

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABCSÍICO NO CRESCIMENTO,  
METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE  
*Calophyllum brasiliense* Cambess

LUCAS COUTINHO REIS

DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2018

DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABSCÍSIKO NO CRESCIMENTO,  
METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE  
*Calophyllum brasiliense* Cambess

LUCAS COUTINHO REIS  
Tecnólogo em Agroecologia

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Silvana de Paula Quintão Scalon

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Daiane Mugnol Dresch

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

R375d Reis, Lucas Coutinho

Déficit hídrico e ácido abscísico no crescimento, metabolismo fotossintético e antioxidante em mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess / Lucas Coutinho Reis -- Dourados: UFGD, 2018.

70f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Silvana de Paula Quintão Scalon

Co-orientadora: Daiane Mugnol Dresch

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados.

1. trocas gasosas. 2. enzima antioxidante. 3. fitormônio. 4. guanandi. I.  
Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.**


**DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABCSÍCO NO CRESCIMENTO E  
METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE  
*Calophyllum brasiliense* Cambess**

por

**Lucas Coutinho Reis**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de  
MESTRE EM AGRONOMIA

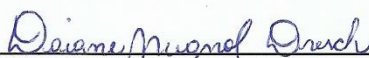
Aprovada em: 01 / 03 / 2018



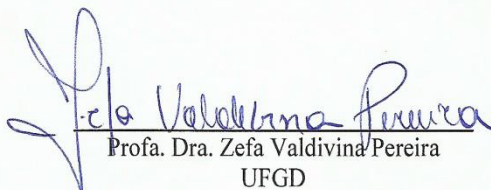
Prof. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon  
UFGD  
(Orientadora)



Prof. Dr. Diego Menani Heid  
UFGD



Prof. Dra. Daiane Mugnol Dresch  
UFGD



Prof. Dra. Zefa Valdivina Pereira  
UFGD

Aos meus pais  
Valdir e Elza

Ao meu irmão e a minha esposa  
Tiago e Andressa

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que tem me amparando em momentos de preocupações e fraquezas;

À Universidade Federal da Grande Dourados, e a Faculdade de Ciências Agrárias pela oportunidade de realizar o mestrado em Agronomia - Produção Vegetal;

A CAPES, pela bolsa concedida;

À professora Silvana de Paula Quintão Scalon, pelos ensinamentos, esclarecimentos e orientação;

À Daiane Mugnol Dresch, pelos esclarecimentos quando necessários e co-orientação;

A Andressa Caroline Foresti, pelo companheirismo e ajuda ao longo dessa jornada;

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta na realização desse trabalho;

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2. HIPÓTESE.....	16
3. OBJETIVOS.....	16
3.1 Objetivo Geral.....	16
3.2 Objetivos Específicos.....	17
4 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
CAPITULO I: METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE <i>Calophyllum brasiliense</i> (Cambess.): DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABCÍSICO.....	
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	21
1. INTRODUÇÃO.....	22
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3. RESULTADOS.....	27
4. DISCUSSÃO.....	38
5. CONCLUSÃO.....	43
6. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
CAPITULO II: CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Calophyllum brasiliense</i> (Cambess.) SUBMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO ABCÍSICO.....	
RESUMO.....	49
ABSTRACT.....	49
1. INTRODUÇÃO.....	50
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3. RESULTADOS.....	54
4. DISCUSSÃO.....	61
5. CONCLUSÃO.....	66
6. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

## LISTA DE FIGURAS

### PÁGINA

CAPITULO I: METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE *Calophyllum brasiliense* (Cambess.): DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABSCÍSSICO..... 21

Figura 1. Tratamentos e períodos de avaliação do experimento de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I 0 ABA, I 10  $\mu$ M ABA e I 100  $\mu$ M ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA) tempo zero (T0), aplicação do ABA (AP ABA), primeira fotossíntese nula (1<sup>o</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>o</sup> F0), recuperação (REC), avaliação final (FINAL). Primeira suspensão da irrigação (1<sup>o</sup> SPR), segunda suspensão da irrigação (2<sup>o</sup> SPR), primeira reirrigação (1<sup>o</sup> R) e segunda reirrigação (2<sup>o</sup> R) Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 24

Figura 2: Temperaturas médias da folha (TF), Temperatura (T) e Umidade relativa (UR%) externa durante o experimento. Dados de temperatura média externa e umidade relativa média foram obtidos da estação meteorológica EMBRAPA, do dia 25 de fevereiro de 2017 a 10 de agosto de 2017. Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 27

Figura 3. Valores médios do Potencial hídrico de folha ( $\Psi_w$ ) (A e B), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu$ M), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese zero (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese zero (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 28

Figura 4. Valores médios da taxa fotossintética A (A), da taxa de transpiração E (B) e eficiência instantânea do uso da água A/E (C) em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Calophyllum brasiliense* (I 0 ABA, I 10 ABA e I 100 ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA). Linha vertical contínua indica os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL) Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 30

Figura 5. Valores médios da concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) (A) e da eficiência instantânea de carboxilação de CO<sub>2</sub> (A/C<sub>i</sub>) (B) em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Calophyllum brasiliense* (I 0 ABA, I 10 ABA e I 100 ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA). Linha vertical contínua indica os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL) Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 31

Figura 6. Valores médios da condutância estomática (G<sub>s</sub>) (A) e da eficiência intrínseca do uso da água (A/G<sub>s</sub>) (B), em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Calophyllum brasiliense* (I 0 ABA, I 10 ABA e I 100 ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA). Linha vertical contínua indica os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL) Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 32



Figura 7. Valores médios da Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) (A, B e C), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 34

Figura 8. Valores médios da Eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida (Fv/F0) (A e B) e Produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F0/Fm) (C e D) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018..... 35

Figura 9. Atividade da enzima catalase na folha (A) e raiz (B) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018..... 36

Figura 10. Atividade da enzima peroxidase na folha (A, B e C) e raiz (D) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018 ..... 37

Figura 11. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) na folha (A e B) e raiz (C) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 38

CAPITULO II: CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Calophyllum brasiliense* (Cambess.) SUBMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO ABSCÍSSICO..... 49

Figura 1. Tratamentos e períodos de avaliação do experimento de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I 0 ABA, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA) tempo zero (T0), aplicação do ABA (AP ABA), primeira fotossíntese nula (1º F0), segunda fotossíntese nula (2º F0), recuperação (REC), avaliação final (FINAL). Primeira suspensão da irrigação (1º SPR), segunda suspensão da irrigação (2º SPR), primeira reirrigação (1º R) e segunda reirrigação (2º R) Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 52

Figura 2: Temperaturas médias da folha (TF), Temperatura (T) e Umidade relativa (UR%) externa durante o experimento. Dados de temperatura média externa e umidade relativa média foram obtidos da estação meteorológica EMBRAPA, do dia 25 de fevereiro de 2017 a 10 de agosto de 2017. Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 54

