junho.	74
Gráfico 18	Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ com restrição de água no início de Julho.	75
Gráfico 19	Teor de clorofila (mg/100g) de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de paclobutrazol obtidas através de análise de laboratório.....	78
Gráfico 20	Comprimento de entrenós de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes concentrações de paclobutrazol.....	80
Gráfico 21	Densidade estomática em folhas de plantas de oliveira submetidas a déficit hídrico em função das doses de paclobutrazol.....	83

Gráfico 22	Índice estomático de folhas de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a déficit hídrico em função das doses de paclobutrazol.	84
Gráfico 23	Médias de temperaturas, mínimas, máximas e precipitação, registradas em Maria da Fé, MG no período de janeiro de 2009 a setembro de 2009.....	101
Gráfico 24	Potencial hídrico foliar em oliveira da cv. Arbequina submetidas à aplicação de PBZ.....	104
Gráfico 25	Comprimento de entrenós em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação de paclobutrazol.....	105
Gráfico 26	Número de rácimos florais em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação de paclobutrazol.....	106
Gráfico 27	Teores de açúcares totais em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação paclobutrazol.	107
Gráfico 28	Teores de açúcares redutores em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação de paclobutrazol.....	108
Gráfico 29	Teores de açúcares não redutores em oliveira cv. Arbequina submetidas à aplicação de paclobutrazol.....	108
Gráfico 30	Densidade estomática em folhas de oliveiras submetidas à aplicação de paclobutrazol.	110
Gráfico 31	Diâmetro equatorial de estômatos em folhas de oliveiras submetidas à aplicação de PBZ.....	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Médias de potencial hídrico foliar (Ψ hídrico foliar) de duas cultivares de plantas de oliveira submetidas ao déficit hídrico.	41
Tabela 2	Valores de potencial hídrico foliar e dias após a volta da irrigação de plantas de oliveira submetidas à restrição hídrica.	43
Tabela 3	Altura e diâmetro em plantas de duas cultivares de oliveira submetida à restrição hídrica.	45
Tabela 4	Modificações nas características estomáticas (μm) de oliveira em função de cultivares e períodos de restrição hídrica.	48
Tabela 5	Modificações nos tecidos foliares de oliveira, cultivares, ‘Barnea’ e ‘Grappolo 541’, (μm).	52
Tabela 6	Modificações nos tecidos foliares de oliveira nas cultivares Barnea (BAR) e ‘Grappolo 541’ (GRAP) submetidas à restrição hídrica.	53
Tabela 7	Médias de potencial hídrico foliar (Ψ hídrico foliar) em diferentes épocas de avaliação, de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas ao déficit hídrico com início em diferentes épocas.	76
Tabela 8	Teor de clorofila em folhas de plantas de oliveira irrigadas e submetidas a déficit hídrico.	77
Tabela 9	Número total de brotações vegetativas em plantas de oliveiras irrigadas e submetidas a diferentes períodos de déficit hídrico.	79
Tabela 10	Diâmetro equatorial de estômatos de folhas de plantas de oliveira irrigadas e com déficit hídrico.	81
Tabela 11	Densidade estomática (DE) em folhas de plantas de oliveira irrigadas e submetidas ao déficit hídrico.	82

Tabela 12	Densidade estomática em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e irrigadas.....	84
Tabela 13	Índice estomático (IE) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e irrigadas.....	85
Tabela 14	Espessura da epiderme adaxial (EAD) e espessura de parênquima paliçádico (EPP) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico.....	87
Tabela 15	Espessura da epiderme abaxial (EAB) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e diferentes doses de PBZ.	87
Tabela 16	Espessura da epiderme abaxial (EAB) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico.....	88
Tabela 17	Espessura da epiderme adaxial (EAD) abaxial de folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e diferentes doses de PBZ.	89

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1	Fatores que influenciam no crescimento vegetativo e reprodutivo	21
2.2	Estresse hídrico	21
2.3	Aplicação de fitorreguladores	23
2.4	Alterações anatômicas e fisiológicas em plantas	24
	REFERÊNCIAS	27
	CAPÍTULO 1: Mudanças anatômicas e ecofisiológica em mudas de oliveira submetidas ao déficit hídrico	32
1	INTRODUÇÃO	35
2	MATERIAL E MÉTODOS	36
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1	Potencial hídrico Foliar	41
3.2	Número de brotações, altura e diâmetro	45
3.3	Características anatômicas	47
4	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	59
	CAPÍTULO 2: Déficit hídrico e paclobutrazol no desenvolvimento de mudas de oliveira	62
1	INTRODUÇÃO	65
2	MATERIAL E MÉTODOS	66
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.1	Potencial hídrico Foliar	71
3.2	Teor de clorofila	77
3.3	Número de Brotações e comprimento de entrenós	79
3.4	Características anatômicas	80

3.4.1	Coleta realizada em agosto – Cortes Paradérmicos.....	80
3.4.2	Coleta realizada em setembro – Cortes Paradérmicos.....	82
3.4.3	Coleta realizada em agosto – Cortes transversais.....	86
3.4.4	Coleta realizada em setembro – Cortes transversais.....	88
4	CONCLUSÕES.....	91
	REFERÊNCIAS.....	92
	CAPÍTULO 3: Desenvolvimento reprodutivo e caracterização anatômica em oliveira submetida à aplicação de paclobutrazol.....	95
1	INTRODUÇÃO.....	98
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	100
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
3.1	Potencial hídrico Foliar.....	104
3.2	Comprimento de entrenós e número de rácimos.....	104
3.3	Carboidratos.....	106
3.4	Características anatômicas.....	109
4	CONCLUSÕES.....	113
	REFERÊNCIAS.....	114
	ANEXOS.....	117

1 INTRODUÇÃO GERAL

Azeitonas e azeite de oliva são produtos constantes na mesa do povo brasileiro por serem alimentos de valor nutritivo e altamente benéfico à saúde humana. Esta demanda associada ao fato de não existirem plantios comerciais expressivos de oliveira no Brasil, faz com que ocupe o terceiro lugar como maior importador de azeitonas e o quinto de azeite de oliva do mundo, somando 74 mil toneladas, principalmente de países como Argentina, Peru e Chile.

Parte do que se consome no Brasil também é importado da Espanha e de Portugal. Estima-se que em 2006 foram gastos 700 milhões de reais com importações, sendo 300 milhões com azeitonas e 400 milhões com azeite de oliva (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2007).

Investimentos em pesquisas e desenvolvimento desta cultura podem permitir a ampliação de sua exploração econômica no país, significando menores dispêndios com importações e conseqüentemente, mais opções de renda para o produtor rural e geração de mais empregos.

Informações sobre a fisiologia e o comportamento morfoanatômico da oliveira são fundamentais para o estabelecimento do manejo racional da cultura em outras regiões, como nas de menor ocorrência de frio, a partir de seleção de cultivares com menor exigência em frio e a adaptação de tecnologias para sua produção como uso de fitorreguladores e a aplicação de estresse hídrico, permitindo a implantação de novas áreas de cultivo.

O estresse hídrico consiste na redução gradual da quantidade de água da irrigação. Este desencadeia reações bioquímicas na planta, que causam elevações do nível de determinados hormônios, via alterações metabólicas, e, portanto, ocorre uma mudança fisiológica que pode ter como consequência a iniciação floral em determinadas espécies (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Sob a influência dos fitohormônios sintetizados nas folhas e raízes em resposta ao déficit hídrico, ocorrem mudanças na alocação de fotoassimilados, na alteração da razão de crescimento da parte aérea, de raízes e no desenvolvimento de aspectos morfogenéticos característicos, que, geralmente, proporcionam o início do processo reprodutivo prematuramente.

Outra maneira de conseguir a floração precoce ou maior intensificação da floração em espécies lenhosas é por meio da aplicação de fitorreguladores sintéticos, que atuam de forma diferenciada nas espécies, conforme as concentrações utilizadas e métodos de aplicação do fitorregulador.

Os fitorreguladores são substâncias químicas sintéticas utilizadas para alterar as características fisiológicas ou morfológicas das plantas, que semelhantes aos fitohormônios produzidos endogenamente pelas plantas.

A aplicação de fitorreguladores é realizada para modificar o desenvolvimento da planta mediante a interferência com a biossíntese, o metabolismo e, ou, a translocação de fitohormônios na planta. Eles podem, também, substituir ou suplementar os fitohormônios da planta quando seus níveis endógenos estão abaixo daqueles necessários para alterar o sentido de desenvolvimento da planta.

A compreensão dos fatores que intervêm no comportamento anatômico e fisiológico das plantas pode ser útil para a aplicação de práticas de manejo adequadas para induzir o florescimento das plantas. Do ponto de vista biológico, é um problema extremamente complexo, ainda com muitas questões a serem elucidadas.

O florescimento é a primeira etapa do processo de frutificação e, em certas ocasiões, determina de modo decisivo a quantidade e a qualidade da colheita. É possível obter-se melhoria na qualidade da produção mediante a manipulação do florescimento, corrigindo-se ou pelo menos, amenizando-se algumas situações que apresentam no cultivo, tais como pequena produção de

frutos, alternância de colheitas produção de frutos em florações extemporâneas, e o seu tamanho pequeno ou excessivo.

Assim, o trabalho teve por objetivo geral comparar as mudanças anatômicas e ecofisiológicas em mudas de oliveira em resposta à aplicação de déficit hídrico e paclobutrazol para na indução floral de plantas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fatores que influenciam no crescimento vegetativo e reprodutivo

O conhecimento dos mecanismos que regulam o crescimento vegetativo e a indução floral em plantas frutíferas é fundamental para proporcionar melhorias no sistema de produção. Entre os aspectos relacionados à indução floral estão a água, fitohormônios e o estado nutricional (HALEVY, 1990).

Outros fatores, como temperatura, luz e variedades podem influenciar nos mecanismos biológicos do florescimento da oliveira.

Há ainda diversos fatores relacionados à floração da oliveira a elucidar. A realização de pesquisas em condições de campo, onde vários e identificáveis fatores bióticos e abióticos interagem, dificultando a interpretação dos resultados se torna muito mais complexa.

O uso de técnicas alternativas, como a indução floral, permite a realização de pesquisas com controle mais eficiente dos fatores que influenciam o florescimento, mas os resultados podem, também, não representar a realidade.

Algumas destas têm sido utilizadas em muitas frutíferas, e possibilitado a manipulação do crescimento vegetativo e da floração em algumas espécies.

2.2 Estresse hídrico

A compreensão e a manipulação das relações hídricas na planta e a tolerância ao estresse hídrico podem melhorar significativamente a produtividade vegetal e a qualidade ambiental.

Diferentes espécies têm desenvolvido fascinantes mecanismos para enfrentar a baixa quantidade de água no substrato, evitando-a ou tolerando-a (LAMBERS; CHAPIN; PONS, 1998), através de modificações na morfologia externa, na histologia, na citologia e na fisiologia da planta (DICKISON, 2000).

Existem várias respostas que ainda não estão entendidas em relação à floração (BARRANCO; MILONA; RALLO, 1994), que é a base para a adaptação de cultivares para as diferentes regiões de cultivo.

O estresse hídrico pode ser usado para paralisar o crescimento vegetativo de determinadas espécies, proporcionando maior acúmulo do promotor floral, conforme a maturação do ramo (NÚNES-ELISEA; DAVENPORT, 1991).

A oliveira é uma espécie tipicamente lenhosa cultivada na maioria dos países mediterrâneos, onde as plantas muitas vezes são expostas a longos períodos de déficit hídrico durante a seca (CONNOR; FERERES, 2005).

Entre as espécies frutíferas, a oliveira é capaz de tolerar vários fatores ambientais adversos, incluindo a baixa disponibilidade de água no solo (BACELAR, 2006), alta salinidade (TATTINI et al., 1996), e altos níveis de irradiância (SOFO et al., 2004).

Para outras espécies, a exemplo dos *Citrus* sp., o estresse hídrico é considerado o principal fator de indução floral. Em limoeiros, o estresse moderado estabelecido pelo período de 58 dias foi efetivo para a indução floral (KANDUSER, 1997). Em plantas de tangerineira ‘Ponkan’ e de limeira ácida ‘Tahiti’, o estresse hídrico reduziu o potencial hídrico foliar e favoreceu o aumento do florescimento (CRUZ et al., 2006). Para estas espécies, a indução floral através do estresse hídrico parece também estar relacionada com a redução do crescimento do sistema radicular, uma vez que esta redução pode afetar a síntese dos fitorreguladores, alterando o balanço hormonal da planta (JACKSON, 1993).

A paralisação e/ou redução do sistema radicular causado pelo estresse hídrico favorece o florescimento dos citros devido à baixa síntese de giberelinas, sendo que estes são os únicos fitorreguladores que parecem ter influência direta sobre o florescimento dos citros (KRAJEWSKI; RABE, 1995).

Em espécies lenhosas, as giberelinas atuam reduzindo a floração. Portanto a aplicação do estresse hídrico poderia estimular a brotação de ramos floríferos, devido à redução na síntese desses fitorreguladores (MONSELISE, 1985).

2.3 Aplicação de fitorreguladores

A utilização de triazóis, retardantes de crescimento, antagonistas de síntese de giberelinas, na indução de florescimento em plantas tem despertado grande interesse. Os triazóis destacam-se como o principal grupo de compostos desenvolvidos para o controle de fungos e por apresentarem propriedades reguladoras do crescimento vegetal. Dos vários triazóis existentes, o paclobutrazol (PBZ) é um dos produtos mais efetivos na redução do crescimento de plantas angiospermas (FLETCHER et al., 2000).

A aplicação de PBZ em cultivares Bladi e Mission de oliveira com três anos aumentou o conteúdo de água e o teor de prolina nas folhas que indica a aclimação da espécie ao estresse hídrico (YAZDANI; ARZANI; ARJI, 2007).

Em outras espécies frutíferas os resultados obtidos têm demonstrado aumento da produtividade em função do aumento de número de flores por planta quando tratadas com PBZ, como em lima Persa (DELGADO; RODRIGUEZ; CASAMAYOR, 1995), em Cunqueate ‘Meiwa’ (IWAHORI; TOMINAGA, 1986), e mangueira associado a aplicações de KNO_3 em concentrações que variam de 2 a 6% (ALBUQUERQUE et al., 2007; BARROS, 1996; SANTANA et al., 1997).

A aplicação do PBZ também reduziu o crescimento vegetativo da mangueira na cultivar Haden e antecipou a floração. Além disso, incrementou o número e o peso total dos frutos por planta (FERRARI; SERGENT, 1996).

Há evidências de que o paclobutrazol atua também em outras características das plantas cítricas. Okuda, Kihara e Iwagaki (1996) observaram redução no número de folhas das brotações; Delgado, Rodriguez e Casamayor (1995) constataram aumento nos teores de clorofila da folhas.

Em geral, o uso de produtos inibidores da biossíntese da giberelina, o paclobutrazol é o que tem proporcionado aumento na produtividade de várias espécies lenhosas e culturas herbáceas, a exemplo do morangueiro (DEYTON; SAMS; CUMMINS, 1991; NISHIZAWA, 1993).

2.4 Alterações anatômicas e fisiológicas em plantas

A deficiência no suprimento hídrico pode conduzir ao fechamento estomático e ao movimento de folhas, mecanismos estes que evitam perda de água (OSMOND et al., 1987).

Sob estresse hídrico as plantas também podem alterar a espessura, a área foliar e características anatômicas (LAMBERS; CHAPIN; PONS, 1998), assim como, a taxa de transpiração, a condutância estomática e a taxa fotossintética (CALBO; MORAES, 2000).

A baixa quantidade de água no substrato pode influenciar a expansão celular, a regulação estomática, a fotossíntese, a respiração, a translocação de substâncias e a síntese da parede celular, levando à redução da taxa de crescimento e a mudanças no padrão de translocação de matéria seca (STEINBERG; MILLER; MCFARLAND, 1990).

Sob deficiência hídrica, as plantas podem apresentar acúmulo de prolina no vacúolo celular (BOHNERT; NELSON; JENSEN, 1995; PANDEY; AGARWALL, 1998), o que aumenta a capacidade das células de extrair água do solo (BOYER, 1996). O acúmulo de prolina nas plantas, sob estresse hídrico ou salino, pode ter função na regulação osmótica (XU et al., 2002), proteção da

integridade celular (SHEVYAKOVA, 1984) ou, ainda, participar na constituição de um estoque de nitrogênio e carbono que poderia ser utilizado depois do período de estresse (TAYLOR, 1996).

As plantas de oliveira, a fim de poupar água, sofrem significativas alterações anatômicas, especialmente nas suas folhas, que são os principais órgãos de remoção de água. Tais alterações incluem principalmente um aumento da espessura cuticular e aumento de densidade de estômatos, além de aumento de células epidérmicas e células do mesófilo (CHARTZOULAKIS et al., 1999). A oliveira apresenta em toda a sua superfície foliar numerosos tricomas não-glandulares, que quando cultivadas sob condições de déficit hídrico apresentaram aumento significativo do número destes tricomas em ambas as superfícies foliares.

Alterações nas características anatômicas foliares são identificadas para alterar a difusão dos componentes de condutância de CO₂ das cavidades subestomática para os sítios de carboxilação e contribuir assim para a manutenção das taxas fotossintéticas, apesar da baixa condutância estomática (CHARTZOULAKIS et al., 1999).

O mesófilo também pode sofrer alterações em função do suprimento hídrico. Geralmente, em função da deficiência hídrica ocorre uma redução na espessura do mesófilo e da lâmina foliar, que pode ser decorrente da redução no número de estratos celulares ou de uma redução dos espaços intercelulares (CHARTZOULAKIS et al., 2002). Em ambientes alagados o parênquima esponjoso apresenta amplos espaços intercelulares, como reserva de ar, enquanto em ambientes xéricos apresenta-se mais compactado, com reduzidos espaços intercelulares (DICKISON, 2000), ou até mesmo ausentes (SILVA; ACEVEDO; SILVA, 2001).

O estresse hídrico em oliveira resultou em diminuição no tamanho das células epidérmicas e mesófilo com aumento paralelo na densidade celular

(BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002). As alterações anatômicas podem variar até mesmo entre as espécies. Respostas mais expressivas foram observadas em cultivares de oliveira, ‘Mastoidis’, onde os estômatos se tornaram mais numerosos e menores em relação à ‘Koroneiki’.

Ahmed, Ben-Rouina e Boukhriss (2007) avaliando os efeitos do déficit hídrico sobre a cultivar Chemlali de oliveira em condições de campos áridos na Tunísia verificaram que o déficit hídrico durante o verão levou à redução do conteúdo de água foliar e dos parâmetros de trocas gasosas (condutância estomática e a transpiração).

Nas condições áridas da Argentina a suspensão da irrigação em oliveira causou redução no potencial hídrico foliar, alterações nos parâmetros que incluem a transpiração, condutância foliar e eficiência quântica do fotossistema II após 40 dias sem irrigação, havendo recuperação das plantas depois de uma de irrigação (ROUSSEAU; BENEDETTI; SEARLES, 2008).

As modificações anatômicas e ecofisiológicas também são alteradas perante a aplicação de fitorreguladores. Segundo Kishorekumar et al. (2006) em folhas de batatas submetidas a aplicação de PBZ há variações anatômicas incluindo o aumento no número de estômatos e comprimento da abertura estomática. Em plantas de feijão sob a aplicação de triazóis foram relatados o fechamento estomático observado por Fletcher e Hofstra (1988).

REFERÊNCIAS

- AHMED, B.; BEN-ROUINA, B. C.; BOUKHRISS, M. Effects of water deficit on olive trees cv. Chemlali under field conditions in arid region in Tunisia. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 113, n. 3, p. 267-277, July 2007.
- ALBUQUERQUE, J. A. S. et al. Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. **Plant and Soil**, The Hague, v. 292, n. 1/2, p. 1-12, Feb. 2007.
- BARRANCO, D.; MILONA, G.; RALLO, L. Épocas de floración de cultivares de olivo en Córdoba. **Investigación Agraria Producción y Protección Vegetales**, Lima, v. 9, n. 2, p. 213-220, 1994.
- BARROS, P. G. Efeito do nitrato de potássio na floração e frutificação de mangueira cv. Tommy Atkins no sudeste da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 188-194, ago. 1996.
- BOHNERT, H. J.; NELSON, D. E.; JENSEN, R. G. Adaptations to environmental stresses. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 7, p. 1099-1111, July 1995.
- BOSABALIDIS, A. M.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. **Plant Science**, Shannon, v. 163, n. 2, p. 375-379, Aug. 2002.
- BOYER, J. S. Advances in drought tolerance in plants. **Advance in Agronomy**, San Diego, v. 56, n. 8, p. 187-217, Mar. 1996.
- CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 225-230, set. 2000.
- CHARTZOULAKIS, K. et al. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 95, n. 1/2, p. 39-50, Feb. 2002.
- CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; BOSABALIDIS, A. M. Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 42, n. 23, p. 113-120, Sept. 1999.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Importações e exportações brasileiras**. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/download/indicadores/0206-balanca-importacao.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2007.

CONNOR, D. J.; FERERES, E. The physiology of adaptation and yield expression in olive. **Horticultural Reviews**, New York, v. 31, n. 56, p. 157-231, Nov. 2005.

CRUZ, M. C. M. et al. Florescimento da tangerineira 'Ponkan' e da limeira ácida 'Tahiti' submetidas ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 1291-1296, 2006.

DELGADO, R.; RODRIGUEZ, R.; CASAMAYOR, R. Empleo de paclobutrazol em plantas de lima persa sobre naranjo trifoliado 'Rubdoux' a altas densidades. **Agrícola Vergel**, Buenos Aires, v. 179, n. 3, p. 121-125, July 1995.

DEYTON, D. E.; SAMS, C. E.; CUMMINS, J. C. Strawberry growth and photosynthetic responses to paclobutrazol. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1178-1180, Sept. 1991.

DICKISON, W. C. **Integrative plant anatomy**. New York: Academic, 2000. 533 p.

FERRARI, F. D.; SERGENT, E. A. Promocion de la floración y frutificación del mango cv. Haden, com Paclobutrazol. **Revista Faculdade de Agronomia**, Maracay, v. 22, n. 1/2, p. 1-8, 1996.

FLETCHER, R. A. et al. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. **Horticultural Reviews**, New York, v. 24, n. 4, p. 55-138, Jan. 2000.

FLETCHER, R. A.; HOFSTRA, G. Triazoles as potential plant protectants. In: BERG, D.; PLEMPLE, M. (Ed.). **Sterol biosynthesis inhibitors**. Cambridge: E. Horwood, 1988. p. 321-331.

HALEVY, A. H. Recent advances in control of flowering in horticultural crops. **Advances in Horticultural Science**, London, v. 37, n. 1, p. 39-43, June 1990.