Figura 3. Valores médios do Conteúdo relativo de água na folha (CRA) (A e B), e da área foliar (cm<sup>2</sup>) (C e D), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100 μM), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018 ..... 55

Figura 4. Valores médios do diâmetro do caule (mm) (A e B), Massa seca parte aérea (g) (C e D) e massa seca da raiz (g) (E e F), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) e diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 56

Figura 5. Valores médios do índice de clorofila (SPAD) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100 μM), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 57

Figura 6. Valores médios da Razão altura/diâmetro (RAD) (A e B), Razão raiz/parte aérea (Raiz/PA) (C) e Índice de qualidade de Dickson (IQD) (D) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100 μM), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018..... 58

Figura 7. Valores médios do diâmetro equatorial dos estômatos (DQ μm) (A e B), diâmetro polar dos estômatos (DP μm) (C) e funcionalidade estomática (D) da abertura ostiolar (AE μm) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) e diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018..... 59

Figura 8. Valores médios do índice estomático (IE %) e da densidade estomática (DE) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100 μM), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. .... 60

## DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABCÍSIKO NO CRESCIMENTO, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE DE MUDAS DE *Calophyllum brasiliense* Cambess.

### RESUMO GERAL

As plantas quando submetidas a condições de déficit hídrico podem apresentar alterações nas características morfológicas, as quais podem garantir a sua adaptabilidade e sobrevivência ao estresse. Além disso, o déficit hídrico aumenta a concentração de ácido abscísico (ABA), que desencadeia diversas respostas na planta. Objetivou-se neste estudo avaliar o déficit hídrico intermitente em mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. tratadas ou não com ácido abscísico, sob as respostas morfofisiológicas, enzimáticas e estomáticos. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, sendo eles 1) irrigação diária sem ácido abscísico (ABA) (I 0 ABA); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (I 10 ABA); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (I 100 ABA); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E 0 ABA); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (E 10 ABA); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100 ABA) e quatro repetições. As mudas de *C. brasiliense* quando submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução nas trocas gasosas, potencial hídrico da folha, aumento da atividade enzimática, alterações nos parâmetros de biomassa como diâmetro do caule, índice de clorofila, crescimento do sistema radicular, aumento da área foliar e da densidade estomática. A redução da condutância estomática foi acompanhada da taxa fotossintética e transpiratória, no entanto, as mudas que receberam a dose 10  $\mu\text{M}$  de ABA mantiveram a taxa fotossintética superior aos demais tratamentos do déficit hídrico. A influência da dose 10  $\mu\text{M}$  de ABA também foi observada na fluorescência da clorofila *a* onde as mudas que receberam essa dose não apresentaram redução na eficiência do aparato fotossintético. A atividade das enzimas antioxidantes durante os períodos de suspensão hídrica variou de acordo com a enzima, dose de ABA e parte da planta. Após reirrigação das mudas e até o final das avaliações, todas as características fisiológicas e enzimáticas estudadas sob restrição hídrica se recuperaram. A restrição hídrica desencadeou respostas adaptativas em mudas *Calophyllum brasiliense*, como aumento no crescimento das raízes e da densidade estomática. A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  de ABA nas plantas sob déficit hídrico o efeito estressante e otimiza a recuperação das plantas após reirrigação, mantendo o potencial hídrico e o conteúdo relativo de água na folha próximo do controle bem como a manutenção da integridade e funcionamento do aparato fotossintético. Observou-se ainda que durante o período avaliação as plantas não recuperaram seu crescimento e os aspectos estomáticos após o restabelecimento da irrigação.

Palavras chave: trocas gasosas, enzima antioxidante, fitormônio, guanandi.

HYDRICAL DEFICIT AND ABSCYSIC ACID IN GROWTH, PHOTOSYNTHETIC METABOLISM AND ANTIOXIDANT OF CHANGES OF *Calophyllum brasiliense* Cambess.

**ABSTRACT**

Plants submitted to water deficit conditions may present changes in morphological characteristics, which can guarantee their adaptability and survival to stress. In addition, the water deficit increases the concentration of abscisic acid (ABA), which triggers several responses in the plant. The objective of this study was to evaluate the intermittent water deficit in *Calophyllum brasiliense* Cambess. treated or not with abscisic acid, under morphophysiological, enzymatic and stomatal responses. The experiment was conducted in a greenhouse in a randomized design with six treatments: 1) daily irrigation without abscisic acid (ABA) (I 0 ABA); 2) daily irrigation + 10  $\mu$ M ABA (I 10 ABA); 3) daily irrigation + 100  $\mu$ M ABA (I 100 ABA); 4) suspension of daily irrigation without ABA (E 0 ABA); 5) daily irrigation suspension + 10  $\mu$ M ABA (E 10 ABA); 6) suspension of daily irrigation + ABA 100  $\mu$ M (E 100 ABA) and four replicates. The *C. brasiliense* seedlings submitted to the water deficit showed a reduction in gas exchange, leaf water potential, increased enzymatic activity, changes in biomass parameters such as stem diameter, chlorophyll index, root system growth, leaf area increase and stomatal density. The reduction of the stomatal conductance was accompanied by the photosynthetic and transpiratory rate, however, the seedlings receiving the 10  $\mu$ M ABA dose maintained the photosynthetic rate higher than the other treatments of the water deficit. The influence of the 10  $\mu$ M dose of ABA was also observed in the chlorophyll fluorescence where the seedlings that received that dose did not present a reduction in the efficiency of the photosynthetic apparatus. The activity of the antioxidant enzymes during the periods of water suspension varied according to the enzyme, dose of ABA and part of the plant. After reirrigation of the seedlings and until the end of the evaluations, all the physiological and enzymatic characteristics studied under water restriction recover. The water restriction triggered adaptive responses in *Calophyllum brasiliense* seedlings, as an increase in root growth and stomatal density. The application of 10  $\mu$ M of ABA in the plants under water deficit stresses the effect and optimizes the recovery of the plants after reirrigation, maintaining the water balance and the relative water content in the leaf close to the control as well as the maintenance of the integrity and functioning of the photosynthetic apparatus. It was also observed that during the evaluation period the plants did not recover their growth and the stomatal aspects after the irrigation reestablishment.

Keywords: gas exchange, antioxidant enzyme, phytorium, guanandi.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O *Calophyllum brasiliense* Cambess. (guanandi) é uma espécie pertencente à família Clusiaceae, considerada climácica por apresentar regeneração abundante na sombra, desenvolve-se preferencialmente em florestas semidecíduas, ombrófila densa, originária da região amazônica e do cerrado, sendo encontrada em vários estados do Brasil (MARCONATO, 2010). O guanandi possui floração e frutificação variável devido a sua ampla área de ocorrência. Segundo Carvalho (2003) o processo reprodutivo inicia-se aos cinco anos de idade em plantio, em solo fértil e bem drenado, e normalmente aos 10 anos de idade em ambiente natural.