IWAHORI, S.; TOMINAGA, S. Increase in first-flush flowering of 'Meiwa' kumquat, *Fortunella crassifolia* Swingle, trees by paclobutrazol. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 347-353, May 1986.

JACKSON, M. B. Are plants hormones involved in root to shoot communication. In: CALLOW, A. J. (Ed.). **Advanced in botanical research**. New York: Academic, 1993. p. 103-187.

KANDUSER, M. **Control ambiental y regulación endógena de la inducción floral em mandarino Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.)**. 1997. 199 f. Tesis (Doctoral en Biología Vegetal) - Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 1997.

KISHOREKUMAR, A. et al. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on the foliage characteristics of Chinese potato (*Solenostemon rotundifolius* Poir., J.K. Morton). **Acta Biologica Szegediensis**, Szeged, v. 50, n. 3/4, p. 127-129, 2006.

KRAJEWSKI, A. J.; RABE, E. Citrus flowering: a critical evaluation. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 70, n. 3, p. 357-374, 1995.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant physiological ecology**. New York: Springer-Verlag, 1998. 540 p.

MONSELISE, S. P. Citrus and related species. In: HALEVY, A. H. (Ed.). **CRC handbook of flowering**. Boca Raton: CRC, 1985. v. 2, p. 275-294.

NISHIZAWA, T. Growth and yeild during the first year growing period as affected by paclobutrazol on greenhouse strawberry production. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 329, n. 72, p. 51-53, Jan. 1993.

NÚNES-ELISEA, R.; DAVENPORT, T. L. Flowering of 'Keitt' mango response to deblossoming and gibberellic acid. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Winter Haven, v. 104, n. 1/2, p. 41-43, Apr. 1991.

OKUDA, H.; KIHARA, T.; IWAGAKI, I. Effects of paclobutrazol application to soil at the begining of maturation on sprouting, shoot growth, flowering and carbohydrate contents in roots and leaves of Satsuma mandarine. **Journal of Horticultural Science**, London, v. 71, n. 1, p. 785-789, Mar. 1996.

OSMOND, C. B. et al. Stress physiology and the distribution of plants. **BioScience**, Washington, v. 37, n. 1, p. 38-48, Jan. 1987.

PANDEY, R.; AGARWAL, R. M. Water stress-induced changes in proline contents and nitrate reductase activity in rice under light and dark conditions. **Physiology and Molecular Biology Plants**, The Hague, v. 4, n. 1, p. 53-57, Jan. 1998.

ROUSSEAUX, M. S.; BENEDETTI, J. P.; SEARLES, P. S. Leaf-level responses of olive trees (*Olea europaea*) to the suspension of irrigation during the winter in arid region of Argentina. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 115, n. 2, p. 135-141, Jan. 2008.

SANTANA, J. R. F. de et al. Efeito de indutores florais sobre o florescimento, frutificação e rendimento das cvs. de manga Van Dyke, Haden e Tommy Atkins no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 19, n. 2, p. 159-167, mar./abr. 1997.

SHEVYAKOVA, N. I. Metabolism and the physiological role of proline in plants under conditions of water and salt stress. **Plant Physiology**, Washington, v. 30, n. 2, p. 597-608, Aug. 1984.

SILVA, H.; ACEVEDO, E.; SILVA, P. Anatomia del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. **Revista Chilena de Historia Natural**, Santiago, v. 74, n. 2, p. 341-351, jun. 2001.

SOFO, A. et al. The olive tree: a paradigm for drought tolerance in Mediterranean climates. **Hydrology Earth Systematics Science Discuss**, Amsterdam, v. 4, n. 4, p. 2811-2835, July 2004.

STEINBERG, S. L.; MILLER, J. C.; MCFARLAND, M. J. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress. **Australian Journal Plant Physiology**, Melbourne, v. 17, n. 1, p. 23-36, Sept. 1990.

TATTINI, M. et al. Growth, gas exchange and ion content in *Olea europaea* plants during salinity stress and subsequent relief. **Physiology Plant**, Minneapolis, v. 95, n. 2, p. 203-210, Feb. 1996.

TAYLOR, C. B. Proline and water deficit: ups, downs, ins, and outs. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 1, p. 1221-1224, Aug. 1996.

XU, S. et al. The seasonal effects of water stress on *Ammopiptanthus mongolicus* in a desert environment. **Journal of Arid Environment**, London, v. 51, n. 3, p. 437-447, July 2002.

YAZDANI, N.; ARZANI, K.; ARJI, I. Alleviation of drought stress through application of Paclobutrazolon olive (*Olea europaea* L.) trees, cultivars 'Bladi' and 'Mission'. **Iranian Journal of Agricultural Sciences**, New York, v. 38, n. 2, p. 287-296, 2007.

CAPÍTULO 1: Mudanças anatômicas e ecofisiológica em mudas de oliveira submetidas ao déficit hídrico

RESUMO

Objetivou-se verificar a ocorrência de modificações na estrutura interna em folhas de mudas de oliveira (*Olea europaea* L.), em função de diferentes condições hídricas, bem como características fisiológicas e fitotécnicas que indiquem mecanismos de tolerância à seca. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação localizada na subestação da EPAMIG em Lavras, MG, no período de maio a agosto de 2009. Foram utilizadas mudas de oliveira obtidas através de enraizamento de estacas, com um ano de idade, provenientes da Fazenda Experimental da EPAMIG de Maria da Fé, MG. Utilizou-se fatorial 4 x 2 sendo os fatores 4 períodos de déficit hídrico (controle - sem restrição de água; 30 dias; 60 dias; 90 dias de déficit hídrico) e duas variedades de oliveira ('Barnea' e 'Grappolo 541'), no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições e três plantas por parcela, totalizando 72 plantas. Ao final de cada período foi quantificado o potencial hídrico foliar para verificar a intensidade do estresse submetido às plantas bem como sua caracterização anatômica. O potencial hídrico nas folhas foi medido pela manhã, por meio da bomba de pressão (Scholander). As folhas a serem avaliadas foram removidas, situada entre o pecíolo e a lâmina foliar, e avaliadas imediatamente após sua remoção. Foram instalados tensiômetros na profundidade de 20 cm para monitorar a umidade do solo dos diferentes períodos de estresse hídrico. A leitura foi realizada semanalmente durante todo o período experimental. Nos tratamentos, com restrição de água, 30, 60 e 90 dias, os menores valores de potenciais hídricos foliares alcançados foram de -2,9 MPa a partir do 18º dia, -2,93 MPa a partir do 43º e de -3,27 MPa, respectivamente. Para potencial hídrico do solo o valor máximo encontrado foi cerca de -90 KPa aos 90 dias de estresse hídrico. Quanto à caracterização anatômica as plantas de oliveira respondem ao estresse hídrico com modificações em sua estrutura interna mostrando plasticidade podendo ser potencialmente utilizada em regiões sujeitas a déficit hídrico.

Palavras-chave: *Olea europaea* L. Anatomia. Tolerância a seca.

ABSTRACT

It was intended to verify the occurrence of modifications in the internal structure in leaves of olive seedlings (*Olea europaea* L.) as a result from different water conditions as well as physiological and performance characteristics which point out drought-tolerance mechanisms. The experiment was conducted in a greenhouse located in the EPAMIG substation in Lavras, MG, over the period of May to August of 2009. Olive seedlings obtained through cuttings' rooting, aged one year, coming from the EPAMIG Experimental Farm of Maria da Fé MG, were used. Factorial 4 x 2, that is, the factors being four periods of water deficit (control – no water restriction; 30 days; 60 days; 90 days of water deficit) and two olive tree varieties ('Barnea' and 'Grappolo 541') in the completely randomized design with three replicates and three plants per plot amounting to 72 plants. At the end of each period was quantified the leaf water potential to verify the intensity of the stress to which the plants were submitted as well as their anatomical characterization. The water potential in the leaves was measured in the morning by means of pressure pump (Scholander). The leaves to be evaluated A were removed, situated between the petiole and leaf blade and evaluated immediately after their removal. Tensiometers were placed at the depth of 20 cm to monitor soil moisture of the different periods of water stress. The reading was conducted weekly throughout the experimental period. In the treatments with water restriction, 30, 60 and 90 days, the lowest values of leaf water potentials reached were of -2,9 MPa from the 18th day on, -2,93 MPa from the 43rd on and of -3,27 MPa, respectively. For soil water potential, the maximum value found was about -90 KPa at 90 days of water stress. As to the anatomical characterization, the olive plants respond to water stress with modifications in their internal structure showing plasticity, their being able to be partly utilized in regions subject to water deficit.

Key words: *Olea europaea* L. Anatomy. Drought tolerance.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de oliveiras no Brasil tem ocorrido principalmente na região Sul de Minas Gerais, considerada de clima temperado em função da altitude, sendo aptas ao seu desenvolvimento, pois há ocorrência de vernalização natural. Porém, são regiões com menor ocorrência de frio em comparação ao centro de origem da oliveira.

Assim as informações sobre a fisiologia e o comportamento das plantas de oliveira são fundamentais ao estabelecimento e o manejo racional da cultura. Estudos a partir de seleção de cultivares, adaptação de tecnologias para sua produção como, por exemplo, o estresse hídrico, vem permitindo a implantação de novas áreas de cultivo, ou ainda utilizando essa técnica para a indução floral.

A maioria das plantas desenvolve mecanismos morfológicos e fisiológicos que lhes permitem adaptar-se e sobreviver ao déficit hídrico. Estes mecanismos compreendem: redução no tamanho da folha, densa folhagem, estômatos em criptas, acúmulo de mucilagem e de outros metabólitos secundários, compactação foliar, aumento da densidade estomática, redução do tamanho dos estômatos, e redução da condutividade estomática (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009; LUDLOW, 1989).

A compreensão dos fatores que intervêm no comportamento fisiológico das plantas nas condições brasileiras pode ser útil para a aplicação de práticas de manejo adequado ao sucesso da implantação da cultura em novas áreas.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a ocorrência de modificações na estrutura interna em folhas de mudas de oliveira, em função de diferentes períodos de restrição hídrica, bem como características fisiológicas e fitotécnicas, que indiquem mecanismos de tolerância à seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, na Estação Experimental da EPAMIG, Lavras, MG, no período de maio a agosto de 2009. As mudas foram obtidas a partir de estacas, provenientes da Fazenda Experimental da EPAMIG de Maria da Fé, MG. Foram utilizadas mudas de oliveira, ‘Barnea’ e ‘Grappolo 541’, com um ano de idade e cultivadas em vasos de 20 litros, contendo como substrato terra de subsolo e Pró-vaso[®] na proporção de 1:1.

Foi utilizado o esquema fatorial 4 x 2, sendo os fatores quatro períodos de estresse hídrico (0; 30; 60 e 90 dias de restrição hídrica), e duas cultivares de oliveira, ‘Barnea’ e ‘Grappolo 541’. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com sub-parcelas subdividas no tempo, referente às avaliações realizadas durante o período de restrição hídrica, com três repetições e três plantas por parcela, totalizando 72 plantas.

As plantas foram irrigadas de acordo com os tratamentos. No tratamento controle, sem restrição de água, as plantas foram mantidas durante todo o período sob capacidade de campo e a irrigação foi realizada uma vez por semana colocando 500 mL de água em cada vaso. Os vasos foram cobertos com sacos plásticos para evitar a perda de água. Foram instalados em quatro vasos (um em cada tratamento, referentes aos quatro períodos de restrição hídrica) tensiômetros analógicos na profundidade de 20 cm para monitorar a umidade e o déficit hídrico no substrato estabelecido nos diferentes tratamentos cujos dados estão apresentados na Gráfico 1. No final de cada período de restrição hídrica, as plantas voltaram a ser irrigadas mantendo-se o substrato próximo da capacidade de campo.

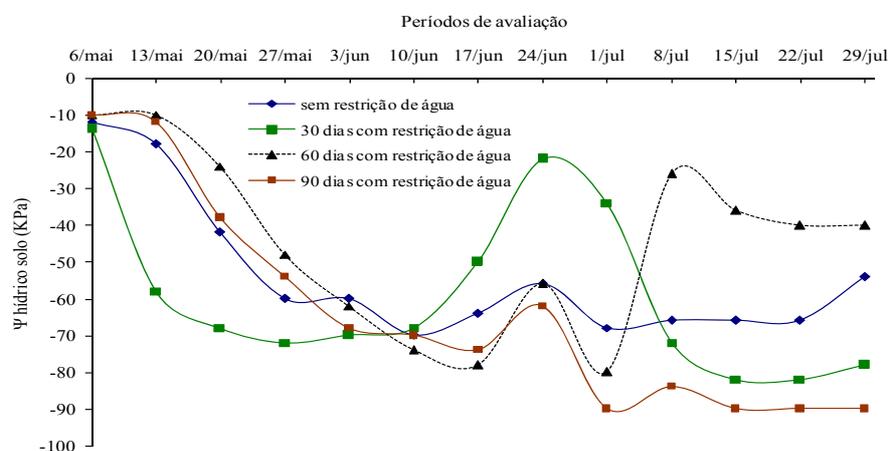


Gráfico 1 Potencial hídrico do solo, na profundidade 20 cm, nos vasos com oliveiras submetidas à restrição hídrica, em função do período de avaliação.

As variações de temperatura, máximas e mínimas, e de umidade relativa, durante o período experimental, foram monitoradas utilizando um termohigrômetro instalado no interior da casa-de-vegetação (Gráfico 2).

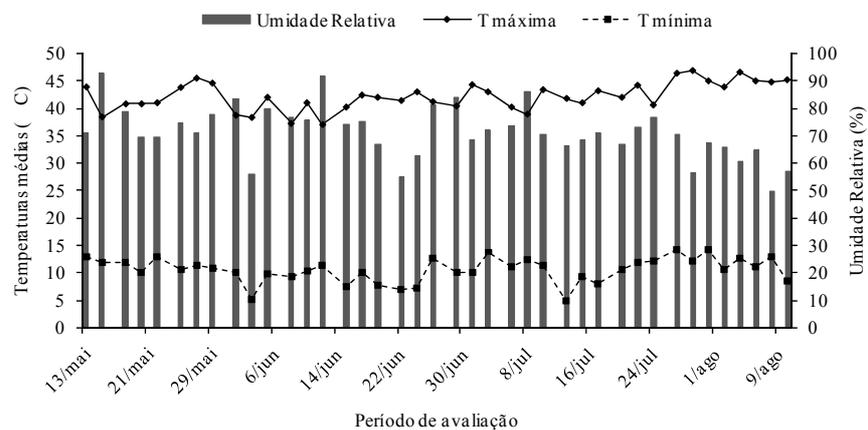


Gráfico 2 Médias de temperaturas, mínimas, máximas e de umidade relativa, registradas na casa-de-vegetação no período de maio de 2009 a agosto de 2009.

Ao final de cada período de restrição hídrica, foi medido o potencial hídrico foliar para verificar a intensidade do estresse submetido às plantas, incluindo o tratamento controle (plantas irrigadas). Após a volta da irrigação das plantas, ao final de cada período de restrição hídrica, avaliou-se novamente o potencial hídrico foliar para acompanhar o tempo que as plantas demoravam para estabilizar os valores de potencial hídrico foliar. Sua determinação nas folhas foi feita pela manhã, por meio da bomba de pressão (Scholander). As folhas foram removidas na porção mediana das plantas, antes do amanhecer, (entre 5h:00 e 5h:30 da manhã), situada entre o pecíolo e a lâmina foliar, e foram avaliadas imediatamente após sua remoção.

O desenvolvimento vegetativo das mudas submetidas aos diferentes períodos de restrição hídrica foi acompanhado a partir da caracterização referente à altura de plantas, realizada no início e término do experimento, medindo-se a altura do colo ao ápice da planta, com uma trena.

Aos 30 dias após a irrigação das plantas, no final de cada período de restrição hídrica, foi feita a avaliação do número de brotações emitidas. Os resultados foram expressos em número de brotos por 100 nós, para compensar as possíveis diferenças em relação ao tamanho das mudas.

Para avaliar as alterações anatômicas nas plantas (em função dos diferentes períodos de restrição hídrica), foram coletadas amostras de folhas ao final de cada período de restrição hídrica bem como, no tratamento controle. As amostras retiradas das plantas foram compostas por cinco folhas totalmente expandidas, coletadas do terço superior de três plantas de cada tratamento, seguindo a mesma orientação cardinal. Após a coleta, as folhas foram fixadas em etanol 70% e armazenadas em vidros para posterior análise anatômica no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

As avaliações relativas à caracterização dos estômatos foram: densidade estomática (número por mm²); diâmetro polar e equatorial; funcionalidade e índice estomático; medidas a partir de cortes paradérmicos manuais, utilizando-se uma lâmina Gillette[®]. Os cortes foram realizados na região mediana das folhas na epiderme da face abaxial, corados em solução de safranina (1%) e montadas em água glicerizada.

O índice estomático (IE,%) foi calculado com a utilização da seguinte fórmula: $IE (\%) = [NE/(NE+EM)] \times 100$, sendo NE o número de estômatos e EM o número de células da epiderme (CUTTER, 1986). A funcionalidade é dada pela relação entre diâmetro polar e diâmetro equatorial.

Os cortes transversais foram feitos utilizando um micrótomo manual, realizados em cinco folhas de oliveira de cada tratamento avaliando-se: espessura do parênquima, paliçádico e esponjoso; proporção entre parênquima paliçádico e esponjoso, espessura de epiderme, abaxial e adaxial; espessura do mesofilo; espessura da cutícula; número de vasos do metaxilema; diâmetro dos vasos do metaxilema; espessura do floema e o índice de vulnerabilidade de Carlquist.

O índice de vulnerabilidade, desenvolvido por Carlquist (1977), foi calculado com base na razão entre o diâmetro dos vasos e o número de vasos por mm².

As fotomicrografias foram realizadas utilizando-se um fotomicroscópio Olympus BX-60[®]. Foram obtidas três fotos de cada repetição totalizando 15 fotos por tratamento.

As medições nas fotos foram feitas pelo programa de análise de imagens UTHSCSA ImageTool (University of Texas, San Antonio, USA), utilizando-se calibrações feitas com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotomicrografias.

Os dados de potencial hídrico foliar, de crescimento e alterações anatômicas foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial. A escolha dos modelos foi baseada nos testes de significância dos parâmetros e do coeficiente de regressão, utilizando-se o teste 't' a 5% de probabilidade de erro. Os parâmetros de natureza qualitativa foram comparados por meio de teste de médias, utilizando Skott-knott a 5% de probabilidade de erro. O software utilizado para as análises estatísticas foi o Sisvar (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Potencial hídrico foliar

Segundo a análise de variância, para o potencial hídrico foliar, foi observada diferença significativa entre cultivares, e interação entre as épocas avaliadas e os períodos de restrição hídrica (Anexo A).

A cultivar Barnea apresentou valores de potencial hídrico foliar menores quando comparada a ‘Grappolo 541’ indicando maior resistência à seca desta cultivar com valores médios em torno de -1,90 MPa (Tabela 1).

Tabela 1 Médias de potencial hídrico foliar (Ψ hídrico foliar) de duas cultivares de plantas de oliveira submetidas ao déficit hídrico

Cultivares	* Ψ hídrico foliar (MPa)
‘Barnea’	- 2,07 b
‘Grappolo 541’	- 1,90 a
C.V (%)	16,73

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de F.

Resultados semelhantes foram observados por Guerfel et al., (2007) que trabalhando com mudas de duas cultivares de oliveira, ‘Chemlali’ e ‘Chetoui’, verificaram que a ‘Chemlali’ apresentou maior resistência à seca. A diferença observada entre as cultivares ‘Barnea’ e ‘Grappolo 541’ demonstra que as respostas em relação ao déficit hídrico variam em função das características genéticas próprias das variedades e/ou cultivares (CHARTZOULAKIS; PATAKAS; BOSABALIDIS, 1999; TOGNETTI et al., 2002).

De acordo com as observações desses autores em relação às diferenças genéticas das cultivares, os resultados obtidos sugerem que as respostas da oliveira submetidas ao estresse hídrico podem variar em função da variedade e/ou cultivares e idade, associada às condições climáticas da região.

Em trabalhos realizados por Bacelar (2006), foi verificado uma variação considerável dentro de cada cultivar de plantas de oliveira. Foi demonstrado que as cultivares ‘Cobrançosa’, ‘Negrinha’ e ‘Manzanilla’ têm mais capacidade de resistir à seca que as cultivares ‘Arbequina’ e ‘Blanqueta’.

Comparando-se o potencial hídrico foliar em função de épocas, foi observado nas plantas que não foram submetidas à restrição de água redução no potencial com valores de -1,79 MPa, estimado aos 33 dias após o início do experimento (Gráfico 3). Essa variação pode ser atribuída às altas temperaturas (Gráfico 2) que ocorreram dentro da casa de vegetação, que mesmo com umidade no solo as plantas sofreram perdas de água.

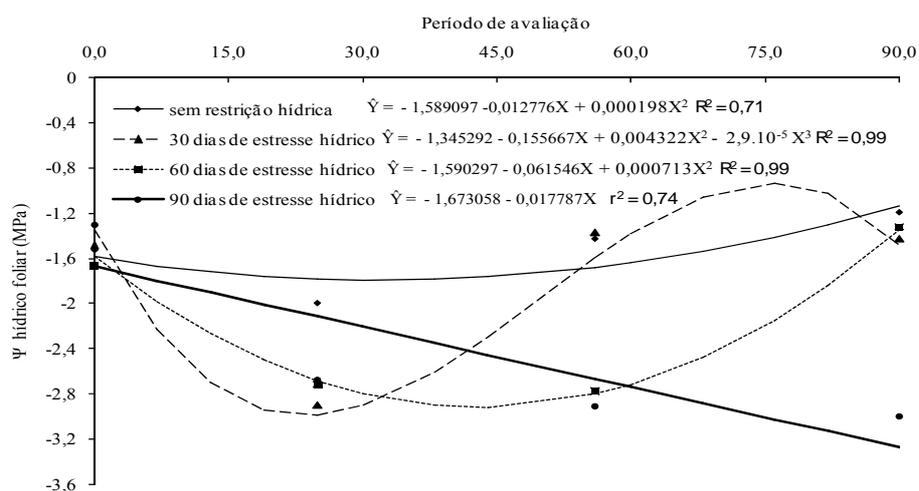


Gráfico 3 Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira sem restrição de água, 30 dias com restrição de água, 60 dias com restrição de água e 90 dias com restrição de água.

No tratamento com 30 dias de restrição de água, os menores valores de potenciais hídricos foliares alcançados foram de -2,9 MPa, a partir do 18º dia de restrição hídrica, (Gráfico 3).

Dois dias após a irrigação, nas plantas que foram submetidas aos 30 dias de restrição hídrica, voltaram a aumentar seus valores de potencial hídrico

atingindo cerca de -2,5 MPa na cultivar Barnea e - 1,4 MPa na ‘Grappolo 541’ (Tabela 2) .

Tabela 2 Valores de potencial hídrico foliar e dias após a volta da irrigação de plantas de oliveira submetidas à restrição hídrica.

Épocas	Ψ hídrico foliar (MPa)		Dias após a irrigação	
	‘Barnea’	‘Grappolo 541’	‘Barnea’	‘Grappolo 541’
30	- 2,5	- 1,4	2	2
60	-2,7	-1,6	3	3
90	-2,1	-1,2	4	4

Nas plantas que foram submetidas a 60 dias de restrição hídrica, o menor potencial hídrico foliar foi de -2,93 MPa, estimado a partir do 43º dia de restrição de água (Figura 3). Nestas plantas os valores de potencial hídrico voltaram a aumentar a partir do terceiro dia após a irrigação das plantas, com - 2,7 MPa na cultivar Barnea e -1,65 MPa na ‘Grappolo 541’ (Tabela 2).

Aos 90 dias de restrição hídrica, as plantas atingiram potencial hídrico foliar em torno de -3,27 MPa (Gráfico 3). Plantas da cultivar Barnea voltaram a aumentar os valores de potencial hídrico a partir do quarto dia após a irrigação bem como a cultivar Grappolo 541, observando-se valores de -2,1 MPa e -1,2 MPa, respectivamente (Tabela 2).

De acordo com os valores observados em relação ao potencial hídrico foliar após a irrigação das plantas, a cultivar Grappolo 541 recuperou-se mais rápido que a ‘Barnea’, obtendo valores maiores de potencial hídrico. Esse comportamento ocorreu em função dos menores valores alcançados pela cultivar Barnea em todas as épocas avaliadas. Possivelmente, isso se deve a capacidade de adaptação às condições, de estresse hídrico da cultivar Grappolo 541 por meio de mecanismos próprios.

O estudo de Levitt (1980) demonstrou que, durante um período de déficit hídrico, os diversos ajustamentos fisiológicos da planta determinam as respostas adaptativas de ordem anatômica e morfológica, porém essas respostas

sofrem variações de acordo com a espécie, a cultivar, o estado de desenvolvimento das plantas e a intensidade do déficit hídrico. Segundo o mesmo autor, as plantas têm capacidade de resistir a períodos de déficit hídrico, utilizando mecanismos que reduzem a perda de água.

Constatou-se que as mudas submetidas a 90 dias de restrição hídrica apresentaram valores de potenciais hídricos foliares menores que -3 MPa. No entanto, não foi possível quantificar em função da válvula de segurança da bomba de Scholander, regulada para medir potenciais até -3 MPa. Outros pesquisadores observaram valores de até -5,5 MPa em oliveiras da cultivar Chetoui comparada a 'Chemlali' atingindo -4,0 MPa após 30 dias de restrição hídrica (GUERFEL et al., 2009).

As plantas submetidas ao período de 90 dias de restrição hídrica permaneceram mais tempo sob condição de estresse, com baixos valores de potencial hídrico foliar. Nessas plantas, os níveis de estresse podem ser considerados severos, pois as plantas apresentaram abscisão foliar e enrolamento das folhas novas, com efeitos mais pronunciados nas plantas da cultivar Barnea. A resposta acentuada das plantas ao déficit hídrico, segundo McCree e Fernández (1989) e Taiz e Zeiger (2004), consiste no decréscimo da produção da área foliar, o fechamento dos estômatos, a aceleração da senescência e abscisão das folhas.

Segundo Taiz e Zeiger (2009), se as plantas sofrerem um estresse hídrico após o desenvolvimento substancial da área foliar pode ocorrer a senescência das folhas, seguida de abscisão. A abscisão foliar durante o estresse hídrico ocorre em função do aumento da síntese de etileno e de ácido abscísico (ABA) e do caráter responsivo da planta a esses fitohormônios.

3.2 Número de brotações, altura e diâmetro

Segundo a análise de variância houve diferença significativa para cultivares em todas as características estudadas, exceto para o número de brotações (Anexo B). Para restrição hídrica houve diferença significativa para altura e número de brotações (Anexo B).

Para altura de plantas, as duas cultivares estudadas diferiram entre si, sendo a cultivar Grappolo 541 a que apresentou maior altura (Tabela 3).

Os maiores valores na altura, observados na ‘Grappolo 541’ podem estar relacionados a maior adaptação às condições brasileiras, pois essa cultivar se encontra a mais tempo no Brasil, possibilitando melhor desenvolvimento vegetativo quando comparada à ‘Barnea’ recém introduzida no país.

Esse fato pode explicar ainda a maior eficácia das plantas da cultivar Grappolo 541 em resistir ao déficit hídrico, pois sob mesmas condições apresentaram potencial de -1,90 MPa, superior ao potencial hídrico observado em plantas da cultivar Barnea, -2,07 MPa, (Tabela 1).

Para os diâmetros do caule a ‘Barnea’ apresentou os maiores valores.

Tabela 3 Altura e diâmetro em plantas de duas cultivares de oliveira submetida à restrição hídrica

Cultivares	* Altura (cm)	* Diâmetro (mm)
‘Barnea’	0,36 b	10,42 a
‘Grappolo 541’	0,57 a	7,69 b
C.V (%)	21,94	7,34

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de F.

Para número de brotos, foi observada redução de 30,16% nas brotações emitidas pelas plantas submetidas à restrição hídrica, estimados a partir 64° dia, comparado ao número emitido pelas plantas do tratamento controle (Gráfico 4).

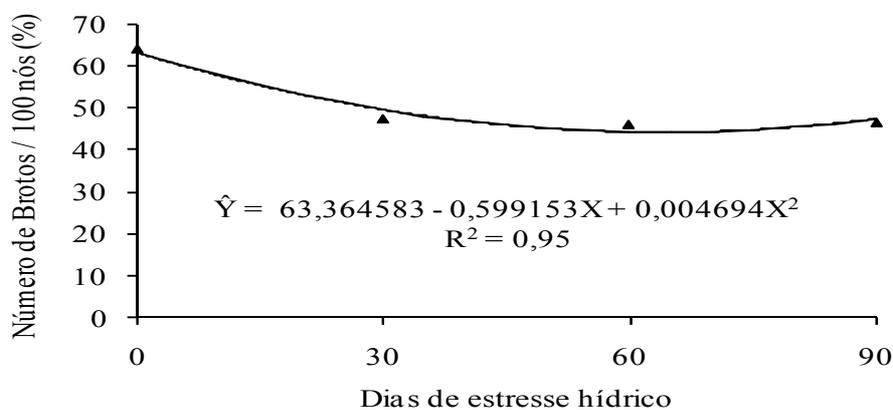


Gráfico 4 Avaliação do número total de brotações vegetativas em oliveiras submetidas a diferentes períodos de restrição hídrica.

Esses resultados não corroboram com os encontrados por Pire e Rojas (1999), estudando o efeito do estresse hídrico na produção de brotações vegetativas em Lima ácida tahiti, constataram que o crescimento de brotos vegetativos com irrigação contínua (sem estresse hídrico) foi menor em comparação com os tratamentos que tiveram 4, 8 e 12 semanas de estresse hídrico.

Com relação ao crescimento em altura de plantas foi verificado aumento nesta variável. A medida que os períodos de restrição hídrica aumentaram a altura de plantas aumentou até 51 dias, sendo observadas a partir desse período menores valores para altura (Gráfico 5). Esse comportamento pode estar relacionado à baixa disponibilidade de água. Em trabalho realizado por Bacelar (2006) com cultivares de oliveira verificou-se que a baixa disponibilidade de água afetou negativamente a taxa de crescimento das plantas. De acordo com Gholz, Ewel e Teskey (1990), a disponibilidade de água afeta o crescimento das plantas, por influenciar a abertura dos estômatos e, conseqüentemente, a produção de fitomassa. Esse fechamento bloqueia o fluxo de CO₂ para as folhas,

afetando o acúmulo de fotoassimilados, o que pode reduzir a atividade vegetativa e reprodutiva da planta.

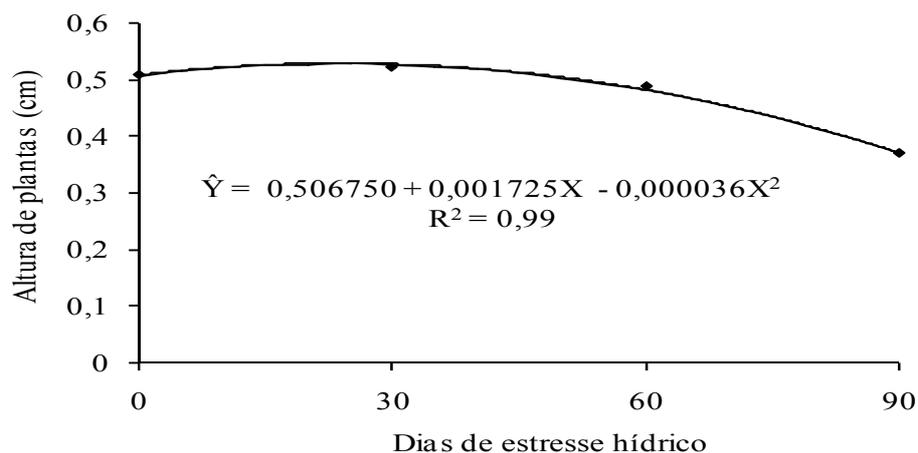


Gráfico 5 Crescimento em altura em oliveiras submetidas a diferentes períodos de restrição hídrica.

3.3 Características anatômicas

Para as características anatômicas houve diferença significativa entre cultivares sobre os diâmetros, polar e equatorial dos estômatos, densidade estomática, funcionalidade estomática, índice estomático (Anexo C), espessura da epiderme abaxial (Anexo D) e espessura do floema (Anexo E); para período de restrição hídrica foi observada diferença sobre diâmetro polar e equatorial, funcionalidade e índice estomático (Anexo C), espessura da epiderme abaxial e adaxial, espessura da cutícula (Anexo D). Houve interação entre as cultivares e os períodos de restrição hídrica para a espessura do parênquima esponjoso (Anexo D), número de vasos de metaxilema e índice de vulnerabilidade de Carlquist (Anexo E).

Em relação aos diâmetros, polar e equatorial dos estômatos (Tabela 4), a cultivar Grappolo 541 apresentou valores maiores quando comparada à ‘Barnea’ (Figura 1A-D).

Tabela 4 Modificações nas características estomáticas (μm) de oliveira em função de cultivares e períodos de restrição hídrica

Cultivar	*DP	*DEQ	*DE	*FE	*IE
‘Barnea’	40,2b	27,4b	137,4a	1,56a	0,10a
‘Grappolo’	42,6a	31,4a	118,8b	1,29b	0,88b
CV (%)	6,38	9,26	12,39	9,65	7,94

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à $p < 0,05$. DP= diâmetro polar dos estômatos; DEQ= diâmetro equatorial dos estômatos; DE= densidade estomática (estômatos por mm^2); FE= funcionalidade estomática (relação POL/EQU); IE= índice estomático.

Estes dados demonstram que a ‘Barnea’ apresentou estômatos com forma elíptica em função da diminuição dos diâmetros dos estômatos. Provavelmente, esta modificação tenha ocorrido porque esta cultivar apresentou comportamento sensível ao estresse hídrico, com baixos valores de potencial hídrico foliar (Tabela 1). Pois, de acordo com os resultados encontrados por Bosabalidis e Kofidis (2002), comparando o déficit hídrico de cultivares de oliveira ‘Mastoidis’ e ‘Koroneiki’, no que diz respeito a tamanho de estômatos, observaram que a ‘Mastoidis’ apresentou redução significativa nos diâmetros, polares e equatoriais, demonstrando menor tolerância à seca comparada a ‘Koroneiki’.

Para a densidade estomática (Tabela 4), os valores observados na cultivar Barnea foram maiores que ‘Grappolo 541’, apresentando cerca de 137,4 estômatos por mm^2 (Figura 1A-D). O aumento da frequência de estômatos em ‘Barnea’ pode ser correlacionado com a maior condutância estomática, visto que o potencial de fixação de carbono e também de transpiração é muito maior em plantas estressadas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Estas diferenças também foram observadas em outras cultivares de oliveira submetidas ao estresse hídrico. Bosabalidis e Kofidis (2002), verificaram na 'Mastoidis', a densidade estomática sobre a superfície foliar abaxial menor, atingindo 49,9 enquanto que em 'Koroneiki' 55,2 estômatos/mm².

Quanto à funcionalidade dos estômatos (Tabela 4), a cultivar Barnea apresentou maiores valores comparada a 'Grappolo 541'. Maior funcionalidade pode favorecer maior eficiência no uso da água, pois assim pode conseguir a obtenção do gás carbônico com uma área de abertura estomática menor, evitando maiores perdas de água (MAGALHÃES, 2009). Essa diferença observada em relação à 'Barnea' pode ser um mecanismo desta cultivar para evitar as perdas de água, em decorrência do maior número de estômatos em sua estrutura foliar.

Para o índice estomático (Tabela 4), valores maiores foram encontrados na 'Barnea' quando comparado ao índice da cultivar Grappolo 541. De acordo com Bongers e Popma (1990), esse índice está fortemente ligado a condutância estomática, sendo conhecido como indicador de mudanças ambientais e na quantidade de água disponível em determinados ambientes.

A cultivar Chemlali, em condições áridas na região da Tunísia, apresentou redução no conteúdo de água foliar e condutância estomática em função do déficit hídrico (AHMED; BEM-ROUINA; BOUKHRISS, 2007).

Comparando o comportamento das cultivares em função do tempo de restrição hídrica, observou-se que houve aumento significativo para o diâmetro polar e redução para o diâmetro equatorial (Figura 6). O aumento ocorreu de forma linear à medida que os períodos de restrição hídrica aumentaram os valores do diâmetro polar foram maiores, ao contrário ocorrendo com diâmetro equatorial, diminuindo linearmente. O aumento do diâmetro polar nos tratamentos com maior restrição hídrica, provavelmente, ocorreu em função da

maior funcionalidade dos estômatos que adquiriram um formato elipsóide, na condição de restrição hídrica.

A variação da resposta do diâmetro equatorial dos estômatos indica que essa característica seja menos definida que o diâmetro polar, em consequência da variação da turgidez celular, a qual é determinante para os movimentos de abertura e fechamento estomático (TAIZ; ZEIGER, 2004).

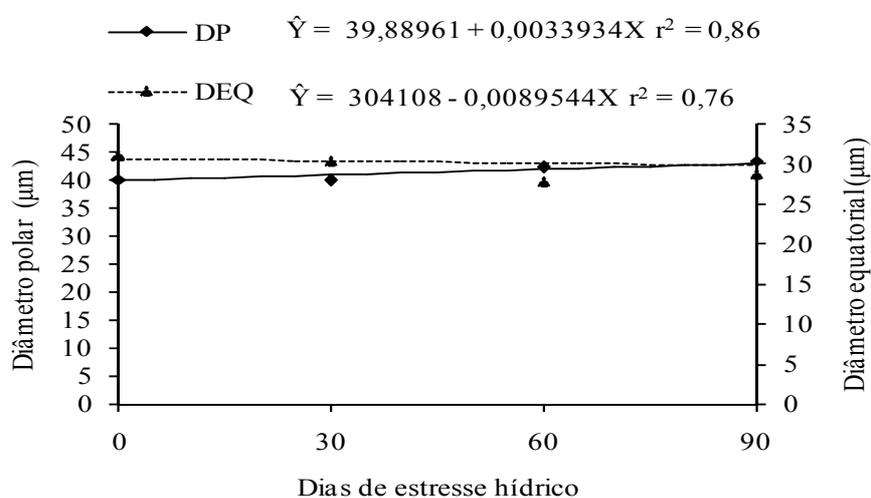


Gráfico 6 Diâmetro polar e equatorial de estômatos de folhas de oliveiras submetidas a períodos de restrição hídrica.

Para a funcionalidade e o índice estomático, comportamento semelhante foi verificado, com aumentos de 11,8% e 2,4%, respectivamente, em função do aumento dos períodos de restrição hídrica (Gráfico 7). Comportamento que indica que as plantas apresentaram alterações na sua estrutura foliar devido à baixa disponibilidade de água. Possivelmente, estas modificações ocorreram para minimizar a perda de água. De acordo com Cutter (1986), o índice estomático é razoavelmente constante para uma dada espécie, sendo afetado principalmente pela umidade.

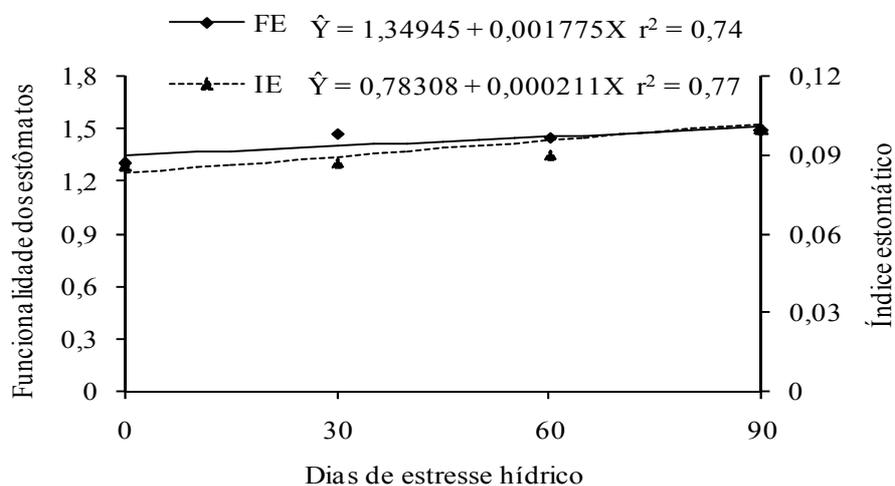


Gráfico 7 Funcionalidade de estômatos e índice estomático de folhas de oliveiras submetidas a períodos de restrição hídrica.

Em relação à espessura da epiderme abaxial, maiores valores foram observados na cultivar Barnea quando comparada com a epiderme da ‘Grappolo 541’ (Tabela 5) (Figura 2A-D). Essa diferença demonstrou que a ‘Barnea’ foi mais sensível à restrição de água, apresentando maior modificação em relação a essa estrutura, comparada a ‘Grappolo 541’. Aumento na espessura da epiderme abaxial aumenta a sobrevivência e o crescimento em condições de baixo potencial hídrico, pela melhoria das relações hídricas e proporcionando maior proteção aos tecidos internos (BACELAR, 2006).

Folhas da cultivar Grappolo 541 apresentaram maiores valores na espessura de floema (Tabela 5) (Figura 2E-H). Esse aumento implica em melhor adaptação da planta, por auxiliar no fluxo de fotoassimilados da parte aérea para as raízes.

De acordo com Liao e Lin (2001), o estresse reduz o transporte de açúcares pelo floema, o que resulta em acúmulo nas folhas.

Assim, o aumento na espessura do floema, e a conseqüente facilitação do fluxo de carboidratos nesse tecido, também podem contribuir para que as plantas apresentem maior tolerância a seca.

Tabela 5 Modificações nos tecidos foliares de oliveira, cultivares, ‘Barnea’ e ‘Grappolo 541’, (μm)

Cultivar	*EAB	*EAD	*EM	*EC	*EPP	*P	*DV	*EFL
‘Barnea’	21,5a	26,4a	593,9a	17,5a	187,9a	0,42a	17,04a	108,9b
‘Grappolo’	20,6b	25,7a	619,1a	16,5a	179,1a	0,40a	16,19a	125,3a
CV (%)	5,6	7,3	6,45	10,0	10,5	11,8	9,7	13,1

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à $p < 0,05$. EAB= espessura da epiderme da face abaxial; EAD= espessura da epiderme da face adaxial; EM = espessura do mesofilo; EC = espessura da cutícula; EPP= espessura do parênquima paliçádico; P = PP/PE razão entre a espessura do parênquima paliçádico e espessura do parênquima esponjoso; DV = diâmetro dos vasos de metaxilema; EFL= espessura do floema.

Para espessura do parênquima esponjoso (Tabela 6) (Figura 2A) foi observada diferença entre as cultivares, antes e após 30 dias do início da aplicação da restrição hídrica, sendo os valores da cultivar Grappolo 541 superiores aos de ‘Barnea’.

Em relação ao número de vasos do metaxilema, resultados superiores foram verificados na cultivar Grappolo 541 em todos os períodos de restrição hídrica, incluindo o tratamento controle (irrigado) (Tabela 6). Quando as espécies possuem maior quantidade de vasos, há maior fluxo de água e maiores chances de esquivar-se da cavitação (ZIMMERMANN, 1983). Assim a ‘Grappolo 541’ apresentando valores superiores de NV pode se adaptar melhor as condições de seca, sendo esse um fator importante em plantas sob essa condição, mostrando uma proteção. Essa proteção no sistema condutor é mostrada pelos menores valores observados no IVC (Tabela 6) da ‘Grappolo 541’.

Tabela 6 Modificações nos tecidos foliares de oliveira nas cultivares Barnea (BAR) e ‘Grappolo 541’ (GRAP) submetidas à restrição hídrica

Épocas	*EPE (μm)		* NV		*IVC	
	‘Bar’	‘Grap’	‘Bar’	‘Grap’	‘Bar’	‘Grap’
0	419,6b	498,4a	81,7b	200,5a	0,23 a	0,08 b
30	403,5b	493,1a	101,7b	192,8a	0,17 a	0,08 b
60	423,3a	429,4a	101,3b	243,7a	0,17 a	0,07 b
90	456,5a	449,7a	98,3b	239,4a	0,16 a	0,07 b
CV (%)	10,2		4,4		8,4	

*Médias seguidas de mesma letra na linha, para a cada variável, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à $p < 0,05$. EPE= espessura do parênquima esponjoso; NV = número de vasos de metaxilema; IVC = índice de vulnerabilidade de Carlquist.

Comparando-se a espessura do parênquima esponjoso nas duas cultivares (‘Barnea’ e ‘Grappolo 541’) em relação aos períodos de restrição hídrica (Gráfico 8), foi observado comportamento quadrático, com menores valores estimado em ‘Barnea’ a partir do 29º dia de restrição de água às plantas, enquanto na ‘Grappolo 541’ a redução ocorreu de forma gradual a medida que se aumentou o déficit hídrico às plantas.