Ocorre espontaneamente em solos aluviais com drenagem deficiente, em locais úmidos periodicamente inundáveis e brejosos, com textura arenosa a franca, e ácidos (pH 4,5 a 6,0) (CARVALHO, 2003). A espécie tem crescimento adequado e normal em qualquer bacia brasileira, porém apresenta características de adaptação a variados climas e solos, desde inférteis, encharcados e brejosos, fato que a coloca à frente de outras espécies em condições de competição além de possuir resistência à herbivoria provocada por insetos (LISBOA et al., 2012).

O *C. brasiliense* tem diversas aplicações e utilizações dentre as quais, a casca e o látex podem ser utilizados na medicina, na veterinária, como planta ornamental, na apicultura, no reflorestamento ambiental, em sistemas agroflorestais, por ser muito procurada pela fauna possui ainda potencial para recuperação de áreas degradadas, sua semente é um atrativo da fauna que auxilia na dispersão da espécie, além do potencial de facilitação onde ela propicia condições favoráveis ao estabelecimento de outras espécies contribuindo para o processo ecológico (KALIL FILHO et al., 2007; WANGINIYAK, 2016).

O cerrado apresenta estações bem definidas com uma estação seca, de três a sete meses de duração e outra de chuvas constantes (PEREIRA et al., 2011), o que submete sua vegetação ao estresse hídrico em determinados períodos por excesso ou falta de água. Um grande número de espécies nativas do Cerrado apresenta elevado potencial econômico e ecológico, com importância social, sendo complemento da dieta da população local além

de servir como fonte de medicamentos, fibras, madeira para construções e energia. Dentre essas espécies se destaca o *Calophyllum brasiliense*.

Na natureza, a intensidade e a distribuição das chuvas definem o regime hídrico, influenciando o crescimento e a produtividade das plantas bem como a distribuição das populações e a diversidade vegetal nos ecossistemas (FAN e NEUMANN, 2004). Condicionadas às mudanças climáticas ambientais, as plantas sofrem alterações fisiológicas, anatômicas e/ou modificações estruturais para se adaptarem e se aclimatarem aos estresses abióticos que podem ser definidos como qualquer alteração dentro do habitat natural da planta (GONDIM et al., 2010; REDMAN et al., 2011).

A compreensão do comportamento das plantas sob condições de estresse hídrico se faz necessária, porque as mudanças climáticas podem reduzir a disponibilidade de água para algumas regiões do planeta (KIM e VAN IERSEL, 2011). Mecanismos morfofisiológicos como fotossíntese, senescência e abscisão foliar são severamente afetados no caso de ocorrência repentina de falta de água, enquanto que sua ocorrência gradual e/ou no início do ciclo promove a rápida adaptação das plantas (SANTOS e CARLESSO, 1998; COSTA et al., 2015).

Vários autores pesquisando diferentes espécies vegetais tem relatado alterações nos processos metabólicos das plantas influenciado sob baixa disponibilidade de água no solo, tais como o fechamento estomático, redução da condutância estomática, da fotossíntese, da transpiração, danos no aparato fotossintético e aumento da atividade enzimática o que leva ao declínio da taxa de crescimento (ROSA et al., 2017; NUNES et al., 2017; FRANÇA et., 2017).

O déficit hídrico pode desencadear a síntese do ácido abscísico (ABA) na raiz, o qual é transportado para diferentes partes da planta (LARCHER, 2004; CERQUEIRA, 2011). O ABA é conhecido como o hormônio do estresse promovendo alterações nas plantas quando o suprimento de água diminui (AASAMAA e SÖBER, 2011), podendo exercer funções no crescimento e desenvolvimento e regular respostas adaptativas em condições de baixa disponibilidade hídrica, como a regulação da abertura e o fechamento dos estômatos, abscisão foliar e crescimento radicular (INÁCIO et al., 2011; SOUZA et al., 2013).

Os efeitos do estresse hídrico nos pigmentos dos vegetais podem resultar em distúrbios no balanço osmótico, como a perda de turgescência e diminuição do crescimento, podendo levar à degradação da clorofila, pigmento necessário para a realização da fotossíntese (MARQUES, 2011). Sob condições de déficit hídrico, observa-se a relação direta entre a redução da concentração intercelular de CO<sub>2</sub>, em razão do fechamento estomático, gerando decréscimos na assimilação do CO<sub>2</sub> e no rendimento quântico do fotossistema II (SUASSUNA et al., 2011; MARTINAZZO et al., 2012).

Uma forma eficiente para monitorar danos fotooxidativos causados pelo estresse é através de medidas da fluorescência da clorofila *a* associada ao fotossistema II (PS II) (BAKER, 1993; ZANANDREA et al., 2006). A relação (Fv/Fm) expressa o rendimento quântico dos processos fotoquímicos do fotossistema (LAZÁK, 1999). (F0/Fm) representa a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII e quando ocorre seu aumento, considera-se um parâmetro indicativo de estresse, no qual os valores normais estão entre 0,14 e 0,20 (ROHÁČEK, 2002). A relação (Fv/F0) pode ser utilizada como indicador da eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII ou da atividade fotossintética potencial, com valores nomais entre 4 e 6 (ZANANDREA et al., 2006).

Dentre os índices fisiológicos das plantas, a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, transpiração, condutância estomática e concentração interna de CO<sub>2</sub> são afetados pela disponibilidade de água (TAIZ e ZEIGER, 2013; MELO et al., 2010). A fotossíntese é um processo primário na produção de biomassa vegetal, produzindo energia na forma de ATP para crescimento e desenvolvimento das plantas (FERRAREZERI et al., 2015). As trocas gasosas têm sido amplamente estudadas nas últimas décadas, principalmente por meio do uso de equipamentos que realizam sua medida em nível foliar (VAN IERSEL e BUGBEE, 2000; COSTA et al., 2007; TATAGIBA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2015).

O estresse hídrico está associado a mudanças na anatomia foliar, como diminuição do tamanho de estômatos, que são estruturas fundamentais para a vida das plantas, pois, em condições normais de cultivo, é por eles que ocorre toda a troca gasosa (LISAR et al., 2012). Assim, qualquer variação no número e ou tamanho destes pode acarretar uma maior ou menor eficiência da planta quanto à taxa fotossintética (SUN et al., 1995).

As plantas sob estresse hídrico aumentam a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs, principalmente o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, são geradas no citosol, cloroplastos,

mitocôndrias, peroxissomos e espaço apoplástico (NAVROT et al., 2007) e ocorrem normalmente no metabolismo celular, porém, quando acumuladas tornam-se tóxicas (QUAN et al., 2008), podendo causar danos aos componentes celulares, como membranas e ácidos nucleicos (DIAS et al., 2007). Para minimizar os efeitos deletérios das EROs e adequar a sua quantidade nas células, os vegetais desenvolveram um eficiente sistema defensivo antioxidante constituídos por componentes enzimáticos e não enzimáticos.