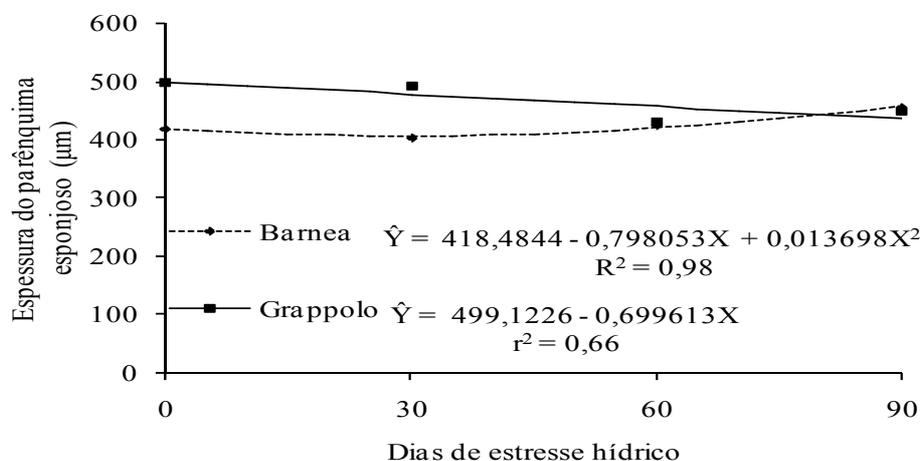


Gráfico 8 Espessura do parênquima esponjoso de duas cultivares de oliveira submetidas a períodos de restrição hídrica.

Para número de vasos do metaxilema foi observado comportamento linear para cultivar Grappolo 541, com aumento de 25,2% nas plantas

submetidas a 90 dias de restrição hídrica, comparadas as plantas irrigadas, e na cultivar Barnea houve comportamento quadrático, sendo o aumento verificado, a partir do 11º dia de restrição hídrica (Gráfico 9).

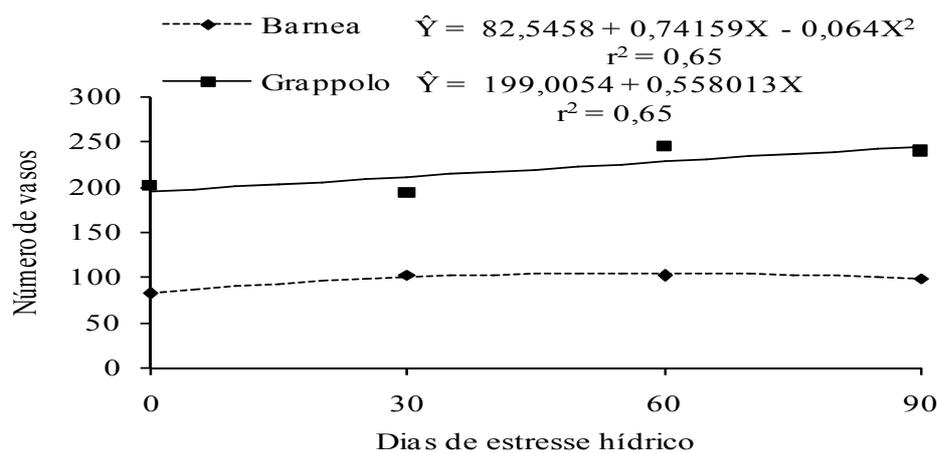


Gráfico 9 Número de vasos do floema de duas cultivares de oliveira submetida a períodos de restrição hídrica.

Quanto ao índice de vulnerabilidade de Carlquist (Gráfico 10), nas cultivares Barnea e ‘Grappolo 541’ houve acréscimo em torno de 27,2% e 20,6% nas plantas submetidas a 90 dias de restrição hídrica comparado ao índice avaliado nas plantas irrigadas.

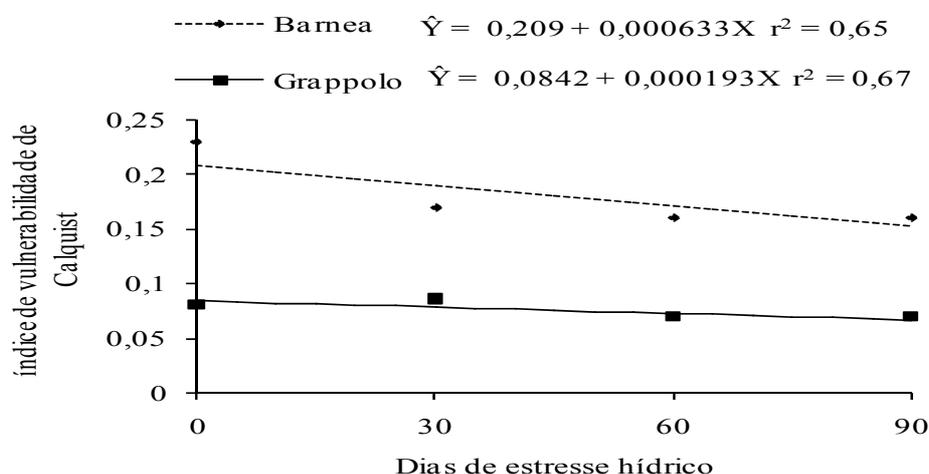


Gráfico 10 Índice de vulnerabilidade de Carlquist de duas cultivares de oliveira submetidas a períodos de restrição hídrica.

Comportamentos lineares foram observados na espessura de epiderme adaxial, abaxial e espessura da cutícula das folhas de oliveira (Figura 2A), à medida que se aumentaram os períodos de restrição hídrica (Gráfico 11). Esse comportamento pode ser relacionado com a redução da transpiração e o desenvolvimento de mecanismos de adaptação ao déficit hídrico de ambas as cultivares (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Resultados semelhantes foram encontrados por Oertli, Lips e Agami (1990), que verificaram aumento na espessura cuticular em folhas de mudas de oliveira submetidas a restrição hídrica. E ainda salientaram que o maior aumento dessas espessuras reflete em melhor controle da perda de água através da transpiração cuticular.

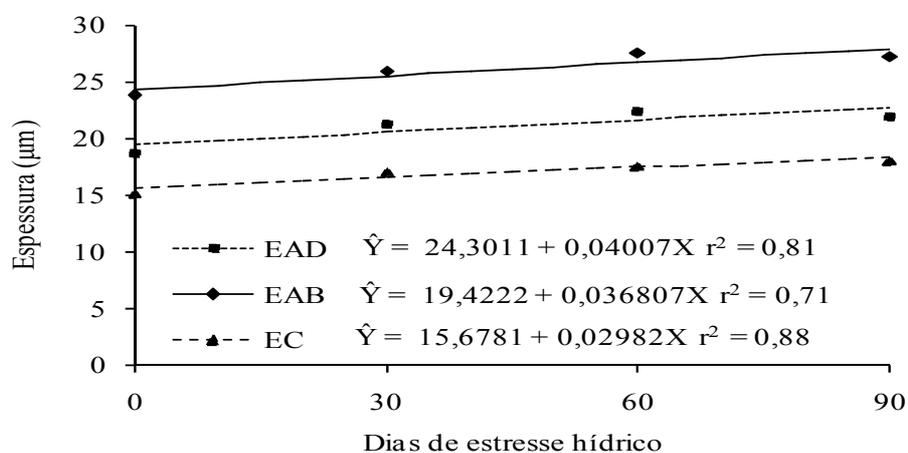


Gráfico 11 Espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura da epiderme abaxial (EAB) e espessura da cutícula (EC) de folhas de oliveiras submetidas a períodos de restrição hídrica.

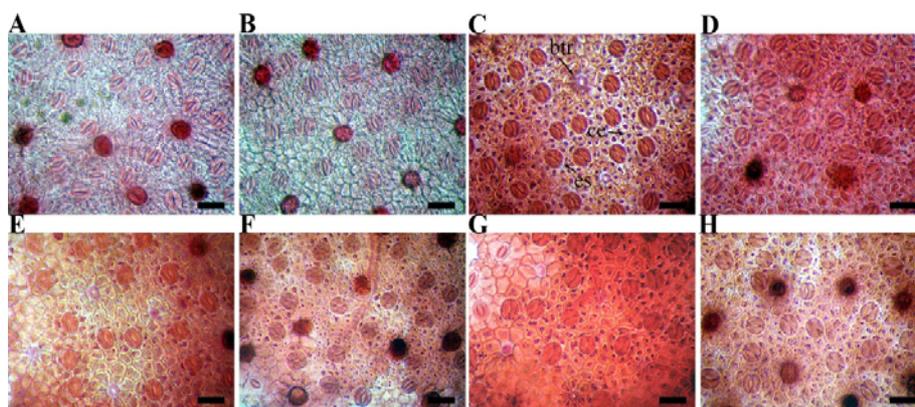


Figura 1 Seções paradérmicas de folhas de duas cultivares de oliveira em diferentes condições hídricas. A - D = cultivar Barnea, E - H = cultivar Grappolo 541. A e E = sem restrição hídrica; B e F = 30 dias de restrição hídrica; C e G = 60 dias de restrição hídrica; D e H = 90 dias de restrição hídrica. Barras = 50 μm . Legenda figura 12 - C: btr - base tricoma, cc - células epidérmicas, es - estômatos.

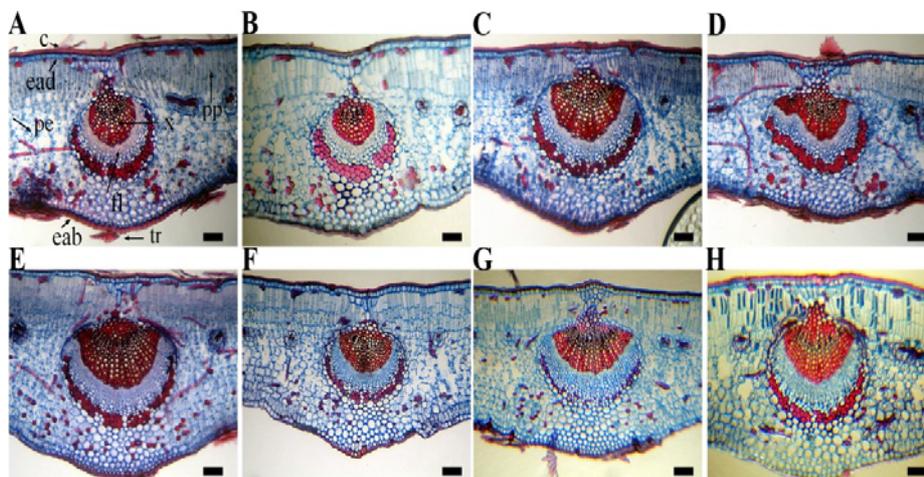


Figura 2 Secções transversais de folhas de duas cultivares de oliveira em diferentes condições hídricas. A–D=cultivar Barnea, E–H = cultivar Grappolo 541. A e E= sem restrição de água; B e F=30 dias de restrição hídrica; C e G=60 dias de restrição hídrica; D e H=90 dias de restrição hídrica. Barras = 100 μ m. Legenda figura 13 - A: c- cutícula, ead- epiderme adaxial, eab- epiderme abaxial, pe- parênquima esponjoso, pp- parênquima paliçádico, x- xilema, fl- floema, tr- tricoma.

4 CONCLUSÕES

Nos tratamentos com restrição hídrica para a cultivar Barnea foram encontrados os menores valores de potenciais hídricos foliares atingindo cerca de -2,07 MPa.

A cultivar Grappolo 541, em condições de seca cresce mais que a 'Barnea' mostrando-se mais adaptadas.

Quanto à caracterização anatômica, as plantas de oliveira respondem ao estresse hídrico com modificações em sua estrutura interna, mostrando plasticidade para resistir às condições de déficit hídrico.

As plantas da cultivar Grappolo 541 apresentaram características anatômicas que favorecem sua adaptação ao déficit hídrico comparada a 'Barnea'.

REFERÊNCIAS

- AHMED, B.; BEN-ROUINA, B. C.; BOUKHRISS, M. Effects of water deficit on olive trees cv. chemlali under field conditions in arid region in Tunisia. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 113, n. 3, p. 267-277, Apr. 2007.
- BACELAR, E. L. V. A. **Ecophysiological responses of olive (*Olea europaea* L.) to restricted water availability**: limitations, damages and drought resistance mechanisms. 2006. 149 p. Tese (Doutorado em Engenharia Biológica) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro Vila Real, Vila Real, 2006.
- BONGERS, F.; POPMA, J. Leaf characteristics of the tropical rainforest flora of Los Tuxtlas, Mexico. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 151, n. 3, p. 354-365, Mar. 1990.
- BOSABALIDIS, M. A.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive. **Plant Science**, Shannon, v. 163, n. 2, p. 375-379, Aug. 2002.
- CARLQUIST, S. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 64, n. 7, p. 887-896, Aug. 1977.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal**: estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.
- CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; BOSABALIDIS, A. Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 42, n. 2, p. 113-120, Oct. 1999.
- CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986. 304 p.
- FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR Sistema para Análise de Variância para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- GHOLZ, H. L.; EWEL, K. C.; TESKEY, R. O. Water and forest productivity. **Forest Ecological Management**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 1-18, Jan. 1990.

GUERFEL, M. et al. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae Science Biotechnology**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 257-263, Feb. 2009.

_____. Seasonal changes in water relations and gas exchange in leaves of two Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars under water deficit. **Journal Horticultural Science Biotechnology**, Amsterdam, v. 82, n. 5, p. 721-726, May 2007.

LEVITT, J. **Response of plants to environmental stress: II.**, water radiation, salt and other stress. New York: Academic, 1980. 606 p.

LIAO, C. T.; LIN, C. H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, Taipei, v. 25, n. 3, p. 148-157, Apr. 2001.

LUDLOW, M. M. Strategies of response to water stress. In: KREEB, K. H.; RICHTER, H.; HINCKLEY, T. M. (Ed.). **Structural and functional responses to environmental stresses: water shortage**. London: SPB Academic, 1989. p. 269-282.

MAGALHÃES, P. C. et al. Anatomia foliar nos sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura sob alagamento intermitente do solo. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Sete Lagoas, v. 12, n. 1, p. 27-29, out. 2009.

MCCREE, K. J.; FERNÁNDEZ, C. J. Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. **Crop Science**, Madison, v. 29, n. 2, p. 353-360, Apr. 1989.

OERTLI, J. J.; LIPS, S. H.; AGAMI, M. The strength of sclerophyllous cells to resist collapse due to negative turgor pressure. **Acta Oecology**, Berlin, v. 11, n. 2, p. 281-289, Mar. 1990.

PIRE, R.; ROJAS, E. Effects of drought stress and urea sprays on production of flower and vegetative buds of Tahiti lime. **Fuits**, Paris, v. 54, n. 3, p. 177-182, Nov. 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TOGNETTI, R. et al. Stomatal behaviour and water use efficiency in two cultivars of *Olea europaea* L. **Agricoltura Mediterranea**, Pisa, v. 132, n. 2, p. 90-97, 2002.

ZIMMERMANN, M. H. **Xylem structure and the ascent of sap**. Berlin: Springer Verlag, 1983. 259 p.

CAPÍTULO 2: Déficit hídrico e paclobutrazol no desenvolvimento de mudas de oliveira

RESUMO

O uso de reguladores de crescimento e do estresse hídrico são práticas que têm sido utilizadas para retardar o crescimento vegetativo, para a indução do florescimento e antecipação de produção em espécies vegetais. Com o objetivo de estudar o comportamento de mudas de oliveira da cultivar Arbequina, submetidas à aplicação de paclobutrazol e déficit hídrico, foram testados quatro doses de paclobutrazol (PBZ), (0; 0,5; 1,0 e 1,5 mL por planta) e quatro épocas de déficit hídrico (plantas irrigadas; déficit de água de maio a junho; déficit de água de junho a julho e de julho a agosto). As plantas sob restrição de água foram mantidas sob déficit hídrico por 60 dias. Foram utilizadas no experimento, mudas de oliveira, de um ano de idade da cv. Arbequina, propagadas por estaquia e plantadas em vasos 10 litros contendo como substrato terra de subsolo e Pró-vaso[®] na proporção de 1:1. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação e conduzido de Maio a Setembro de 2009, na Fazenda Experimental da EPAMIG de Maria da Fé, MG. Utilizou-se o esquema fatorial 4 x 4 no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e quatro plantas por parcela, totalizando 64 plantas. Potencial hídrico foliar, número de brotações e comprimento de entrenós, teor relativo de clorofila e a caracterização anatômica foram avaliados. O potencial hídrico foliar das plantas submetidas ao mesmo período de déficit hídrico é menor em épocas que ocorrem maiores temperaturas. O aumento das doses de PBZ diminui os valores de potencial hídrico foliar, bem como os valores de comprimento de entrenós. Para número de brotações os maiores valores foram encontrados em plantas submetidas a déficit hídrico de julho a agosto. O teor de clorofila diminui em plantas submetidas a déficit hídrico e aumenta em plantas tratadas com PBZ. Quanto à caracterização anatômica as plantas tratadas com PBZ e déficit hídrico respondem com modificações em sua estrutura interna.

Palavras-chave: Regulador de crescimento. Estresse hídrico. Triazóis.

ABSTRACT

Use of growth regulators and water stress are practices which have been utilized to delay the vegetative growth, for flowering induction and anticipation of production in plant species. With the objective of studying the behavior of olive seedlings of cultivar Arbequina, submitted to the application of paclobutrazol and water deficit, four doses of paclobutrazol (PBZ), (0; 0.5; 1.0 e 1.5 mL per plant) and four water deficit times (irrigated plants; water deficit from May to June; water from June to July and from July to August) were tested. The plants under water restriction were kept under water deficit for 60 days. One-year old olive seedlings of cultivar Arbequina, propagated by cutting and planted in 10-liter pots containing substrate subsoil earth and Pró-vaso[®] at the ratio of 1:1 were used in the experiment. The experiment was carried out in a greenhouse and conducted from May to September of 2009 on the EPAMIG Experimental Farm in Maria da Fé, MG. The factorial scheme 4 x 4 in the completely randomized design with four replicates and four plants per plot amounting to 64 plants was used. Leaf water potential, number of shoots and internode length, relative content of chlorophyll and anatomical characterization were evaluated. The leaf water potential of the plants submitted to the same period of water deficit is lower in times which higher temperatures occur. Increased doses of PBZ decreased the values of leaf water potential as well as the values of internode length values. For the number of shoots, the highest values were found in plants submitted to water deficit from July to August. Chlorophyll content decreases in plants submitted to water deficit and increases in PBZ-treated plants. As to the anatomical characterization, the PBZ-treated plants and water deficit respond with modifications in their internal structure.

Key words: Growth regulator. Water stress. Triazoles.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a pesquisa tem possibilitado a identificação de variedades de oliveira promissoras para a região Sul do Estado de Minas Gerais e recentemente foram selecionadas variedades com menor exigência em frio.

Para isso, a utilização de práticas de manejo capazes de retardar o crescimento da planta e induzir a floração, é necessária. Em outras espécies frutíferas, o estresse hídrico parece ser o principal fator promotor da floração nas regiões de clima tropical. O efeito do estresse hídrico pode estar diretamente relacionado com a superação da endodormência das gemas e/ou com a indução floral (DAVEMPORT, 1990).

A utilização do estresse hídrico para induzir a floração está relacionada com a redução do crescimento do sistema radicular, uma vez que esta redução pode afetar a síntese hormonal, alterando o seu balanço na planta (JACKSON, 1993). A paralisação e, ou a redução do sistema radicular causado pelo estresse hídrico tem favorecido o florescimento devido à baixa síntese de giberelinas, sendo estas entre todos os hormônios, que demonstraram influência direta sobre a floração (KRAJEWSKI; RABE, 1995).

A utilização de fitorreguladores que exercem efeitos semelhantes ao de estresse hídrico, capazes de retardar o crescimento e inibir a síntese de giberelinas tem despertado interesse na indução de florescimento.

O PBZ é um fitorregulador ativo na redução do crescimento de plantas. Age inibindo a síntese de giberelinas (RADEMACHER, 2000), a partir de aplicações por pulverização foliar (INTRIERI; SILVESTRONI; PONI, 1986) e via solo (REYNOLDS; WARDLE, 1990).

Desta forma, este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o comportamento da oliveira da cultivar Arbequina submetida à aplicação de paclobutrazol (PBZ) e déficit hídrico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Fazenda Experimental da EPAMIG, localizada no município de Maria da Fé, sul de Minas Gerais, Brasil. As plantas utilizadas foram mudas de um ano de idade, oriundas de propagação por estaquia, da cultivar Arbequina, plantadas em vasos de 10 L, contendo como substrato terra de subsolo e Pró-vaso[®] na proporção de 1:1.

Utilizou-se o esquema fatorial 4 x 4, sendo os tratamentos quatro doses de paclobutrazol (PBZ): 0; 0,5; 1,0 e 1,5 mL por planta e quatro épocas de déficit hídrico: plantas irrigadas, déficit hídrico de maio a junho, de junho a julho, de julho a agosto de 2009, distribuídos no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e quatro plantas por parcela. Para todas as épocas as plantas foram mantidas sob 60 dias em condições de déficit hídrico para os tratamentos com restrição de água.

A aplicação do paclobutrazol foi realizada via solo sendo as doses diluídas em 500 mL de água. Em todas as parcelas experimentais foram aplicados via pulverização, adubação de macro e micronutrientes (excluídos os meses de maio, junho, julho e agosto de 2009) e realizados os tratamentos contra pragas e doenças necessários.

Os vasos foram cobertos com sacos plásticos para evitar a perda de água. Foram instalados tensiômetros analógicos na profundidade de 20 cm para monitorar a umidade e o déficit hídrico no substrato estabelecido nos diferentes tratamentos cujos dados estão apresentados no Gráfico 14.

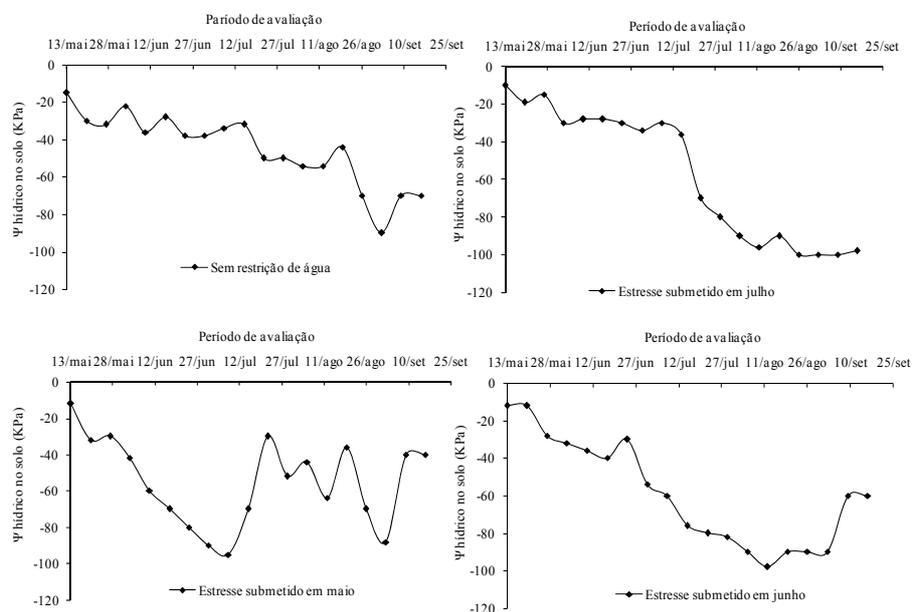


Gráfico 12 Potencial hídrico do solo, na profundidade 20 cm, nos vasos com oliveiras submetidas à restrição hídrica, e aplicação de PBZ, em função do período de avaliação.