Dentre as enzimas a superóxido dismutase (SOD) atua na primeira linha de defesa contra a toxicidade causada pelas EROs, catalisando a dismutação de radicais superóxido ( $O_2^-$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio ( $O_2$ ), representando assim, um dos principais mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo celular (CARVALHO et al., 2012;). As peroxidases e catalases são as mais importantes enzimas reguladoras dos níveis intercelulares de  $H_2O_2$ , e estas enzimas se encontram espalhadas por todas as partes da planta (BLOKHINA et al., 2003).

Diante do exposto, a definição de protocolos e estratégias que favoreçam a produção de mudas nativas com qualidade, em menor espaço de tempo e em condições acessíveis tem sido divulgada na literatura (MORAES et al., 2012; FARIA et al., 2016). Os resultados dessas pesquisas tendem a estimular a produção de mudas para plantio e exploração sustentável bem como projetos de recuperação de áreas degradadas.

## 2. HIPÓTESE

Considerando a ocorrência da *C. brasiliense* em ambiente e paludoso e matas aluviais acredita-se que suas mudas não toleram a restrição hídrica.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar o déficit hídrico intermitente em mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. tratadas ou não com ácido abscísico, sob as respostas morfofisiológicas, enzimáticas e estomáticas.



### 3.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ABA no metabolismo fotossintético e atividade de enzimas antioxidantes em mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. submetidas ao déficit hídrico;

Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ABA no crescimento inicial e estomáticos de mudas de *C. brasiliense* sob déficit hídrico;

Avaliar a influência do ABA na tolerância e potencial de recuperação ao déficit hídrico de mudas de *C. brasiliense*.

## 4 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASAMAA, K.; SÖBER, A. Stomatal sensitivities to changes in leaf water potential, air humidity, CO<sub>2</sub> concentration and light intensity, and the effect of abscisic acid on the sensitivities in six temperate deciduous tree species. **Environmental and Experimental Botany**. v. 71, n. 1, p. 72–78, 2011.

AZERÊDO, G. A. de.; PAULA, R. C. de.; VALERI, S. V. Germinação de sementes de (*Piptadenia moniliformis* Benth). sob estresse hídrico. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2016.

BAKER, N. R.; EAST, T. M.; LONG, S. P. **Journal Experimental Botany**. 139: 189. 1993.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BRASIL, MMA, Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite: Cerrado 2010-2011 Brasília, 2015, 16 p.

BRAZIL FLORA GROUP. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. v. 66, n. 4, p 1085-1113, 2015.

CARVALHO, J. S. B. DE.; MARTINS, J. D. L.; MOREIRA, K. A. Respostas fisiológicas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. ao estresse hídrico. **Revista de biologia e ciências da terra**. v. 12, n. 2, 2012.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnologia; Colombo-PR: Embrapa Florestas, p. 1039, 2003.

CERQUEIRA, R. C. **Influência do frio e do déficit hídrico nas características fisiológicas e bioquímicas em videiras (*Vitis vinifera* L.) cv. *Thompson seedless***. Botucatu, 2011, 122p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, 122 p. 2011.

COSTA, A. S.; FREIRE, A. L. O.; BAKKE, I. A.; PEREIRA, F. H. F. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) Allemão ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga**, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.

COSTA, G.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico Foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v.37, n.2, p.229-234, 2007.

DIAS, A. P. S.; RINALDI, M. C. S.; MORAES, R. M. Alterações bioquímicas associadas a injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Psidium guajava* 'Paluma' mantidas em ambiente contaminado por ozônio. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 231-238, 2007.

FAN, L.; NEUMANN, P. M. The Spatially Variable Inhibition by Water Deficit of Maize Root Growth Correlates with Altered Profiles of Proton Flux and Cell Wall pH. **Plant Physiology**, v. 135, p. 2291-2300, 2004.

FARIA, J. C. T.; CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; ROCHA, R. L. F. Substratos alternativos na produção de mudas de *Mimosa setosa* Benth. **Ciência Florestal**, v. 26, p. 1075-1086, 2016.

FERRAREZI, R. S.; VAN IERSEL, M. W.; TESTEZLAF, R. Uso da subirrigação para imposição de estresse hídrico em sistema semi-contínuo para medição de CO<sub>2</sub>. **Ornamental Horticulture**, v. 21, n. 2, p. 235-242 2015.

FRANÇA, P. H. T.; SILVA, E. C. A. ; SILVA, T. C. ; BRASIL, N. A. ; NOGUEIRA, R. J. M. C. Análise fisiológica em mudas de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess.) submetidas ao déficit hídrico. **Agropecuária Científica no semi-árido**, v. 13, p. 264-269, 2017

GONDIM, T. M. de S.; CAVALCANTE L. F.; BELTRAO N. E. de M. Aquecimento Global: Salinidade e Consequências no Comportamento Vegetal. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.14, n.1, p37-54, 2010.

INÁCIO, M. C.; SILVA, E. S.; SOUZA, M. E.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Mensageiros secundários relacionados à ação dos hormônios vegetais. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 4, p. 438-446, 2011.

KIM, J.; VAN IERSEL, M. W.; BURNETT, S. E. Estimating daily water use of two petunia cultivars based on plant and environmental factor. **HortScience** , v.46 p. 1287-1293. 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa. 531 p., 2004.

LAZÁK, D. Chlorophyll a fluorescence induction. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1412, p.1-28,1999.

LISAR, S. T.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water stress in plants: causes, effects and responses. **Water stress**. InTech, 2012.

LISBOA, A. C.; SANTOS, P. S.; OLIVEIRA NETO, S. N.; CASTRO, D. N.; ABREU, A. H. M.. Efeito do volume de tubetes na produção de mudas de *Calophyllum brasiliense* e *Toona ciliata*. **Revista Árvore**, v. 36, n. 4, 2012.

MARCONATO, G. Degradação do bioma floresta atlântica – matas ciliares – e a necessidade do desenvolvimento de métodos para a sua restauração no estado de São Paulo. 2010. 129f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Florestais) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p. 129, 2010.

MARQUES, R. P.; FREIRE, C. S.; NASCIMENTO, H. H. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Relações hídricas e produção de pigmentos fotossintéticos em mudas de *Eugenia uniflora* L. sob condições de salinidade. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, n. 3, p. 497-509, 2011.

MARTINAZZO, E. G.; SILVA, D. M.; BIANCHI, V. J.; BACARIN, M. A. Fluorescência da clorofila a em plantas de pessegueiro da cultivar maciel enxertada sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p. 678-685, 2012.