Ao final de cada época de déficit hídrico foi medido o potencial hídrico foliar para verificar a intensidade do estresse submetido às plantas. A determinação do potencial hídrico nas folhas foi feita pela manhã, por meio da bomba de pressão (Scholander). As folhas a serem avaliadas foram removidas na porção mediana das plantas, antes do amanhecer, (entre 5h:00 e 5h:30 da manhã) situada entre o pecíolo e a lâmina foliar, e foram avaliadas imediatamente após sua remoção.

Os dados de potencial hídrico obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial. A escolha dos modelos foi baseada nos testes de significância dos parâmetros e do coeficiente de regressão, utilizando-se o teste 't' a 5% de probabilidade de erro.

As variações de temperatura e de umidade relativa (Gráficos 13 e 14), durante o período experimental, foram monitoradas utilizando um termohigrômetro instalado no interior da casa-de-vegetação.

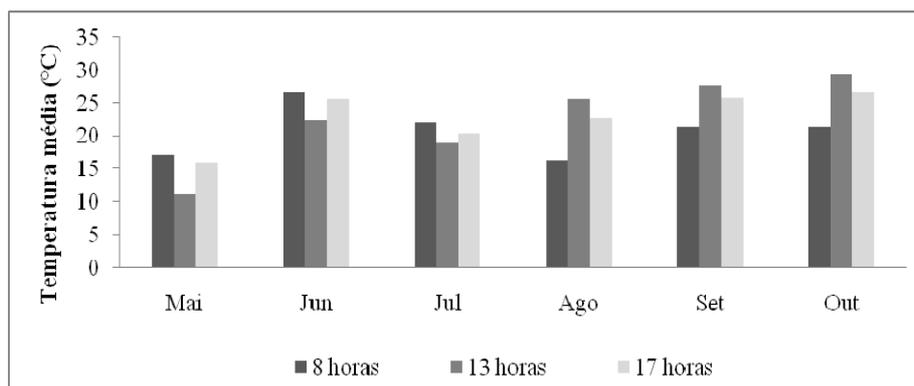


Gráfico 13 Médias mensais de temperatura, registradas em Casa de Vegetação no período de Maio a Outubro de 2009

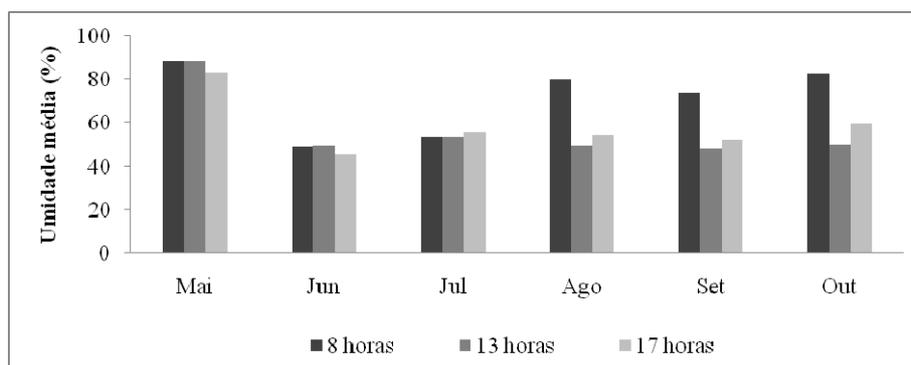


Gráfico 14 Médias mensais de umidade relativa do ar, registradas em Casa de Vegetação no período de Maio a Outubro de 2009

O teor relativo de clorofila foi determinado a partir de análises realizadas em laboratório de acordo com a metodologia proposta por Engel e Poggiani (1991). As folhas para análise do teor de clorofila foram coletadas em agosto de 2009, colocadas em sacos de papel e encaminhadas para laboratório do departamento de Ciências de Alimentos (UFLA) para posteriores análises.

Para essa avaliação utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 sendo 4 doses de PBZ (0; 0,5; 1,0; 1,5 mL do i.a/planta) e dois regimes hídricos (plantas irrigadas e submetidas a 60 dias de déficit hídrico).

O software utilizado para as análises estatísticas foi o Sisvar (FERREIRA, 2000) sendo realizada ANAVA e o estudo das médias com o teste de Skott-knott à 5% de probabilidade de erro, bem como estudos de regressão.

A avaliação do desenvolvimento das plantas, número de brotações (expressos por número de brotos/100 nós) e comprimento de entrenós (cm), foi realizada 30 dias após o término de cada período de déficit hídrico.

O estudo anatômico foi realizado em duas coletas distintas sendo nos meses de agosto e setembro, utilizando-se folhas totalmente expandidas que foram retiradas do terço superior de plantas de cada tratamento, seguindo a mesma orientação cardinal. Após a coleta, as folhas foram fixadas em etanol 70% e armazenadas em vidros para posterior análise.

Utilizou-se para estudo anatômico delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2, sendo 4 doses de PBZ (0; 0,5; 1,0; 1,5 mL/planta) e dois regimes hídricos (plantas irrigadas e submetidas a 60 dias de déficit hídrico).

Para as avaliações relativas à caracterização dos estômatos: diâmetro polar e equatorial, densidade estomática (nº. por mm²) e funcionalidade foram feitos cortes paradérmicos manuais, utilizando-se uma lâmina Gillette®. Os cortes foram realizados na região mediana das folhas na epiderme da face abaxial, montados em lâmina contendo solução de safranina (1%) em água glicerinada.

Os cortes transversais foram obtidos através do uso de micrótomo manual sendo realizados em folhas de oliveira de cada tratamento. Avaliou-se

para esses cortes: espessura da epiderme abaxial e adaxial, espessura do mesofilo, espessura do parênquima paliçádico e esponjoso.

As fotomicrografias foram realizadas, utilizando-se um fotomicroscópio Olympus BX-60[®], existente no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Foram obtidas três fotos de cada repetição.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Potencial hídrico Foliar

Segundo a análise de variância houve efeito significativo da interação entre as doses de PBZ e épocas de déficit hídrico para o potencial hídrico foliar bem como interação entre épocas de déficit hídrico e épocas de avaliação (Anexo F).

Para as plantas que foram mantidas sem restrição hídrica ocorreu, redução do potencial hídrico em função das doses de PBZ (Gráfico 15). O menor potencial atingido foi de $-1,85$ MPa pelas plantas irrigadas em função de doses de PBZ.

Esse decréscimo no potencial hídrico foliar, possivelmente, ocorreu em decorrência do estresse que pode ter sido proporcionado pela aplicação do PBZ. Pois a utilização de triazóis como o PBZ retardam o crescimento do sistema radicular o que pode ter limitado a absorção de água em função da menor densidade de radículas.

Lima Filho et al., (2003), relataram uma tendência de queda de potencial hídrico de manga 'Tommy Atkins' com o aumento das concentrações de PBZ.

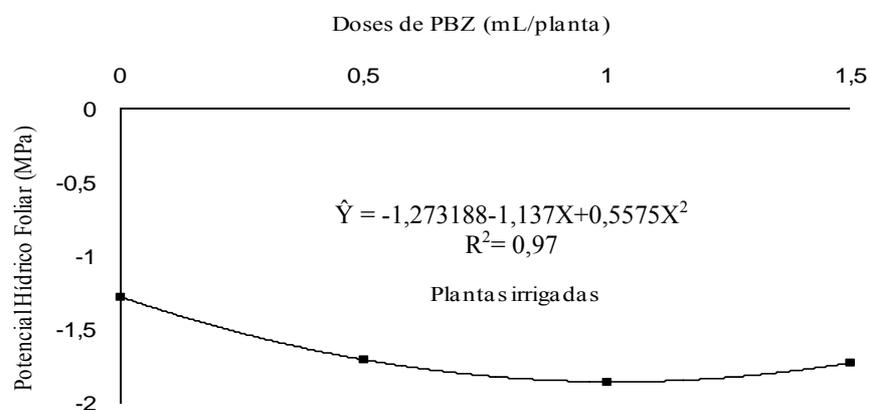


Gráfico 15 Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ sem restrição de água

Para as plantas submetidas à déficit hídrico no período de maio a junho (Gráfico 18) nota-se que os potenciais obtidos no início desse período aumentam até -1,80 MPa com aumento das doses de PBZ. A partir da dose de 0,82 mL/planta de PBZ os valores de potencial hídrico tendem a cair provavelmente em função de uma paralisação do crescimento dessas plantas com maiores doses dificultando a absorção de água por essas.

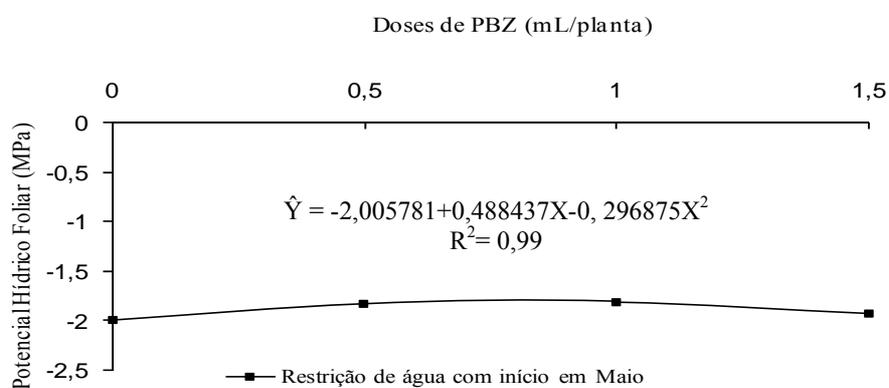


Gráfico 16 Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ com restrição de água no início de Maio

Quando o déficit hídrico foi submetido de junho a julho (Gráfico 17) as plantas atingem $-2,17$ MPa em função do aumento das doses de PBZ até $0,89$ ml/planta.

Essa diminuição dos valores de potencial hídrico foliar pode estar ligada a uma significativa diminuição nos valores de umidade relativa nos meses de junho e julho (Gráfico 14).

Segundo Marengo e Lopes (2006) a baixa umidade relativa e a transpiração excessiva causam diminuição no potencial hídrico foliar.

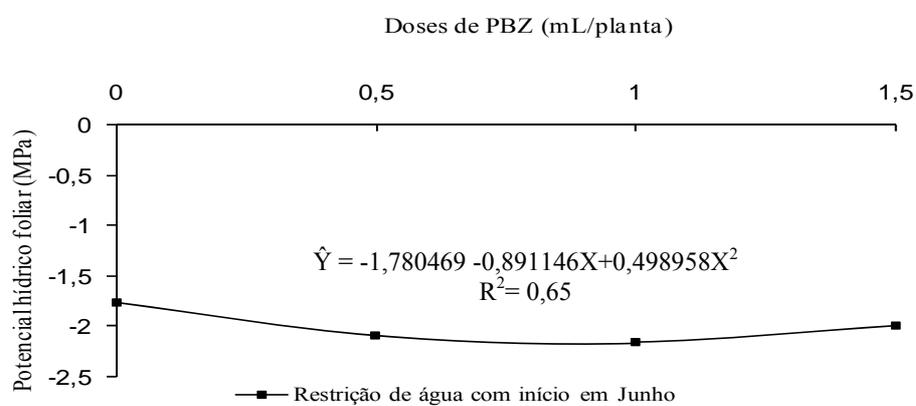


Gráfico 17 Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ com restrição de água no início de Junho

Comportamento linear, crescente, foi observado em plantas submetidas à déficit hídrico no período de julho a agosto com incremento de 12,57% em relação à testemunha (Gráfico 18).

O aumento de valores de potencial hídrico foliar em função do aumento das doses de PBZ sob condições de déficit hídrico no substrato pode estar ligado ao fechamento estomático.

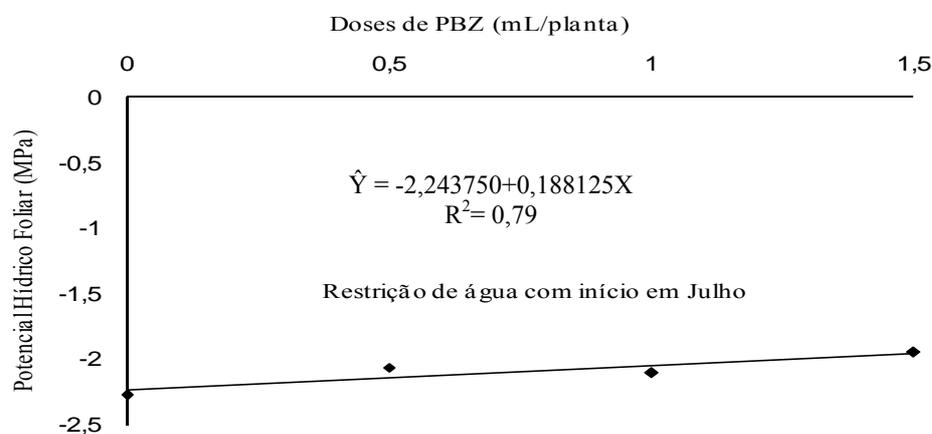


Gráfico 18 Potencial hídrico foliar de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de PBZ com restrição de água no início de Julho

Com relação ao desdobramento para a interação entre épocas do início de déficit hídrico dentro de cada época de avaliação, observou-se que as plantas irrigadas (Tabela 7) apresentaram menor potencial hídrico foliar aos 90 dias de avaliação, em agosto de 2009, atingindo -2,06 MPa. Esse resultado pode estar ligado às altas temperaturas (Gráfico/Figura 15) registradas nesse mês levando os valores de potencial hídrico diminuir em função de uma maior perda de água pelas plantas.

Plantas submetidas ao déficit hídrico no período de maio a junho (Tabela 7) o menor valor para potencial hídrico foliar foi de -2,59 MPa aos 60 dias de avaliação. Os baixos valores de potencial hídrico foliar nesse tratamento podem estar ligados a uma baixa nos valores de umidade relativa do ar (Figura 16) fazendo com que haja menores valores de potencial hídrico foliar.

Na avaliação realizada aos 90 dias, os menores valores de potencial hídrico foliar foram observados em plantas com déficit hídrico no período de junho a julho (-2,88 MPa) (Tabela 7). Os menores valores observados no

potencial hídrico foliar nessa época de avaliação podem ter ocorrido em função do aumento das temperaturas no mês de agosto, que proporcionou maior déficit hídrico no substrato (Gráfico 16), possivelmente em função da maior transpiração das plantas.

Comportamento semelhante foi observado na avaliação feita aos 120 dias, nas plantas submetidas ao déficit hídrico na época de julho a agosto (Tabela 7), com menores valores de potencial hídrico registrados. Com a elevação da temperatura observadas no Gráfico 17 no mês de setembro a perda de água pelas plantas torna-se mais intensa influenciando diretamente em valores de potencial hídrico foliar.

Tabela 7 Médias de potencial hídrico foliar (Ψ hídrico foliar) em diferentes épocas de avaliação, de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas ao déficit hídrico com início em diferentes épocas

Época do déficit hídrico	Épocas de avaliação (dias)*			
	0	60	90	120
Plantas irrigadas	-1,25 Aa	-1,66 Ab	-2,06 Bb	-1,56 Ab
Maio a junho	-1,58 Aa	-2,59 Ca	-2,01 Bb	-1,40 Ab
Junho a julho	-1,33 Aa	-2,25 Ba	-2,88 Ca	-1,46 Ab
Julho a agosto	-1,31 Aa	-1,82 Bb	-2,37 Cb	-3,00 Da
CV2 (%)	26,82			

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott.

Os resultados expressam uma íntima ligação da influência da temperatura e umidade relativa nos processos fisiológicos das plantas de oliveira. A taxa de transpiração é influenciada por esses dois fatores levando a um decréscimo nos valores de potencial hídrico foliar de plantas (BACELAR, 2006).

3.2 Teor de clorofila

Segundo a análise de variância (Anexo G) houve efeito significativo para teor relativo de clorofila para PBZ e déficit hídrico.

As análises de laboratório (Tabela 8) demonstram que os maiores resultados encontrados foram para as plantas sem déficit hídrico atingindo 319,70 mg/100g.

Tabela 8 Teor de clorofila em folhas de plantas de oliveira irrigadas e submetidas a déficit hídrico

Déficit hídrico	Teor de clorofila - laboratório* (mg/100g)
Com déficit hídrico	292,16 b
Plantas irrigadas	319,70 a
C.V (%)	18,21

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro, pelo teste F.

Segundo Smirnoff (1993), a diminuição do teor de clorofila é um sintoma típico de vários tipos de estresse podendo ser esse o resultado da degradação do pigmento, ou devido à deficiência de sua síntese, juntamente com as mudanças da estrutura da membrana tilacóide.

Bussis et al. (1998) indicaram que as folhas expostas ao déficit de água começam a degradar seu aparato fotossintético, possivelmente para mobilizar recursos para a produção de novas folhas modificadas.

Em trabalho realizado por Guerfel et al.; (2009) com duas cultivares de oliveira ‘Chemlali’ e ‘Chétoui’, quando submetidas a déficit hídrico, o conteúdo de clorofila reduziu significativamente em comparação ao tratamento controle.

Verifica-se através do Gráfico 19 que os teores de clorofila são influenciados pela aplicação de diferentes concentrações de PBZ.

À medida que as doses de PBZ aumentam há um aumento linear nos teores de clorofila (Gráfico 19) com incrementos de 50,97% em relação à testemunha.

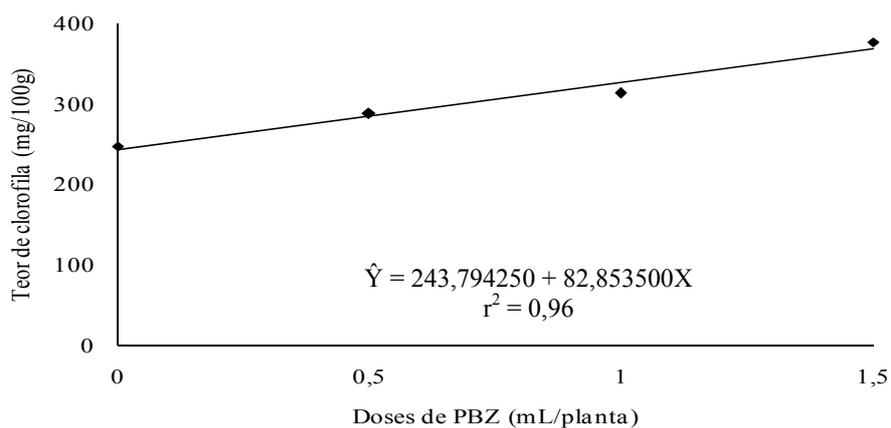


Gráfico 19 Teor de clorofila (mg/100g) de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes doses de paclobutrazol obtidas através de análise de laboratório

Esse comportamento pode estar ligado diretamente à influência na síntese e destruição desse pigmento, influenciando nos teores médios de clorofila obtidos em laboratório (SMIRNOFF, 1993).

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Fernandes (2004), que, estudando o crescimento do limoeiro 'Volkameriano' tratado com paclobutrazol, com concentrações de paclobutrazol aplicadas, indicando haver relação entre o PBZ e o teor de clorofila nas folhas do limoeiro 'Volkameriano'.

As alterações produzidas na ecofisiologia destas plantas resultam em mudanças de características fotossintéticas, como o aumento da intensidade da cor verde (KASELE; SHANAHAN; NIELSEN, 1995).

O conteúdo de clorofila do tecido está diretamente ligado à atividade fotossintética do mesmo (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

3.3 Número de Brotações e comprimento de entrenós

Para número de brotações houve efeito significativo somente com relação ao déficit hídrico (Anexo H). Para comprimento de entrenós a diferença foi observada apenas para doses de PBZ (Anexo H).

O déficit hídrico aplicado no período de julho a agosto promoveu o aumento no número de brotações vegetativas nas plantas (Tabela 9).

Possivelmente esse aumento no número de brotações avaliado aos 30 dias após o período de déficit hídrico (julho a agosto) foi em função de aumento da temperatura verificado no mês de setembro (Gráfico 17).

Os menores valores observados para as demais épocas de déficit hídrico provavelmente são em decorrência das menores temperaturas comparadas ao mês de setembro dificultando assim a capacidade de brotamento da planta.

Tabela 9 Número total de brotações vegetativas em plantas de oliveiras irrigadas e submetidas a diferentes períodos de déficit hídrico

Épocas de Déficit Hídrico	Número de brotações*
Plantas irrigadas	127,64 b
Déficit maio – junho	127,79 b
Déficit junho – julho	134,68 b
Déficit julho – agosto	200,78 a
C.V (%)	33,36

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Scott-Knott.

Em relação ao comprimento de entrenós, verifica-se (Gráfico 20) que à medida que foram aumentadas as concentrações de PBZ houve decréscimo linear no comprimento de entrenós de plantas de oliveira em torno de 36,89%, em relação a plantas sem a aplicação de PBZ.

Segundo Delgado et al. (1986), as concentrações de 5 e 10 g de PBZ por planta, via solo, diminuíram o comprimento de entrenós em tangerinas 'Frost Dancy' (*C. reticulata* Blanco).

A redução no comprimento de entrenós é a resposta morfológica mais conhecida causada pelo PBZ em caules de plantas (QUINLAN, 1981). Em citros, uma das utilizações de PBZ é no controle do crescimento excessivo das plantas (ARON et al., 1985).