MELO, A. S. de.; FERNANDES, P. D.; SOBRAL, L. F.; BRITO, M. E. B.; DANTAS, J. D. M. Crescimento, produção de biomassa e eficiência fotossintética da bananeira sob fertirrigação com nitrogênio e potássio. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 417-426, 2010.

MORAES, W. W. C.; SUSIN, F.; VIVIAN, M. A.; ARAÚJOM. M. Influência da irrigação no crescimento de mudas de *Schinus terebinthifolius*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 69,p. 23-28, 2012.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** v. 403: p. 853-858, 2000.

NASCIMENTO, H. H. C.; SANTOS, C. A.; FREIRE, C. S.; SILVA, M. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Ajustamento osmótico em mudas de jatobá submetidas à salinidade em meio hidropônico. **Revista Árvore**, v. 39, n. 4, p. 641-653, 2015.

NAVROT, N. Et al. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 129, p. 253-266, 2007.

NUNES, D. P. ; SCALON, S. DE P. Q.; DRESCH, D. M. ; GORDIN, C. R. B. . Photosynthetic and enzymatic metabolism of *Schinus terebinthifolius* Raddi seedlings under water déficit. **Ciência e agrotecnologia**, v. 41, p. 676-682, 2017.

QUAN, L. J. Et al. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, n. 1, p. 2- 18, 2008.

REDMAN, R. S.; KIM, Y. O.; WOODWARD, C. J. D. A.; GREER, C.; ESPINO, L.; DOTY, S. L.; RODRIGUEZ, R. J. Increased Fitness of Rice Plants to Abiotic Stress Via Habitat Adapted Symbiosis: A Strategy for Mitigating Impacts of Climate Change. **PLoSOne**, v. 6, n. 7, p. 1-10, 2011.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll Fluorescence Parameters: The Definitions, Photosynthetic Meaning, and Mutual Relationships. **Photos ynthetica**, v. 40, p.13-29. 2002.

ROSA, D. B. C. J. ; SCALON, S. DE P. Q. ; CREMON, T. ; CECCON, F. ; DRESCH, D. M. . Gas exchange and antioxidant activity in seedlings of *Copaifera langsdorffii* Desf. under different water conditions. **Anais da academia brasileira de ciências**. v. 89, p. 3039-3050, 2017.

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

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, p.995-1014, 2005.

SOUZA, T. C. de.; MAGALHAES, P. C.; CASTRO, E. M. de.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de.; MARABESI, M. A. The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance. **Acta PhysiolPlant**. v. 35 p. 515–527, 2013.

SUASSUNA, J. F.; MELO, A. S.; COSTA, F. S.; FERNANDES, P. D.; FERREIRA, R. S.; SOUSA, M. S. S. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivado sob diferentes lâminas de irrigação. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p.1251-1262, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5°. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 719p.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Relações hídricas e trocas gasosas na seleção precoce de clones de eucalipto para ambientes com diferenciada disponibilidade de água no solo. **Floresta**, v. 38, n. 2, p. 387-400, 2008.

VAN IERSEL, M. W.; BUGBEE, B. A multiple chamber, semicontinuous, crop CO<sub>2</sub> - exchange system: design, calibration, and data interpretation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 125, p. 86-92, 2000.

ZANANDREA, I.; NASSI, F. L.; TURCHETTO, A. C.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.

## CAPITULO I: METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE *Calophyllum brasiliense* (Cambess.): DÉFICIT HÍDRICO E ÁCIDO ABCSÍCICO.

### RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito de diferentes concentrações de ácido abscísico no metabolismo fotossintético e atividade de enzimas antioxidantes em mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. cultivadas sob déficit hídrico. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA (I 0 ABA); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (I 10 ABA); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (I 100 ABA); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E 0 ABA); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (E 10 ABA); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100 ABA) e quatro repetições. A suspensão da irrigação reduz as trocas gasosas o status hídrico e prejudica o funcionamento do aparato fotoquímico. As mudas de *C. brasiliense* quando submetidas ao estresse hídrico por déficit apresentaram redução das trocas gasosas, potencial hídrico da folha e aumento da atividade enzimática. Houve redução da condutância estomática, taxa fotossintética e transpiratória, no entanto as mudas que receberam a concentração 10  $\mu\text{M}$  de ABA mantiveram uma taxa fotossintética superior aos demais tratamentos em déficit hídrico bem como a influência fluorescência da clorofila *a* onde as mudas que receberam essa concentração não apresentaram estresse. A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  de ABA nas plantas estressadas minimiza o efeito estressante do déficit hídrico e otimiza a recuperação das plantas após reirrigação, mantendo a integridade e funcionamento do aparato fotossintético. A atividade das enzimas antioxidantes durante os períodos de suspensão hídrica variou de acordo com a enzima, concentração de ABA e parte da planta. Após reirrigação das mudas até o final das avaliações, todas as características estudadas sob restrição hídrica se recuperam chegando aos valores próximos do controle

**Palavras-chave:** enzima antioxidante, trocas gasosas, recuperação.

**CHAPTER I: PHOTOSYNTHETIC METABOLISM AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN CHOLESTEROLS OF *Calophyllum brasiliense* (Cambess.): HYDRICAL DEFICIT AND ABCSYSCIC ACID.**

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different concentrations of abscisic acid on the photosynthetic metabolism and activity of antioxidant enzymes on *Calophyllum brasiliense* Cambess. cultivated under water deficit. The experiment was carried out in a randomized design with six treatments: 1) daily irrigation without ABA (I 0 ABA); 2) daily irrigation + 10  $\mu\text{M}$  ABA (I 10 ABA); 3) daily irrigation + 100  $\mu\text{M}$  ABA (I 100 ABA); 4) suspension of daily irrigation without ABA (E 0 ABA); 5) daily irrigation suspension + 10  $\mu\text{M}$  ABA (E 10 ABA); 6) suspension of daily irrigation + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100 ABA) and four replicates. Suspension of irrigation reduces gas exchange and water status and impairs the functioning of the photochemical apparatus. The *C. brasiliense* seedlings when submitted to deficit water stress showed reduction of gas exchange, leaf water potential and increased enzymatic activity. there was a decrease in the stomatal conductance, photosynthetic and transpiratory rate, however, the seedlings that received the 10  $\mu\text{M}$  concentration of ABA maintained a higher photosynthetic rate than the other treatments in water deficit, as well as the influence of chlorophyll fluorescence, where the plants that received this concentration did not presented stress. The application of 10  $\mu\text{M}$  ABA in stressed plants minimizes the stressful effect of the water deficit and optimizes the recovery of the plants after reirrigation, maintaining the integrity and functioning of the photosynthetic apparatus. The activity of the antioxidant enzymes during the periods of water suspension varied according to the enzyme, ABA concentration and part of the plant. After reirrigation of the seedlings until the end of the evaluations, all the characteristics studied under water restriction recover to the values close to the control.

**Key words:** antioxidant enzyme, gas exchange, recovery.

## 1. INTRODUÇÃO

O *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae) conhecida popularmente como guanandi, é uma espécie considerada climácica por apresentar regeneração abundante na sombra, que desenvolve-se preferencialmente em florestas semidecíduas, ombrófila densa, originária da região amazônica e do cerrado, sendo encontrada em vários estados do Brasil (MARCONATO, 2010). É uma espécie arbórea nativa das Américas Central e do Sul, ocorrendo espontaneamente em solos aluviais com drenagem deficiente, em locais úmidos periodicamente inundáveis e brejosos, com textura arenosa a franca, em solos ácidos (pH 4,5 a 6,0) (CARVALHO, 2003).

Sua madeira é considerada nobre, utilizada na construção de móveis, esquadrias e batentes, construção de navios dentre outras aplicações, tem aplicação medicinal e ambiental, a casca e o látex podem ser utilizados na medicina e na veterinária, como planta ornamental, na apicultura, reflorestamento ambiental, em sistemas agroflorestais, e com potencial para recuperação de áreas degradadas. A semente é um atrativo para a fauna que atua na dispersão da espécie, além do que a espécie tem potencial de facilitação para o estabelecimento de outras espécies, contribuindo para o processo ecológico (CARVALHO, 2003; KALIL FILHO et al., 2007; WANGINIYAK, 2016).

Diferentes espécies vegetais tem apresentado alterações metabólicas sob baixa disponibilidade de água no solo, tais como o fechamento estomático, redução da condutância estomática, da fotossíntese e da transpiração, danos no aparato fotossintético e aumento da atividade enzimática o que leva ao declínio da taxa de crescimento (TAIZ e ZEIGER, 2013; COSTA et al., 2015; ROSA et al., 2017; NUNES et al., 2017; FRANÇA et al., 2017).

O déficit hídrico pode desencadear a síntese do ácido abscísico (ABA) na raiz que é transportado para diferentes partes da planta e promove alterações metabólicas e morfológicas quando o suprimento de água diminui (LARCHER, 2004; AASAMAA e SÖBER, 2011; CERQUEIRA, 2011; SOUZA et al., 2013).

Nas folhas, o ABA promove o fechamento estomático através da despolarização da membrana plasmática das células-guarda onde a sensibilidade dessas células ao ABA depende do estado hídrico da folha, entre outros fatores. (TARDIEU e DAVIES, 1992; INÁCIO et al., 2011). Apesar do ABA atuar na proteção da planta sob estresse hídrico, a planta ainda pode sofrer danos no aparato fotossintético e aumentar a produção de espécies reativas ao oxigênio (ERO).

As ERO são produzidas constantemente como subprodutos de várias vias metabólicas das plantas, em diferentes compartimentos celulares de órgãos e tecidos (APEL e HIRT, 2004), especialmente quando estão sob estresse hídrico sendo prejudiciais às plantas. Para minimizar os efeitos deletérios das ERO e adequar a sua quantidade nas células as plantas desenvolveram um eficiente sistema defensivo, constituído por componentes enzimáticos tais como, superóxidos dismutases (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POD) (SCANDALIOS, 2005; CARVALHO et al., 2012; ROSA et al., 2017; NUNES et al., 2017).

Outras formas de avaliar as respostas das plantas ao estresse, é através das medições da fluorescência da clorofila *a*, que é um método não destrutivo, sendo uma importante ferramenta para análise de plantas diante de ambiente estressante. Ele permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo fotossistema II (FSII) estando relacionado com a capacidade fotossintética da planta (MOUGET e TREMBLIN, 2002; SUASSUNA et al., 2011; MARTINAZZO et al., 2012).

Considerando a ocorrência da *C. brasiliense* em ambiente paludoso e matas aluviais, acredita-se que suas mudas não toleram a restrição hídrica. Diante do exposto objetivou-se com estudo avaliar o efeito de diferentes concentrações de ABA no metabolismo fotossintético e atividade de enzimas antioxidantes em mudas de *C. brasiliense* cultivadas sob déficit hídrico intermitente.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Implantação do experimento

O experimento foi conduzido em ambiente protegido onde as mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. foram mantidas sob 30% de sombreamento e protegidas da precipitação pluviométrica sob cobertura plástica. As mudas com 7 meses após a emergência foram cultivadas em vasos com capacidade para sete litros e todos os vasos foram mantidos com 70% da capacidade de retenção hídrica até a caracterização das mudas no tempo zero, sendo mantidas duas mudas por vaso.

As mudas utilizadas no experimento apresentavam em média de 9,33 folhas, 14,32 cm de altura, 21,83 cm de raiz e 3,18 cm de diâmetro do caule.

Foram realizados seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA (I 0 ABA); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu$ M (I 10 ABA); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu$ M (I 100

ABA); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E 0 ABA); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (E 10 ABA); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100 ABA). Cada tratamento foi composto por 22 vasos, além de seis mudas separadas para caracterização no tempo zero.

Para os tratamentos de irrigação, as mudas foram divididas em dois grupos. O primeiro grupo foi irrigado diariamente durante todo o período do experimento e mantido o solo com 70% da capacidade de retenção de água, sendo considerados controle de acordo com cada concentração de ABA. O segundo grupo foi submetido à restrição hídrica até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero caracterizando a primeira fotossíntese zero (1ª F0).

A partir da 1ª F0, todos os vasos foram irrigados diariamente, e as plantas mantidas com 70% da capacidade de retenção de água até a recuperação, que foi considerada quando as mudas do tratamento sob déficit hídrico apresentaram fotossíntese semelhante às irrigadas. Após a recuperação outro ciclo de suspensão hídrica foi realizado e as mudas foram avaliadas até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero novamente, caracterizando a segunda fotossíntese zero (2ª F0), momento que foram reirrigadas até a recuperação (REC), conforme padrão estabelecido anteriormente e avaliação final (FINAL) (Figura 1).

No 17º dia, com base na taxa fotossintética próxima a  $2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , de acordo com pré-testes, foi realizada uma aplicação de ABA, nas devidas concentrações pré determinadas.