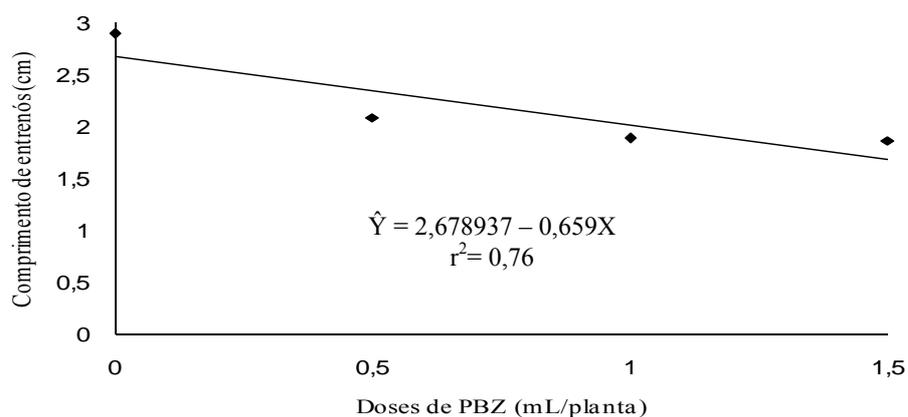


Gráfico 20 Comprimento de entrenós de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a diferentes concentrações de paclobutrazol

3.4 Características anatômicas

3.4.1 Coleta realizada em agosto – Cortes Paradérmicos

Segundo a análise de variância houve efeito significativo para déficit hídrico apenas para diâmetro equatorial (Anexo I). Para a interação entre PBZ e déficit hídrico houve diferença significativa para densidade estomática (Anexo I).

Segundo a Tabela 10, os menores valores encontrados para diâmetro equatorial de estômatos são observados em plantas com déficit hídrico atingindo cerca de 26,37 μm (Figura 3A).

Esse baixo valor de diâmetro equatorial de estômatos pode ser atribuído à menor disponibilidade de água nas plantas submetidas a déficit hídrico que apresentaram baixos valores de potencial hídrico foliar.

Os baixos valores de potencial hídrico foliar levam a um fechamento das células guarda dos estômatos no sentido equatorial provavelmente para a diminuição da perda de água evitando assim uma diminuição na transpiração.

Segundo Castro, Pereira e Paiva (2009) para sobreviver em ambientes de escassez de água a planta desenvolve mecanismos que sinalizam para abertura ou fechamento dos estômatos em determinadas situações.

Tabela 10 Diâmetro equatorial de estômatos de folhas de plantas de oliveira irrigadas e com déficit hídrico

Déficit de água	Diâmetro equatorial (μm)
Com déficit hídrico	26,37 b
Plantas irrigadas	27,93 a
C.V (%)	6,49

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de F.

Apenas plantas submetidas à aplicação de 0,5 mL/planta de PBZ (Tabela 11) houve diferença significativa. As plantas sob déficit hídrico apresentaram densidade estomática superior às plantas irrigadas.

Segundo Fernández et al. (2004) as características anatômicas são modificadas perante a aplicação de reguladores de crescimento, e ainda sob aplicação de déficit hídrico.

Fletcher e Hofstra (1988) relatam que a aplicação de tratamentos com triazóis aumenta o número de estômatos/área em plantas.

Segundo Castro, Pereira e Paiva (2009) a disponibilidade hídrica é um dos principais fatores que alteram e modificam as estruturas anatômicas em folhas.

Tabela 11 Densidade estomática (DE) em folhas de plantas de oliveira irrigadas e submetidas ao déficit hídrico

Déficit hídrico	Densidade estomática (n ^o /mm ²)			
	Doses de PBZ (mg L ⁻¹)			
	0	0,5	1,0	1,5
Com déficit hídrico	0,39 a	0,46 a	0,39 a	0,42 a
Plantas irrigadas	0,45 a	0,39 b	0,41 a	0,40 a
CV (%)	12,04			

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de F à p<0,05.

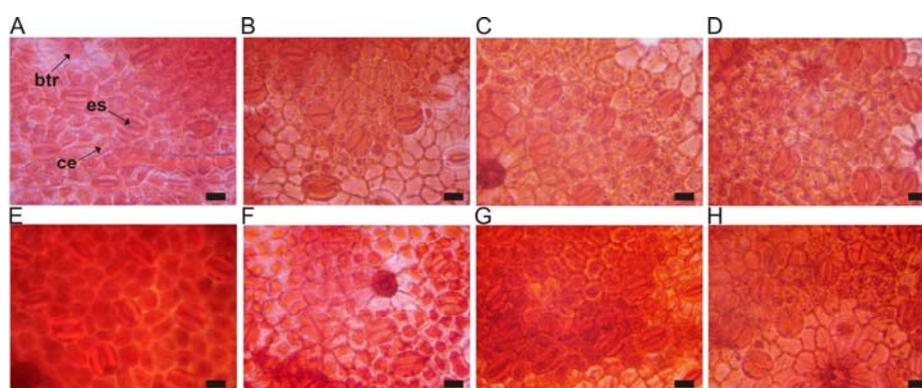


Figura 3 Secções paradérmicas de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B - Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Legenda: btr = base do tricoma; es = estômato; ce = células epidérmicas. Barras = 50 µm

3.4.2 Coleta realizada em setembro – Cortes Paradérmicos

Para coletas realizadas em setembro de 2009, segundo a análise de variância (Anexo K) houve diferença significativa para interação entre déficit hídrico e doses de PBZ para a densidade estomática e índice estomático em plantas de oliveira.

Foi observado aumento linear na densidade estomática de plantas sob déficit hídrico à medida que foram aumentadas as doses de PBZ, com incrementos de 19,57% em relação à testemunha (Gráfico 22) (Figura 4F).

Segundo Castro, Pereira e Paiva (2009) sob déficit de água a densidade estomática pode aumentar e possuir o ostíolo com células pequenas, fatores esses que também diminuem a área efetivamente disponível para a transpiração.

O aumento dos valores de densidade estomática pode estar ligado também ao aumento das doses de PBZ. Em geral a aplicação de PBZ induz uma série de adaptações morfológicas incluindo aumento de densidade estomática (FERNÁNDEZ et al., 2004).

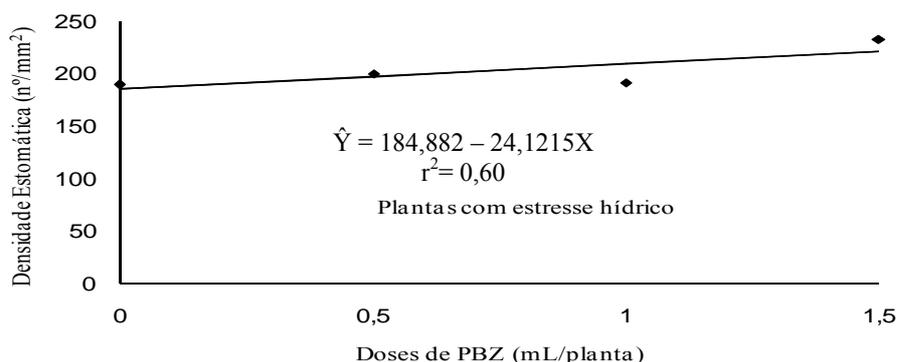


Gráfico 21 Densidade estomática em folhas de plantas de oliveira submetidas a déficit hídrico em função das doses de paclobutrazol

Para análise de desdobramento em função de doses de PBZ observa-se diferença significativa (Tabela 12) apenas em plantas submetidas a aplicação de 1,0 mL de PBZ por planta apresentando os maiores valores de densidade de estômatos em plantas irrigadas atingindo 239,43 estômatos/mm².

Tabela 12 Densidade estomática em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e irrigadas

Déficit hídrico	Densidade estomática (n ^o /mm ²)			
	Doses de PBZ (mg L ⁻¹)			
	0	0,5	1,0	1,5
Com déficit hídrico	189,02 a	189,82 a	190,82 b	232,22 a
Plantas irrigadas	216,02 a	230,42 a	239,43 a	194,42 a
CV (%)	12,58			

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de F à p<0,05.

Esses resultados expressam modificações que ocorreram na anatomia de plantas afetadas por aplicação de fitorreguladores, como o PBZ e também sob déficit de água.

Verifica-se (Gráfico 22) que houve aumento linear em função do aumento das doses de PBZ em plantas sob déficit hídrico, atingindo 26,38%, em relação à testemunha.

Esse comportamento indica que as plantas apresentaram alterações na sua estrutura foliar para maximizar a atividade fotossintética em função da restrição de água e aplicação de doses de PBZ.

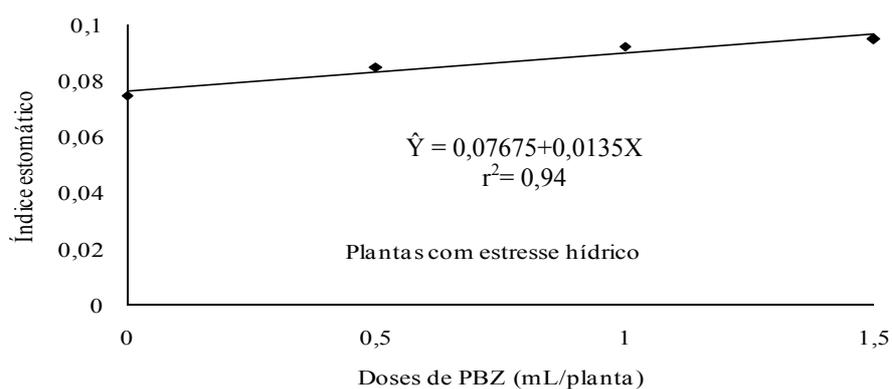


Gráfico 22 Índice estomático de folhas de plantas de oliveira da cv. Arbequina submetidas a déficit hídrico em função das doses de paclobutrazol

A análise de desdobramento para variável índice estomático em função das doses de PBZ está apresentada na Tabela 13. Verifica-se que não houve diferença significativa para IE em folhas de oliveira aplicadas com doses 0,5 e 1,0 mL de PBZ para plantas com déficit de água e irrigadas. Para plantas que receberam a dose de 1,5 mL de PBZ houve diferença significativa, sendo observado nas plantas submetidas ao déficit hídrico os maiores valores. Esses resultados estão ligados a modificações anatômicas em plantas de oliveira sob condições de estresse influenciadas pela restrição de água.

Em plantas que não tiveram a aplicação de PBZ (Tabela 13) houve diferença significativa. As plantas irrigadas apresentaram valores de 0,09 e as sob déficit hídrico 0,07. Esses menores valores obtidos nessas plantas podem estar ligados a déficit hídrico aplicado, pois segundo Lambers, Chapin e Pons (1998) sob estresse hídrico as plantas podem alterar as características anatômicas.

Tabela 13 Índice estomático (IE) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e irrigadas

Déficit hídrico	Índice estomático			
	Doses de PBZ (mg L ⁻¹)			
	0	0,5	1,0	1,5
Com déficit hídrico	0,07 b	0,08 a	0,09 a	0,09 a
Plantas irrigadas	0,09 a	0,09 a	0,08 a	0,07 b
CV (%)	10,87			

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de F à $p < 0,05$.

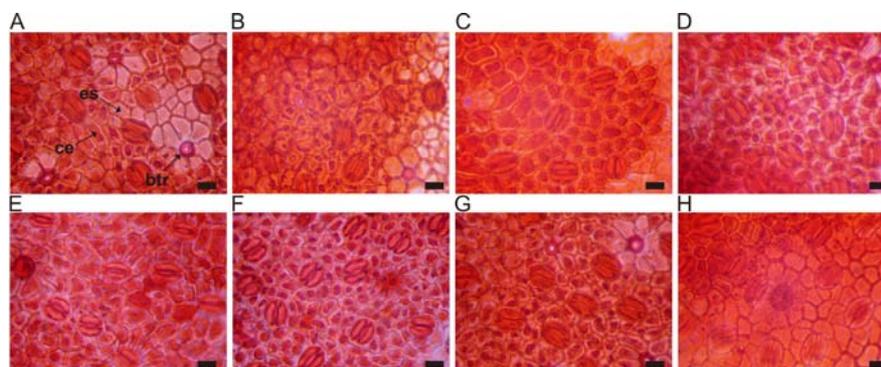


Figura 4 Secções paradérmicas de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B – Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Legenda: es = estômato; ce = células epidérmicas; btr = base do tricoma. Barras = 50 µm

3.4.3 Coleta realizada em agosto – Cortes transversais

Para coletas realizadas em agosto de 2009, segundo a análise de variância houve efeito significativo de déficit hídrico para as variáveis, espessura da epiderme adaxial e espessura de parênquima paliçádico. Para espessura da epiderme abaxial foi observada interação entre as doses de PBZ e déficit hídrico (Anexo L).

Para a espessura da epiderme adaxial foi observado que as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram menores valores, comparadas à espessura da epiderme adaxial das plantas que foram irrigadas (Figura 5A). Já para parênquima paliçádico o contrário foi verificado atingindo 254,84 µm em plantas irrigadas (Tabela 14).

Os aumentos verificados na espessura do parênquima paliçádico estão ligados a condição imposta no tratamento de restrição de água. Segundo Esau

(1960) a deficiência de água resulta em maior desenvolvimento do parênquima paliçádico apresentando um caráter dito como xeromorfo.

Tabela 14 Espessura da epiderme adaxial (EAD) e espessura de parênquima paliçádico (EPP) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico

Déficit hídrico	*EAD (μm)	*EPP (μm)
Com déficit hídrico	21,10 b	274,34 a
Plantas irrigadas	24,52 a	254,84 b
CV (%)	10,75	7,68

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de F à $p < 0,05$.

Comparando-se espessura da epiderme abaxial entre as doses de PBZ e o déficit hídrico, verificou-se que plantas que não receberam aplicação de PBZ e as que receberam a dose de 0,5 mL de PBZ por planta diferiram entre si (Tabela 15). Os menores valores foram observados nas plantas sob déficit hídrico para ambas as doses (0 e 0,5 ml/planta) (Tabela 15).

As plantas em condições de baixa disponibilidade de água apresentam folhas mais compactas e pequenas, com áreas menores, possuem menor área de exposição ao calor, regulando a temperatura média da folha (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Tabela 15 Espessura da epiderme abaxial (EAB) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e diferentes doses de PBZ

Déficit hídrico	EAB (μm)			
	Doses de PBZ (mg L^{-1})			
	0	0,5	1,0	1,5
Com déficit hídrico	23,30 b	22,33 b	26,26 a	25,60 a
Plantas irrigadas	27,20 a	29,05 a	26,78 a	26,93 a
CV (%)	6,35			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si na coluna pelo teste de Tukey à $p < 0,05$.

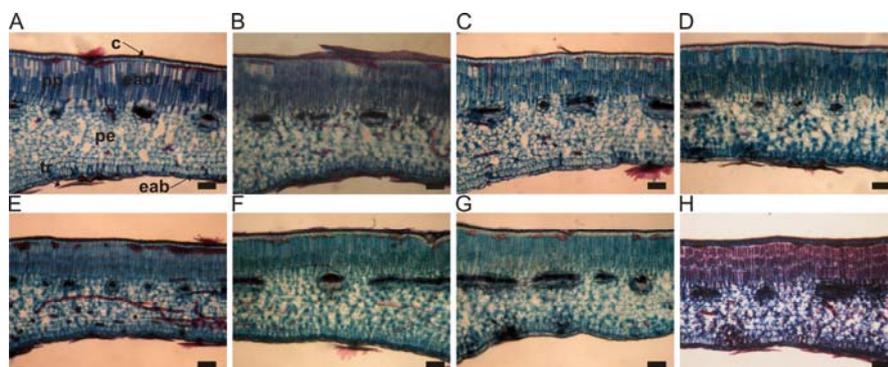


Figura 5 Secções transversais de mesofilo de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B - Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Barras = 50 μm

3.4.4 Coleta realizada em setembro – Cortes transversais

Verifica-se pela análise de variância diferença significativa para espessura da epiderme abaxial em plantas sob déficit hídrico. Para espessura da epiderme adaxial foi observada interação significativa entre as doses de PBZ e déficit hídrico (Anexo M).

Para plantas sob déficit hídrico os valores da espessura da epiderme abaxial foram menores comparados as plantas irrigadas (Tabela 16).

Tabela 16 Espessura da epiderme abaxial (EAB) em folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico

Déficit hídrico	*EAB (μm)
Com déficit hídrico	24,48 b
Sem déficit hídrico	28,22 a
CV (%)	9,93

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey à $p < 0,05$.

Comparando-se a espessura da epiderme adaxial entre as doses de PBZ e déficit hídrico foi observado diferença significativa apenas em plantas sem aplicação de PBZ, com menores valores observados em plantas sob déficit hídrico (Tabela 17) (Figura 6A).

Tabela 17 Espessura da epiderme adaxial (EAD) abaxial de folhas de oliveira submetidas ao déficit hídrico e diferentes doses de PBZ

Déficit hídrico	EAB (μm)			
	Doses de PBZ (mg L^{-1})			
	0	0,5	1,0	1,5
Com déficit hídrico	17,93 b	22,93 a	24,11 a	20,86 a
Plantas irrigadas	24,03 a	22,89 a	23,93 a	23,78 a
CV (%)	6,36			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si na coluna pelo teste F à $p < 0,05$.

Essa diminuição na espessura da epiderme adaxial em plantas submetidas a déficit hídrico revela uma modificação importante na estrutura foliar. Em trabalhos realizados por Artemios, Bosaballidis e Kofidis (2002) resultados similares foram encontrados em plantas de duas cultivares de oliveira, ‘Mastoidis’ e ‘Koroneiki’, onde houve decréscimo no tamanho da epiderme.

Oertli, Lips e Agami (1990) relata que o tamanho reduzido da epiderme contribui com uma significativa resistência ao colapso celular.

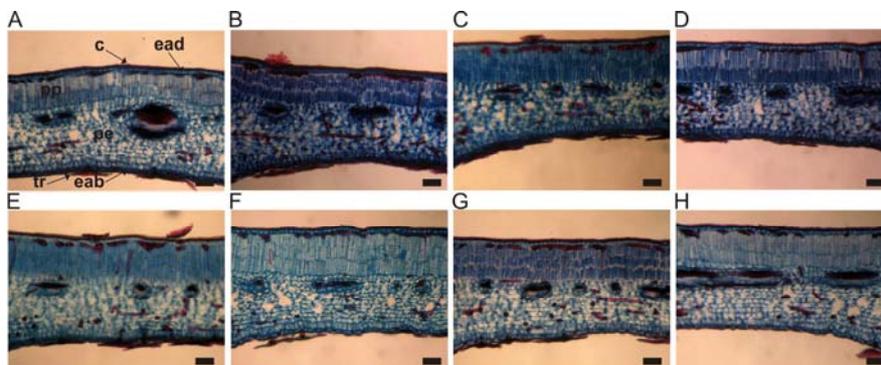


Figura 6 Secções transversais de mesofilo de folhas de oliveira cv. Arbequina em diferentes condições hídricas e aplicação de PBZ. A – Plantas com déficit de água sem aplicação de PBZ; B - Déficit de água e 0,5 de PBZ; C – Déficit de água e 1,0 de PBZ; D – Déficit de água e 1,5 de PBZ; E – Irrigadas sem aplicação de PBZ; F – Irrigadas e 0,5 de PBZ; G – Irrigadas e 1,0 de PBZ e G – Irrigadas e 1,5 de PBZ. Barras = 50 μ m

4 CONCLUSÕES

O potencial hídrico foliar das plantas submetidas ao mesmo período de déficit hídrico é menor em épocas que ocorrem maiores temperaturas.

O aumento das doses de PBZ diminui os valores de potencial hídrico foliar, e reduz os valores de comprimento de entrenós.

Plantas submetidas a déficit hídrico de julho a agosto apresentam maior número de brotações.

O teor de clorofila diminui em plantas submetidas a déficit hídrico e aumenta em plantas tratadas com PBZ.

Plantas tratadas com PBZ e déficit hídrico respondem com modificações anatômicas em sua estrutura interna.

REFERÊNCIAS

- ARON, Y. et al. Chemical control of vegetative growth in citrus trees by paclobutrazol. **Hortscience**, Alexandria, v. 20, n. 1, p. 96-98, Jan. 1985.
- ARTEMIOS, M.; BOSABALLIDIS, A.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. **Plant Science**, Shannon, v. 163, n. 2, p. 375-379, Aug. 2002.
- BACELAR, E. L. V. A. **Ecophysiological responses of olive (*Olea europaea* L.) to restricted water availability: limitations, damages and drought resistance mechanisms**. 2006. 149 p. Tese (Doutorado em Engenharia Biológica) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro Vila Real, Vila Real, 2006.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.
- DAVEMPORT, T. L. Citrus flowering. **Horticultural Reviews**, New York, v. 12, n. 3, p. 349-408, June 1990.
- DELGADO, R. et al. Paclobutrazol effects on mandarin under tropical conditions. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 179, n. 158, p. 545-548, July 1986.
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 2, p. 39-45, jun. 1991.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Blucher, 1960. 312 p.
- FERNANDES, A. R. **Crescimento do limoeiro 'Volkameriano' tratado com paclobutrazol e ácido giberélico**. 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.
- FERNANDES, J. A. et al. Induction of drought tolerance by paclobutrazol and irrigation deficit in *Phillyrea angustifolia* during the nursery period. **Scientia Horticulturae**, The Hague, v. 107, n. 3, p. 277-283, June 2004.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR Sistema para Análise de Variância para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FLETCHER, R. A.; HOFSTRA, G. Triazoles as potential plant protectants. In: BERG, D.; PLEMPLE, M. (Ed.). **Sterol biosynthesis inhibitors**. Cambridge: E. Horwood, 1988. p. 321-331.

GUERFEL, M. et al. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae Science Biotechnology**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 257-263, Feb. 2009.

INTRIERI, C.; SILVESTRONI, O.; PONI, S. Preliminary experiments on paclobutrazol effects on potted grapevines (*V. vinifera*, cv. Trebbiano). **Acta Horticulturae**, Bologna, v. 179, n. 2, p. 589-592, 1986.

JACSON, M. B. Are plants hormones involved in root to shoot communication? In: CALLOW, A. J. (Ed.). **Advanced in botanical research**. New York: Academic, 1993. p. 103-187.

KASELE, I. N.; SHANAHAN, J. F.; NIELSEN, D. C. Impact of growth retardants on corn leaf morphology and gas exchange traits. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 190-194, Jan. 1995.

KRAJEWSKI, A. J.; RABE, E. Citrus flowering: a critical evaluation. **Journal of Horticultural Science**, London, v. 70, n. 3, p. 357-375, Oct. 1995.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant physiological ecology**. New York: Springer-Verlag, 1998. 540 p.

LIMA FILHO, J. M. P. et al. Consequências da aplicação do paclobutrazol sobre o sistema radicular e comportamento hídrico da mangueira. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL, 49., 2003, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2003. p. 81.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal**: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa, MG: UFV, 2005. 451 p.

OERTLI, J. J.; LIPS, S. H.; AGAMI, M. The strenght of sclerophyllous cells to resist collapse due to negative turgor pressure. **Acta Oecology**, Berlin, v. 1, n. 1, p. 281-289, May 1990.

QUINLAN, J. D. New chemical approaches to control of fruit tree form and size. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 120, n. 61, p. 95-106, Dec. 1981.

RADEMACHER, W. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Oxford, v. 51, p. 501-531, Nov. 2000.

REYBOLDS, A. G.; WARDLE, D. A. Vegetative growth suppression by paclobutrazol in greenhouse-grown 'Pinot Noir' grapevines. **HortScience**, Amsterdam, v. 25, n. 10, p. 1250-1254, Oct. 1990.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 125, n. 1, p. 27-58, Sept. 1993.

**CAPÍTULO 3: Desenvolvimento reprodutivo e caracterização anatômica
em oliveira submetida à aplicação de paclobutrazol**

RESUMO

O paclobutrazol (PBZ) atua inibindo a biossíntese de giberelinas, sendo usado para retardar o crescimento vegetativo em grande número de culturas. Além disso, pode ser considerado eficiente em estimular a floração devido a sua ação no controle de hormônios endógenos que inibem o florescimento como as giberelinas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento reprodutivo, as características anatômicas e ecofisiológicas de mudas de oliveira da cultivar Arbequina mediante a aplicação de PBZ. O experimento foi conduzido em ambiente aberto com ocorrência de baixas temperaturas durante o inverno, na Estação Experimental da EPAMIG, de Maria da Fé, MG, no período de abril a outubro de 2009. As plantas foram obtidas a partir de estacas enraizadas da cultivar Arbequina, cultivadas em vasos de 10 litros, contendo como substrato terra de subsolo e Pró-vaso[®] na proporção de 1:1. Foram testadas cinco doses de paclobutrazol: 0; 2,0; 4,0; 8,0 e 12,0 g por planta, os tratamentos foram distribuídos no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e duas plantas por parcela. A aplicação dos tratamentos foi realizada quando as plantas estavam com três anos de idade, onde cada dose de PBZ foi diluída em 500 mL de água e aplicadas em meados de abril, via solo. A irrigação foi realizada uma vez por semana colocando 500 mL de água em cada vaso. Os vasos foram cobertos com sacos plásticos para evitar a perda de água. As variações de temperatura, máximas e mínimas, e de umidade relativa, durante o período experimental, foram registradas e obtidas pela estação meteorológica da Fazenda Experimental da Epamig de Maria da Fé. Avaliou-se potencial hídrico foliar, comprimento de entrenós, número de racimos florais, teor de clorofila, teor de carboidrato bem como a caracterização anatômica de folhas de oliveira. O potencial hídrico foliar de plantas de oliveira não variou em função das doses de PBZ. A aplicação do PBZ reduziu o comprimento de entrenós e proporcionou aumento no número de racimos florais. Os valores para carboidratos aumentam em função do aumento das doses de PBZ. As alterações anatômicas observadas nas folhas de oliveira quando submetidas a aplicação de PBZ foram para densidade estomática e diâmetro equatorial de estômatos.

Palavras chave: Indução floral. Giberelinas. Anatomia. Ecofisiologia.

ABSTRACT

Paclobutrazol (PBZ) acts by inhibiting gibberellin synthesis, its being used to delay the vegetative growth in a great number of crops. In addition, it can be regarded as efficient in stimulating flower set due to its action in the control of endogenous hormones which inhibit flowering as gibberellins. In this way, the objective of this work was evaluating the reproductive development, the anatomical and eco physiological characteristics of olive seedlings of cultivar Arbequina by means of the application of PBZ. The experiment was conducted in open air with the occurrence of low temperatures during the winter in the EPAMIG Experimental Station in Maria da Fé, MG in the period of April to October of 2009. The plants were obtained from rooted cuttings of cultivar Arbequina, cultivated in 10 liter pots, containing as a substrate subsoil earth and Pró-vaso[®] at the proportion of 1:1. Five doses of paclobutrazol: 0; 2.0; 4.0; 8.0 and 12.0 g per plant were tested, the treatments were distributed into the completely randomized design with four replicates and two plants per plot. The application of the treatments was done when the plants were three years old, where each dose of PBZ was diluted into 500 mL of water and applied in mid-April via soil. Irrigation was performed once a week placing 500 mL of water into each pot. The pots were covered with plastic bags to prevent water loss. The variations of temperature, maximal and minimal and of relative humidity during the experimental period were recorded and obtained by the Maria da Fé Epamig Experimental Farm weather station. The leaf water potential, internode length, number of floral racemes, chlorophyll content, carbohydrate content as well as the anatomical characterization of olive leaves were evaluated. The leaf water potential of olive plants did not range as a result from the doses of PBZ. The application of PBZ reduced internode length and provided increase in the number of floral racemes. The values for carbohydrates increased as a result from the increase of the doses of PBZ. The anatomical alterations found in the olive leaves when submitted to PBZ application were for stomatal density and equatorial diameter of stomata.

Key words: Floral induction. Gibberellins. Anatomy. Ecophysiology.

1 INTRODUÇÃO

As gemas presentes nas axilas foliares dos ramos podem diferenciar, dependendo dos estímulos recebidos, a gemas vegetativas ou floríferas. A mudança fisiológica que condiciona uma gema a formar flores é denominada indução floral, sendo um processo irreversível (RALLO, 1998). A indução floral na maioria das plantas envolve sensibilidade a fatores como comprimento do dia ou temperaturas, em algum órgão da planta (BERNIER; KINET; SACHS, 1991).

Em oliveira, a indução floral é provocada por temperaturas baixas adequadas (RALLO, 1998). As giberelinas parecem ser os hormônios mais ativos na regulação da floração de fruteiras; altos níveis de giberelinas estimulam o crescimento vegetativo e inibem a floração (DAVEMPORT; NUÑEZ-ELIZEA, 1997).

Os efeitos da aplicação do PBZ para estimular a floração de fruteiras, regulando o crescimento vegetativo e reduzindo o alongamento da brotação têm sido mencionados por vários pesquisadores em outras espécies (CHARNVICHIT et al., 1991; FERRARI; SERGENT, 1996; NUÑES-ELIZEA; DAVEMPORT, 1995). Sua ação é em função da inibição da biossíntese das giberelinas.

As informações disponíveis até agora sobre o efeito de triazóis na anatomia foliar das plantas ainda é escassa. Em trabalhos realizados por Kishorekumar et al. (2006) em folhas de batata tratadas com PBZ diversas variações anatômicas foram observadas tais como o aumento do número e comprimento dos estômatos. Fletcher e Hofstra (1988) relatam o fechamento estomático de plantas de feijão tratadas com triazóis.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de verificar o desenvolvimento reprodutivo, comportamento anatômico e ecofisiológico de mudas de oliveira da cultivar Arbequina submetida à aplicação de PBZ.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em vasos que foram mantidos em ambiente aberto, na Estação Experimental da EPAMIG, de Maria da Fé, MG, no período de abril a outubro de 2009. As mudas foram obtidas a partir de estacas enraizadas da cultivar Arbequina, cultivadas em vasos de 10 litros, contendo como substrato terra de subsolo e Pró-vaso[®] na proporção de 1:1. Foram testadas cinco doses de paclobutrazol: 0; 2,0; 4,0; 8,0 e 12,0 mL/planta, distribuídas no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e duas plantas por parcela.

A aplicação dos tratamentos foi realizada quando as plantas estavam com três anos de idade. As doses de PBZ foram diluídas em 500 mL de água e aplicadas em meados de abril via solo.

A irrigação foi realizada uma vez por semana colocando 500 mL de água em cada vaso. Os vasos foram cobertos com sacos plásticos para evitar a perda de água.

As variações de temperatura, máximas e mínimas, e de umidade relativa durante o período experimental, foram obtidas pela estação meteorológica da Fazenda Experimental da Epamig de Maria da Fé, MG, são apresentadas na Gráfico 23.

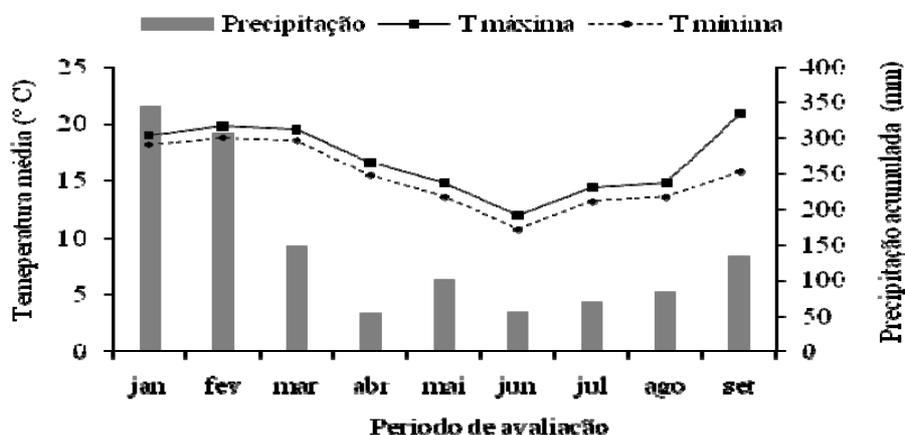


Gráfico 23 Médias de temperaturas, mínimas, máximas e precipitação, registradas em Maria da Fé, MG no período de janeiro de 2009 a setembro de 2009

Durante o período de avaliação foi medido o potencial hídrico foliar em três épocas distintas, antes da aplicação dos tratamentos, em julho e agosto de 2009 para verificar se durante o período experimental as plantas foram expostas ao déficit hídrico em decorrência da baixa incidência hídrica que geralmente ocorre na região, no período de inverno.

A determinação do potencial hídrico foliar foi realizada por meio da bomba de pressão (Scholander). As folhas coletadas para análise foram removidas, na porção mediana das plantas, antes do amanhecer, (entre 5h:00 e 5h:30 da manhã) situada entre o pecíolo e a lâmina foliar, e foram avaliadas imediatamente após sua remoção.

A avaliação do desenvolvimento reprodutivo, contagem do número de ráculos das plantas, foi realizada no mês agosto de 2009, aos 120 dias após a aplicação de PBZ, quando as plantas se encontravam em plena floração. Os resultados foram expressos em número de brotos e flores por 100 nós e o crescimento vegetativo, acompanhado a partir da caracterização referente à

comprimento de entrenós nas brotações emitidas, aos 120 dias após a aplicação dos tratamentos.

Para as determinações dos teores de carboidratos (açúcares totais, açúcares redutores e açúcares não-redutores) foram coletadas amostras de folhas referentes a cada tratamento, na época que as plantas estavam em plena floração. As análises foram realizadas no laboratório do Departamento de Ciências de Alimentos. As extrações foram realizadas pelo método alcoólico e a determinação segundo a técnica de Nelson (1944) e Somogy (1952).

Para avaliar as alterações anatômicas nas plantas em função da aplicação do PBZ foram coletadas amostras compostas por três folhas totalmente expandidas, coletadas do terço superior de três plantas de cada tratamento, seguindo a mesma orientação cardinal. Após a coleta, as folhas foram fixadas em etanol 70% e armazenadas em vidros para posterior análise anatômica.

As avaliações relativas à caracterização dos estômatos foram: densidade estomática (expressa pelo número de estômatos/mm²); diâmetro polar e equatorial; funcionalidade e índice estomático; medidas a partir de cortes paradermicos manuais, utilizando-se uma lâmina Gillette®. Os cortes foram realizados na região mediana das folhas na epiderme da face abaxial, montados em lâmina contendo solução de safranina (1%) em água glicerinada.

O índice estomático (IE,%) foi calculado com a utilização da seguinte fórmula: $IE (\%) = [NE/(NE+EM)] \times 100$, sendo NE o número de estômatos e EM o número de células da epiderme (Cutter, 1986). A funcionalidade é dada pela relação entre diâmetro polar e diâmetro equatorial (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Os cortes transversais foram feitos utilizando um micrótomo manual, realizados em três folhas de oliveira de cada tratamento avaliando-se: espessura do mesofilo, espessura de parênquima paliçádico e esponjoso; espessura de epiderme abaxial e adaxial.

As fotomicrografias foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se um fotomicroscópio Olympus BX-60[®]. Foram obtidas três fotos de cada repetição.

As medições nas fotos foram feitas pelo programa de análise de imagens UTHSCSA ImageTool (University of Texas, San Antonio, USA), utilizando-se calibrações feitas com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotomicrografias.

Os dados de potencial hídrico foliar, de crescimento e alterações anatômicas foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial. A escolha dos modelos foi baseada nos testes de significância dos parâmetros e do coeficiente de regressão, utilizando-se o teste 't' a 5% de probabilidade de erro.

Os parâmetros de natureza qualitativa foram comparados por meio de teste de médias, utilizando Skott-knott a 5% de probabilidade de erro. O software utilizado para as análises estatísticas foi o Sisvar (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Potencial hídrico foliar

Segundo a análise de variância para potencial hídrico foliar não houve diferença significativa para as épocas avaliadas e as doses de PBZ (Anexo N).

A aplicação das diferentes doses de PBZ não influenciou o potencial hídrico foliar de oliveira que mantiveram-se em torno de -1,09 MPa, durante todo o período experimental (Gráfica 24).

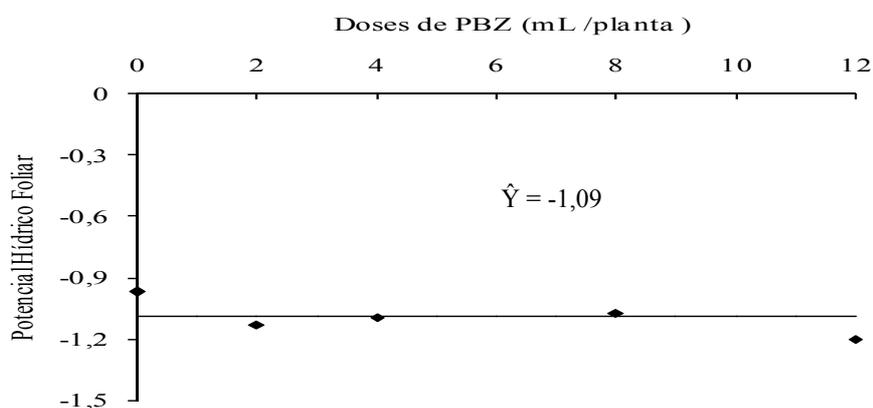


Gráfico 24 Potencial hídrico foliar em oliveira da cv. Arbequina submetidas à aplicação de PBZ

3.2 Comprimento de entrenós e número de rácimos

Quanto ao comprimento de entrenós, houve diferença significativa entre as doses de PBZ (Anexo O). Observa-se que à medida que foram aumentadas as doses, o comprimento de entrenós diminuiu linearmente, com decréscimo em torno de 32,91% em relação ao comprimento de entrenós das plantas que não receberam a aplicação de PBZ (Gráfico 25).

Vu e Yelenosky (1992) também observaram redução no comprimento de entrenós em plântulas de porta-enxertos de citros, que receberam aplicação de PBZ nas concentrações de 100 e 250 mg planta⁻¹.

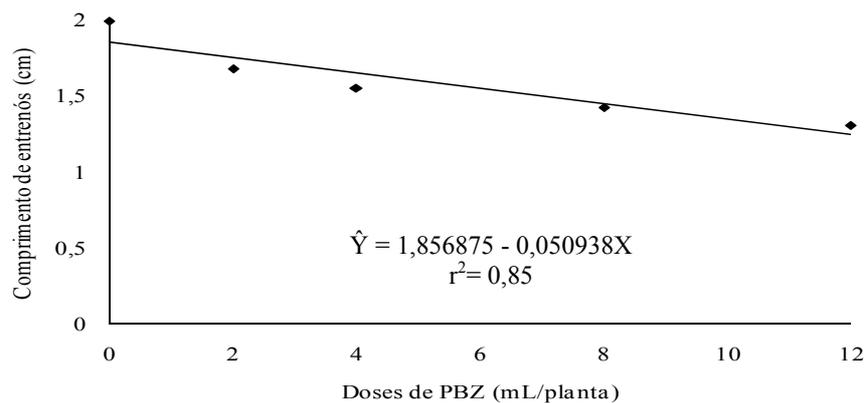


Gráfico 25 Comprimento de entrenós em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação de paclobutrazol

Para número de racimos florais houve diferença significativa para doses de PBZ (Anexo O). Os maiores valores observados foram em torno de 105,10 rácimos por 100 nós, sendo estimados com a dose de 6,95 mL de PBZ por planta (Figura 26). A partir desta dose o número de rácimos florais tende a diminuir.

O aumento do número de rácimos florais em plantas tratadas com PBZ está de acordo com vários autores que trabalhando com esse fitorregulador observaram um significativo aumento no florescimento de diferentes espécies de citros (ACOSTA et al., 1994; DELGADO; RODRIGUEZ; CASAMAYOR, 1995; IWAHORI; TOMINAGA, 1986; OGATA et al., 1995; OKUDA; KIHARA; IWAGAKI, 1996; SNOWBALL et al., 1994; YAMASHITA; KITAZONO; IWASAKI, 1997).

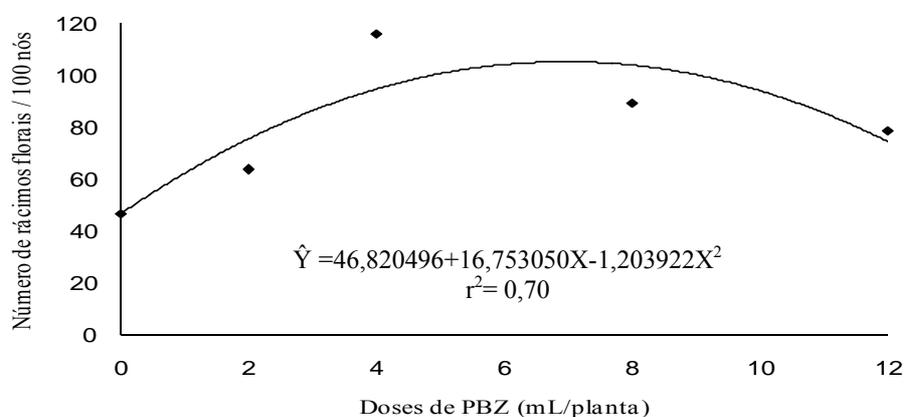


Gráfico 26 Número de ramos florais em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação de paclobutrazol

3.3 Carboidratos

Na avaliação dos teores de carboidratos foi observada diferenças significativas entre as doses de PBZ para os açúcares totais, açúcares redutores e açúcares não redutores (Anexo O).

Para os teores de açúcares totais nas folhas de oliveiras que receberam a dose de 12 mL de PBZ por planta foi verificado o aumento de 11,83% em relação ao conteúdo das plantas do tratamento testemunha (Gráfico 27).

A aplicação de paclobutrazol, além de alterar características fenotípicas da planta (florescimento, encurtamento dos entrenós), pode modificar a concentração de carboidratos na parte aérea (MEHOUACHI et al., 1996; OKUDA; KIHARA; IWAGAKI, 1996).

Essa modificação pode favorecer o processo de floração, pois os carboidratos exercem função importante em várias atividades vitais das plantas, entre elas o florescimento, apesar de ainda não ter sido esclarecida sua participação direta no processo. Entretanto, eles podem atuar como regulador na

floração ou agirem apenas como um suporte energético para que ocorra a indução floral (SPIEGEL-ROY; GOLDSCHMIDT, 1996).

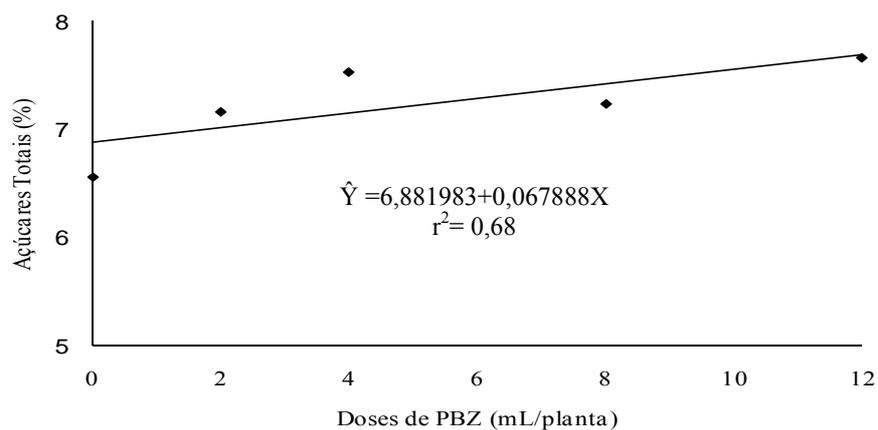


Gráfico 27 Teores de açúcares totais em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação paclobutrazol

Em relação aos teores de açúcares redutores, os maiores valores foram observados nas plantas tratadas com a dose de 7,3 ml/planta de PBZ, com cerca de 6,73% (Gráfico 28).

Esse comportamento pode justificar o maior número de ráculos florais nestas plantas (Gráfico 22), com maior quantidade de reservas.

Entretanto, os efeitos do paclobutrazol sobre os teores de carboidratos podem ser variáveis não só em função da dose aplicada, mas também em função da variedade e da resposta ao florescimento (CRUZ et al., 2007).

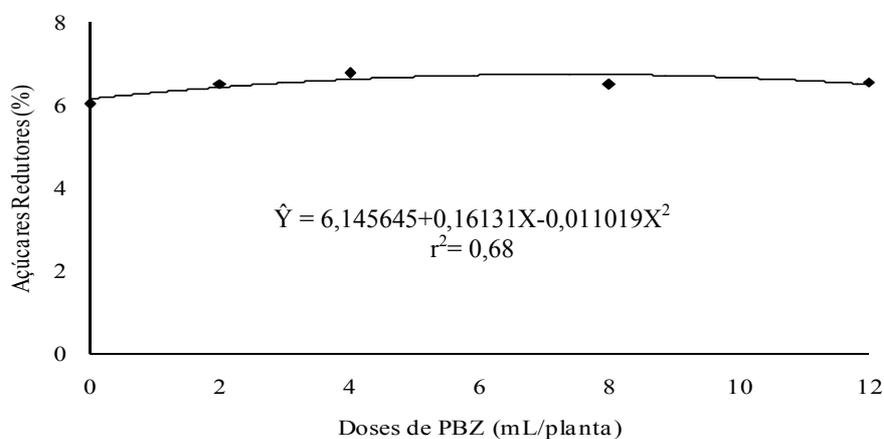


Gráfico 28 Teores de açúcares redutores em oliveira cv. Arbequina submetidas a aplicação de paclobutrazol

Para os teores de açúcares não redutores foi verificado crescimento linear com acréscimo à medida que foram aumentadas as doses de PBZ. Observou-se incremento em torno de 65,75% no conteúdo dos açúcares não redutores, em relação a testemunha (Figura 29).