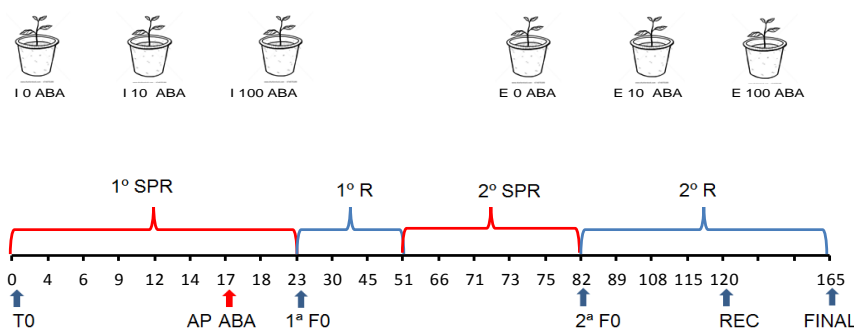


Figura 1. Tratamentos e períodos de avaliação do experimento de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I 0 ABA, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA) tempo zero (T0), aplicação do ABA (AP ABA), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC), avaliação final (FINAL). Primeira suspensão da irrigação (1º SPR), segunda suspensão da irrigação (2º SPR), primeira reirrigação (1º R) e segunda reirrigação (2º R) Dourados-MS, UFGD, 2018.



### **Características avaliadas**

**Trocas gasosas** foram mensuradas a cada dois dias com um medidor portátil de fotossíntese LCIPro- SD ADC Bio Scientific Ltd., sendo avaliados (*A*): taxa fotossintética ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), (*Gs*): condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), (*E*): transpiração ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e (*Ci*): concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ); além da eficiência de carboxilação (*A/Ci*), eficiência no uso da água (*A/E*) e eficiência intrínseca do uso da água (*A/Gs*).

As demais avaliações foram realizadas em cinco períodos: T0- tempo zero (início do experimento), 1ª F0- primeira fotossíntese zero (23º dia), 2ª F0- segunda fotossíntese zero ( 82º dia), REC- recuperação (120º dia) e FINAL- avaliação final (165º dia) (Figura 1).

**A fluorescência da clorofila *a*:** obtida por meio de fluorômetro portátil modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA), sendo anotadas as medidas de fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (Fm) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm). A partir dos dados de fluorescência foram calculados: eficiência do fotossistema efetiva da conversão de energia absorvida (Fv/F0) e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII (F0/Fm).

A determinação da fluorescência e das trocas gasosas foram realizadas entre 8:00 e 11:00 horas da manhã, nas mesmas folhas do segundo par de folhas totalmente expandidas. Para a fluorescência, as folhas foram submetidas a um período de 30 minutos de adaptação ao escuro com o auxílio de cliques adaptadores, para que todos os centros de reação nessa região foliar adquirissem a condição de “aberto”, ou seja, oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons.

**O potencial hídrico da folha ( $\Psi_w$ )** foi obtido a partir de leituras realizadas imediatamente após a coleta das folhas, em folhas individuais pertencentes ao segundo par de folhas totalmente expandidas do ápice para a base, entre 7:00 e 10:00 horas da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander (Portable Plantwater status console - modelo 3115), e os resultados expressos em MPa .

### **Atividade das enzimas antioxidantes**

Após colhidas as folhas e raízes dos tratamentos, o material foi congelado em nitrogênio líquido. De cada amostra foi pesado um grama para ser macerado em 6 ml de uma solução contendo 0,3 g de polivinilpirrolidona (PVP) diluído em 100 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 M) . Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 20 minutos a 4°C sendo o sobrenadante utilizado como extrato enzimático.

### **Atividade da superóxido dismutase (SOD)**

Para realizar a análise da enzima superóxido dismutase foi preparada uma solução contendo 2,0 mL de L-metionina (13 mM); 2,0 mL de azul de nitrotetrazólio (NBT) (0,44 mM); 2,0 mL de ácido etilenediaminotetracético (EDTA) (100 nM); 3,2 mL tampão fosfato de potássio (0,1 M) e 0,8 mL de riboflavina (1 mM). Em um tubo de ensaio, adicionou-se 3 mL dessa solução para cada repetição e em seguida, 100 µL de extrato enzimático. Os tubos foram levados para BOD (Biochemical Oxygen Demand) contendo lâmpadas fluorescentes de 15 W, a 25°C e permaneceram por 15 minutos. Em seguida, os tubos foram retirados da fonte luminosa e a leitura da atividade da SOD foi realizada em espectrofotômetro Bioespectro a 560 nm com três repetições por tratamento. A atividade da SOD foi expressa em unidades de atividade  $x^{-1}$  de matéria seca.

### **Atividade da catalase (CAT)**

Para realizar o ensaio da enzima catalase, adicionou-se 25 µL de extrato enzimático a 3 mL de peróxido de hidrogênio (12,5 mM) em tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,0) a 30°C. Em seguida, as leituras foram realizadas no espectrofotômetro Bioespectro com absorvância a 240 nm, com três repetições por tratamento. A atividade da catalase foi expressa em unidades µmol/min/mg de proteína.

### **Atividade da peroxidase (POD)**

A atividade da enzima peroxidase foi determinada através da adição de 2 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 M, pH 7,0) e 10 µL de extrato em tubo de ensaio. Os tubos foram levados para banho-maria até a estabilização da temperatura a 25°C. Em seguida, adicionou-se 200 µL de guaiacol (0,5%) e 200 µL de peróxido de hidrogênio (0,08%) e imediatamente, realizou-se a leitura na absorvância a 470 nm no espectrofotômetro Bioespectro, com três repetições por tratamento. O resultado foi expresso em µmol tetraguaiacol produzido por mg de proteína.

### **Dados de temperatura e umidade relativa do ar (UR)**

Os dados de temperatura (°C) externa ao sombrite e umidade relativa (UR<sub>ext</sub>) externa ao sombrite foram obtidos do banco de dados da estação da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, localizada a 23,4 km do local do experimento. A temperatura da folha (T<sub>f</sub>) foi obtida utilizando dados do medidor portátil de fotossíntese LCIPro (Figura 2).

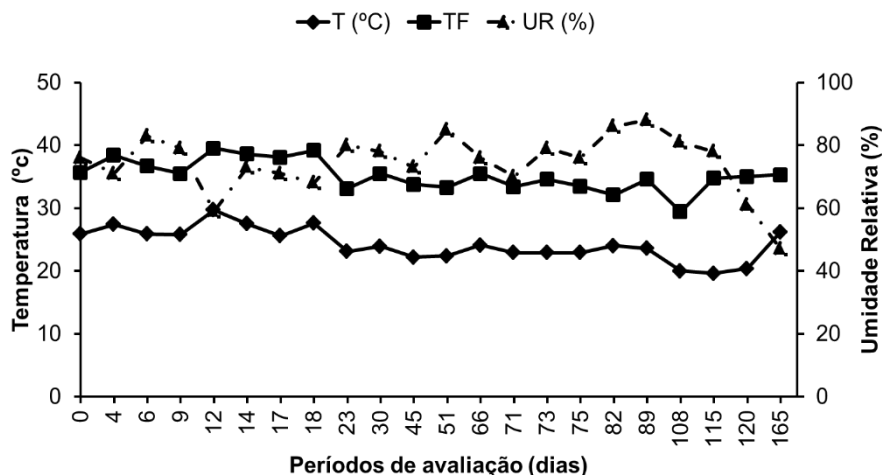


Figura 2: Temperaturas médias da folha (TF), Temperatura (T) e Umidade relativa (UR%) externa durante o experimento. Dados de temperatura média externa e umidade relativa média foram obtidos da estação meteorológica EMBRAPA, do dia 25 de fevereiro de 2017 a 10 de agosto de 2017. Dourados-MS, UFGD, 2018.