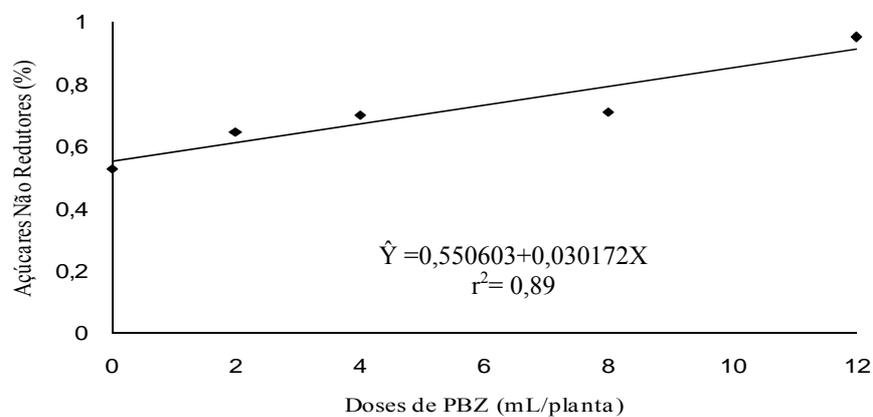


Gráfico 29 Teores de açúcares não redutores em oliveira cv. Arbequina submetidas à aplicação de paclobutrazol

A elevação da biossíntese de açúcares, o armazenamento e o fluxo de assimilados podem promover maior floração e frutificação em função da disponibilidade de carboidratos para as plantas (KALIL et al., 1999).

3.4 Características anatômicas

Segundo a análise de variância houve efeito significativo para doses de PBZ para as seguintes variáveis em cortes paradérmicos: densidade estomática e diâmetro equatorial de estômatos (Anexo P).

Para o diâmetro polar; funcionalidade dos estômatos, índice estomático (Anexo P), espessura do mesofilo, espessura de parênquima paliçádico e esponjoso; espessura de epiderme abaxial e adaxial (Anexo Q) não houve diferença significativa (Figura 7D).

Para a densidade estomática observou-se comportamento linear decrescente, com redução de 35,68% no número de estômatos por mm^2 à medida que se aumentaram as doses de PBZ em relação à testemunha (Gráfico 30).

Semelhante ao encontrado neste trabalho, Gopi, Jaleel e Panneerselvam (2008) trabalhando com aplicação de PBZ em plantas medicinais relataram que os triazóis causam incremento na densidade estomática quando comparado a plantas controle.

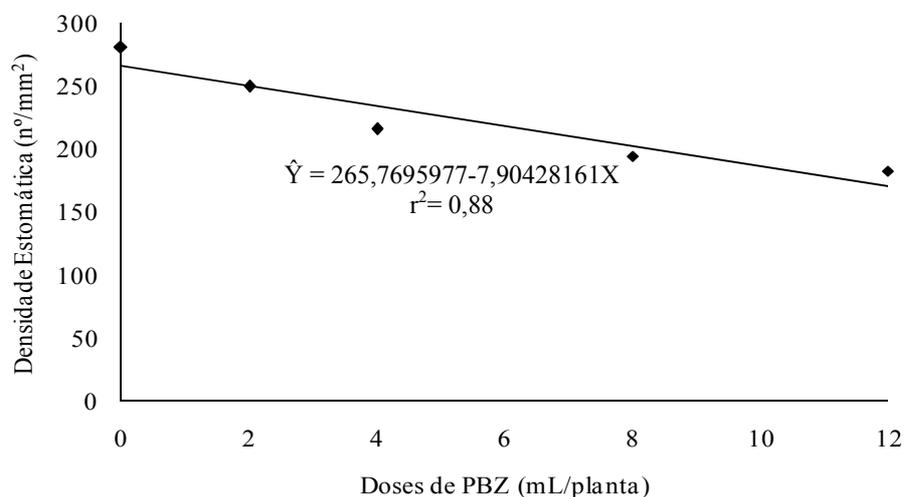


Gráfico 30 Densidade estomática em folhas de oliveiras submetidas à aplicação de paclobutrazol

Segundo Martins e Castro (1999) novas pesquisas realizadas demonstram que as mudanças estruturais ocorridas na planta estão associadas a mudanças metabólicas, ou então que o estado nutricional da planta tem importante efeito nas mudanças morfológicas induzidas por reguladores vegetais.

Quanto ao diâmetro equatorial de estômatos, os resultados demonstraram que houve comportamento quadrático em função de doses de PBZ (Gráfico 31).

Os valores dos diâmetros aumentam até a dose 8,79 mL/planta de PBZ indicando incremento em torno de 50,1% com 30,30 μm para diâmetro equatorial de estômatos. A partir desta dose (8,79 mL/planta de PBZ) os valores para diâmetro equatorial de estômatos tendem a cair.

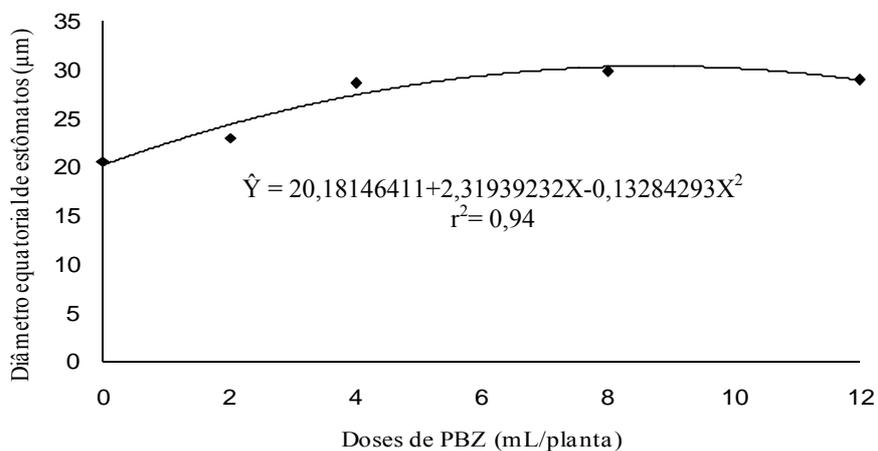


Gráfico 31 Diâmetro equatorial de estômatos em folhas de oliveiras submetidas à aplicação de PBZ

Esses resultados indicam que há correlação entre o comportamento fisiológico de plantas influenciado pelo manejo, (a aplicação de PBZ), ocorrendo alterações no número e no tamanho de estômatos. Estas modificações podem estar associada à ação do PBZ em atuar na redução do crescimento de plantas (FLETCHER et al., 2000), atuando em modificações em sua estrutura anatômica.

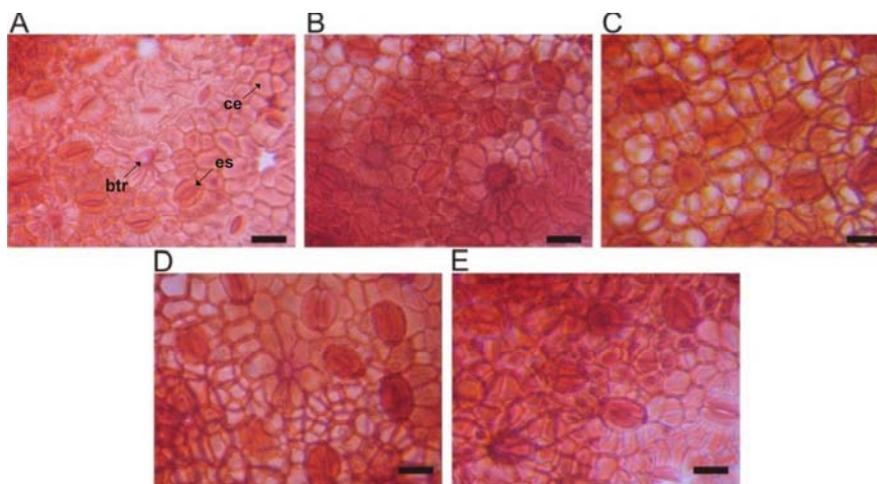


Figura 7 Secções parodérmicas de folhas de oliveira cv. Arbequina sob aplicação de PBZ. A – Plantas sem aplicação de PBZ; B – 2,0 mL de PBZ por planta; C – 4,0 mL de PBZ por planta; D – 8,0 mL de PBZ por planta; E – 12,0 mL de PBZ por planta; Barras= 50 µm

4 CONCLUSÕES

A aplicação de PBZ não afeta o potencial hídrico foliar de plantas de oliveira.

A aplicação do paclobutrazol reduz o comprimento de entrenós e aumenta o número de ráculos florais.

Doses crescentes de PBZ aumentam o teor de carboidrato.

A aplicação de PBZ reduz a densidade estomática e aumenta o diâmetro dos estômatos.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, J. F. et al. Effect of growth regulator applications on the juvenile period of Valencia oranges (*Citrus sinensis*). **Centro Agrícola**, Santa Clara, v. 21, n. 1, p. 51-56, 1994.
- BERNIER, G.; KINET, J. M.; SACHS, R. M. **Physiology of flowering**. Boca Raton: CRC, 1991. 59 p.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.
- CHARNVICHIT, S. et al. Effect of paclobutrazol on canopy size control and flowering of mango, cv Nam Dok Mai Twai n.º 4, after hard pruning. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 291, n. 1, p. 60-66, June 1991.
- CRUZ, M. C. M. et al. Teores de carboidratos em Limeiras Ácidas ‘Tahiti’ tratadas com paclobutrazol. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 222-227, ago. 2007.
- CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986. 304 p.
- DAVEMPORT, T. L.; NUÑEZ-ELISEA, R. Reproductive physiology. In: LITZ, R. E. (Ed.). **The Mango**. New York: R. Litz, 1997. p. 69-121.
- DELGADO, R.; RODRIGUEZ, R.; CASAMAYOR, R. Empleo de paclobutrazol em plantas de lima persa sobre naranjo trifoliado ‘Rubdoux’ a altas densidades. **Agrícola Vergel**, Buenos Aires, v. 14, n. 159, p. 121-125, 1995.
- FERRARI, D. F.; SERGENT, E. A. Promoción de la floración y frutificación en mango (*Mangifera indica*, L.) cv. Haden, com paclobutrazol. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracay, v. 22, n. 1/2, p. 9-17, 1996.
- FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR Sistema para Análise de Variância para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

- FLETCHER, R. A. et al. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. **Horticultural Reviews**, New York, v. 24, n. 4, p. 55-138, Jan. 2000.
- FLETCHER, R. A.; HOFSTRA, G. Triazoles as potential plant protectants. In: BERG, D.; PLEMPLE, M. (Ed.). **Sterol biosynthesis inhibitors**. Cambridge: E. Horwood, 1988. p. 321-331.
- GOPI, R.; JALEEL, C. A.; PANNEERSELVAM, R. Leaf anatomical responses of *Amorphophallus campanulatus* to triazoles fungicides. **EurAsian Journal of BioSciences**, Tamilnadu, v. 2, n. 4, p. 46-52, July 2008.
- IWAHORI, S.; TOMINAGA, S. Increase in first-flush flowering of 'Meiwa' kunquat, *Fortunella crassifolia* Swingle, trees by paclobutrazol. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 347-353, May 1986.
- KALIL, G. P. C. et al. Anelamento e ácido giberélico na frutificação da uva 'Maria' sem sementes. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 1-15, jul. 1999.
- KISHOREKUMAR, A. et al. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on the foliage characteristics of Chinese potato (*Solenostemon rotundifolius* Poir., J.K. Morton). **Acta Biologica Szegediensis**, Szeged, v. 50, n. 3/4, p. 127-129, 2006.
- MARTINS, M. B. G.; CASTRO, P. R. C. E. Reguladores vegetais e a anatomia da folha de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Ângela Gigante. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, p. 693-703, 1999.
- MEHOUACHI, J. et al. Effects of gibberellic acid and paclobutrazol on growth and carbohydrate accumulation in shoots and roots of citrus rootstock seedlings. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 71, n. 6, p. 747-754, Dec. 1996.
- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glicose. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 153, n. 3, p. 375-380, Feb. 1944.
- NUÑEZ-ELISEA, R.; DAVEMPORT, T. L. Flowering of "Keitt" mango in response to deblossoming and gibberelic acid. **Proceedings of Florida State Horticulturae Society**, Davis, v. 104, n. 6, p. 41-43, Oct. 1991.

OGATA, T. et al. Effects of gibberellin synthesis inhibitors on flower settings of Satsuma mandarin. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Sakyo-Ru, v. 64, n. 1, p. 251-259, 1995.

OKUDA, H.; KIHARA, T.; IWAGAKI, I. Effects of paclobutrazol application to soil at the beginning of maturation on sprouting, shoot growth, flowering and carbohydrate contents in roots and leaves of Satsuma mandarine. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 71, n. 1, p. 785-789, Mar. 1996.

RALLO, L. Fructificación y producción. In: BARRANCO, D.; FERNÁNDEZE, S.; RALLO, L. **El cultivo del olivo**. 2. ed. Junta de Andaluzia: Mundi, 1998. p. 129-161.

SNOWBALL, A. M. et al. Phase, change in citrus, the effects of main stem node number, branch habit and paclobutrazol application on flowering in citrus seedlings. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 69, n. 1, p. 149-160, 1994.

SOMOGY, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biology Chemistry**, Bethesda, v. 95, n. 1, p. 19-23, Mar. 1952.

SPIEGEL-ROY, P.; GOLDSCHMIDT, E. E. Reproductive physiology: flowering and fruiting. In: _____. **Biology of citrus**. Cambridge: Cambridge University, 1996. p. 70-125.

VU, J. C. V.; YELENOSKY, G. Growth and photosynthesis of sweet orange plants treated with Paclobutrazol. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 11, n. 2, p. 85-89, Feb. 1992.

YAMASHITA, K.; KITAZONO, K.; IWASAKI, S. Flower bud differentiation of Satsuma mandarin as promoted by soil drenching treatment with IAA, BA or paclobutrazol solution. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Sakyo-Ru, v. 66, n. 1, p. 67-76, Aug. 1997.

ANEXOS

Anexo A Resumo da análise de variância para potencial hídrico foliar (Ψ hídrico foliar)

FV	Quadrados Médios *	
	GL	(Ψ hídrico foliar)
Dias (D)	3	3,9243*
Cultivar (C)	1	0,6616*
D x C	3	0,1201
Erro 1	14	0,1106
Época (E)	3	5,3509
E x C	3	0,2209
E x D	9	1,8716*
E x C x D	9	0,1264
Erro 2	50	0,0836
CV 1 (%)	16,73	
CV 2 (%)	14,55	

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo B Resumo da análise de variância para altura de plantas (Altura), número de brotos, e diâmetro

FV	GL	Quadrados Médios *		
		Altura	Nº Brotos	Diâmetro
Cultivar (C)	1	0,2752*	391,6376	42,6666*
Restrição hídrica (R)	3	0,0281*	441,6542*	0,3333
C x R	3	0,0116	37,9279	1,0000
Erro	16	0,0107	147,8144	0,5833
CV		21,94	23,75	8,49

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo C Resumo da análise de variância para cortes paradérmicos: diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DEQ), densidade estomática (DE), funcionalidade (FE), índice estomático (IE)

FV	GL	Quadrados Médios *				
		DP	DEQ	DE	FE	IE
Cultivar (C)	1	57,85*	162,82*	345,78*	0,71*	0,0007*
Restrição hídrica (R)	3	32,09*	41,52*	528,01	0,07*	0,0008*
C x R	3	19,74	3,87	507,64	0,04	0,0003
Erro	112	6,97	7,33	251,93	0,01	0,0000
CV		7,59	9,26	12,39	9,65	7,94

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo D Resumo da análise de variância para cortes transversais: espessura da epiderme abaxial (EAB), espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura do mesofilo (EM), espessura da cutícula (EC), espessura parênquima paliçádico (EPP), espessura parênquima esponjoso (EPE)

FV	Quadrados Médios *						
	GL	EAB	EAD	EM	EC	EPP	EPE
Cultivar (C)	1	8,01*	5,99	6328,49*	9,52	776,51	17572,86*
Restrição hídrica (R)	3	28,54*	29,41*	1687,98	15,13*	401,93	2029,35
C x R	3	3,79	7,11	3089,41	5,04	962,76	6075,94*
Erro	32	1,38	3,66	1528,55	2,89	372,13	2058,97
CV		5,6	7,3	6,45	10,01	10,51	10,16

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo E Resumo da análise de variância para cortes transversais: proporção (P), número de vasos (NV), diâmetro do vaso (DV), espessura do floema (EFL) e índice de vulnerabilidade de Carlquist (IVC).

FV	Quadrados Médios *					
	GL	P	NV	DV	EFL	IVC
Cultivar (C)	1	0,003	152233,64	7,27	2682,22*	0,110
Restrição hídrica (R)	3	0,00090	2423,80	3,19	334,54	0,003
C x R	3	0,002	1441,92*	3,45	87,56	0,0019*
Erro	32	0,002	48,60	2,59	236,26	0,0001
CV		11,86	4,43	9,70	13,12	8,38

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo F Resumo da análise de variância para potencial hídrico foliar

FV	Quadrados Médios *	
	GL	(Ψ hídrico foliar)
PBZ (P)	3	0,2128
Déficit (D)	3	2,7163*
P x D	6	0,7120*
Erro 1	45	0,1933
Épocas (E)	3	10,6624*
E x D	9	4,1216*
E x P	6	0,3968
E x D x P	18	0,3886
Erro 2	163	0,2629
CV 1 (%)	22,99	
CV 2 (%)	26,82	

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo G Resumo da análise de variância para teor de clorofila obtido através de análises de laboratório

FV	Quadrados Médios *
GL	Teor de clorofila (Laboratório)
PBZ 3	23609,50*
Déficit (D) 1	6068,71*
P x D 3	2057,66
Erro 21	31,04
CV (%)	18,21

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo H Resumo da análise de variância para número de brotações e comprimento de entrenós

FV	Quadrados Médios *		
	GL	Número de Brotações	Comprimento de entrenós
PBZ (P)	3	3773,55	3,7734*
Déficit (D)	3	20188,81*	0,1020
P x D	9	1334,06	0,5030
Erro	48	2428,75	0,3563
CV (%)	33,36		27,32

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo I Resumo da análise de variância para cortes paradérmicos realizados em agosto: diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DEQ), densidade estomática (DE), funcionalidade (FE)

FV	Quadrados Médios *				
	GL	DP	DEQ	DE	FE
PBZ (P)	3	5,42	2,94	0,0012	0,00041
Déficit (D)	1	15,20	24,36*	0,000096	0,0049
P x D	3	8,40	5,03	0,0079*	0,0003
Erro	32	3,68	3,10	0,0025	0,0039
CV (%)		5,94	6,49	12,04	5,2

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo J Resumo da análise de variância para cortes paradérmicos realizados em setembro: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DEQ)

FV	Quadrados Médios *		
	GL	DP	DEQ
PBZ (P)	3	1,0758	0,6357
Déficit (D)	1	0,9905	1,0440
P x D	3	2,0711	4,6947
Erro	24	1,1898	2,4972
CV (%)	3,47		5,90

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo K Resumo da análise de variância para cortes paradérmicos realizados em setembro: densidade estomática (DE), índice estomático (IE) e funcionalidade

FV	Quadrados Médios *			
	GL	DE	IE	FE
PBZ (P)	3	293,83	0,000078	0,0054
Déficit (D)	1	2340,13	0,000003	0,0094
P x D	3	2858,30*	0,00038*	0,02032
Erro	21	708,68	0,000089	0,0076
CV (%)		12,59	10,87	7,39

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo L Resumo da análise de variância para cortes transversais realizados em agosto: espessura da epiderme abaxial (EAB), espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura do mesofilo (EMF), parênquima paliçádico (EPP) e espessura do parênquima esponjoso (EPE)

FV	Quadrados Médios *					
	GL	EAB	EAD	EMF	EPP	EPE
PBZ (P)	3	1,96	0,35	1395,12	183,97	169,00
Déficit(D)	1	58,30	70,30*	4482,66	2282,33*	682,66
P x D	3	111,77*	9,84	53,79	245,68	492,00
Erro	21	2,71	6,01	994,60	412,89	488,48
CV (%)		6,35	10,75	4,55	7,58	5,81

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo M Resumo da análise de variância para cortes transversais realizados em setembro: espessura da epiderme abaxial (EAB), espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura do mesofilo (EMF), espessura parênquima paliçádico e espessura parênquima esponjoso (EPE)

FV	Quadrados Médios *					
	GL	EAB	EAD	EMF	EPP	EPE
PBZ (P)	3	28,28	12,79	1528,61	986,61	968,33
Déficit(D)	1	111,72*	38,82	457,53	3,78	480,50
P x D	3	0,96	17,56*	526,61	891,28	252,16
Erro	21	6,85	4,54	1676,55	516,40	775,58
CV (%)		9,93	9,45	6,15	9,33	7,67

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo N Resumo da análise de variância para potencial hídrico foliar (Ψ hídrico foliar)

FV	Quadrados Médios *	
	GL	(Ψ hídrico foliar)
PBZ	4	0,085
Erro 1	12	0,1895
Época	2	0,1431
Época x PBZ	8	0,2468
Erro 2	30	0,1763
CV 1 (%)	39,78	
CV 2 (%)	38,38	

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo O Resumo da análise de variância para comprimento de entrenós (CE), número de ráculos florais (NRF), açúcares totais (AT), açúcares redutores (AR) e açúcares não redutores (ANR)

FV	Quadrados Médios*					
	GL	CE	NRF	AT	AR	ANR
PBZ	4	0,28*	2743,86*	0,73*	0,29*	0,09*
Erro	15	0,06	1400,06	0,13	0,06	0,07
CV (%)		16,27	47,34	4,98	3,96	18,47

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo P Resumo da análise de variância para cortes paradérmicos: densidade estomática (DE), diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DEQ), funcionalidade (FUN) e índice estomático (IE)

FV	Quadrados Médios*					
	GL	DE	DP	DEQ	FUN	IE
PBZ	4	491375,28*	37,06	5126,27*	0,0134	0,0001
Erro	15	743280,02	6,46	137,09	0,0080	0,0000
CV (%)		12,13	8,27	4,47	7,55	10,7

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.

Anexo Q Resumo da análise de variância para cortes transversais: espessura da epiderme abaxial (EAB), espessura da epiderme adaxial (EAD), espessura mesofilo (EM), espessura do parênquima paliçádico (EPP), espessura do parênquima esponjoso (EPE)

FV	Quadrados Médios*					
	GL	EAB	EAD	EM	EPP	EPE
PBZ	4	4,70	2,25	3092,47	1084,76	553,2
Erro	10	0,66	2,51	2975,39	642,30	409,0
CV (%)		6,09	8,86	12,08	14,30	9,29

* Significativo em 5% de probabilidade de erro.