#### **Delineamento experimental e análise dos dados:**

Para os dados de trocas gasosas, o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições, onde cada muda correspondeu a uma repetição. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos pelo teste F foram submetidas ao teste Scott Knott a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

Os dados de fluorescência da clorofila a, potencial hídrico, e atividade das enzimas antioxidantes foram avaliados em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas. Na parcela tinha-se irrigação diária (I) e suspensão da irrigação (E), na subparcela as três concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$  ABA) e na sub-subparcela os 5 períodos de avaliação (T0, 1<sup>o</sup> F0, 2<sup>o</sup> F0, REC e FINAL). Os resultados foram submetidos à análise de variância e havendo efeito significativo pelo teste F as médias das parcelas foram submetidas ao teste de t de Bonferroni a 5% de probabilidade e as médias das subparcelas e sub-subparcelas submetidas ao teste Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

### **3. RESULTADOS**

As mudas não tratadas com ABA e sob déficit hídrico apresentaram redução significativa do potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) com os menores valores observados nos tratamentos estresse sem ABA (E 0 ABA) e 100  $\mu\text{mol}$  de ABA (E 100 ABA), sendo

que o cultivo sob estresse e 10  $\mu\text{mol}$  de ABA (E 10 ABA) foi 6,93% menor ao das plantas controle (I 10 ABA) e 16,45 % maior que o tratamento E 0 ABA (Figura 3 A).

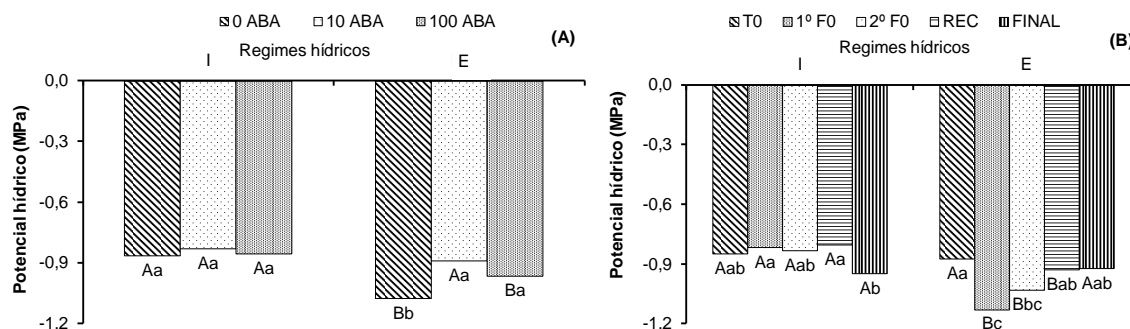


Figura 3. Valores médios do Potencial hídrico de folha ( $\Psi_w$ ) (A e B), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese zero (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese zero (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam diferentes concentrações de ABA no mesmo regime hídrico e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes regimes hídricos (Figura A e C). Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos diferentes regimes hídricos (Figura B e D). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

As plantas estressadas na 1<sup>a</sup> F0 e 2<sup>a</sup> F0 apresentaram maior redução, entretanto, na avaliação final (FINAL), as mudas apresentaram valores semelhantes ao controle (Figura 3 B).

As mudas dos tratamentos irrigados apresentaram taxas fotossintéticas (A) semelhantes independente da aplicação do ABA, (Figura 4 A), que apresentou oscilações dos valores ao longo dos dias de acordo com a temperatura e umidade relativa (Figura 2). No primeiro ciclo de fotossíntese zero (1<sup>a</sup> F0), as mudas sob déficit hídrico apresentaram redução acentuada na A do 14<sup>o</sup> dia até fotossíntese zero no 23<sup>o</sup> dia para todos os tratamentos sem irrigação, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos com ABA. Na reirrigação, as mudas que haviam passado pelo déficit hídrico apresentaram valores próximos ao controle aos 28 dias, isto é, no 51<sup>o</sup> dia do início do experimento, quando foi iniciado o segundo ciclo de suspensão da irrigação.

No segundo ciclo de suspensão da irrigação observa-se redução da A alcançando valores próximos a zero em 31 dias após a nova suspensão para E 0 ABA, sendo que os tratamentos de E 10 ABA e E 100 ABA não atingiram valores próximos a zero. As mudas do tratamento E 10 ABA apresentaram valores de A superiores aos demais tratamentos sob déficit hídrico sendo inferior em média dos tratamentos irrigados (Figura 4 A).

A taxa de transpiração ( $E$ ) reduziu sob déficit hídrico quando as  $A$  estavam próximas à zero (Figura 4 B). Assim como para a taxa fotossintética a taxa transpiratória apresentou os menores valores aos 23 dias da restrição hídrica, sem diferenças significativas entre os tratamentos sob estresse (Figura 4 A e B).

A redução da  $E$  no tratamento E 0 ABA no 12º dia ocasionou maior eficiência do uso da água ( $A/E$ ). Na 1º F0, quando os tratamentos já estavam sob efeito do ABA, a  $A/E$  nas mudas em estresse foi maior quando se utilizou 10 e 100  $\mu\text{mol}$  de ABA em relação ao tratamento E 0 ABA com valores médios em 1,26, 1,00 e 0,52  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$  respectivamente (Figura 4 B e C). A  $A/E$  apresentou variações para as mudas sob déficit hídrico, sendo que no 12º, 71º e 75º dias houve elevação nas taxas das plantas E 0 ABA apresentando valores médios 5,85, 4,21 e 4,42  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$  respectivamente possivelmente decorrente da queda da  $E$  nesse tratamento nas respectivas datas 1,65, 1,30 e 0,46  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Para as mudas irrigadas não foram observadas diferenças significativa, mantendo-se valores próximos nas diferentes concentrações de ABA.

As mudas do tratamento E 10 ABA apresentaram aumento da  $A/E$  na 2º F0 e no tratamento E 100 ABA apresentaram valor próximo ao controle I 100 ABA sendo 3,51  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$  e 3,40  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$  respectivamente (Figura 4 C). Na 2º F0 não ocorreu diferença significativa na  $E$  para os tratamentos sob déficit hídrico, no entanto nos períodos que antecederam a 2ºF0, as mudas do tratamento E 10 ABA foi superior ao tratamento E 0 ABA, esse mesmo comportamento foi observado para  $A/E$  (Figura 2 C).

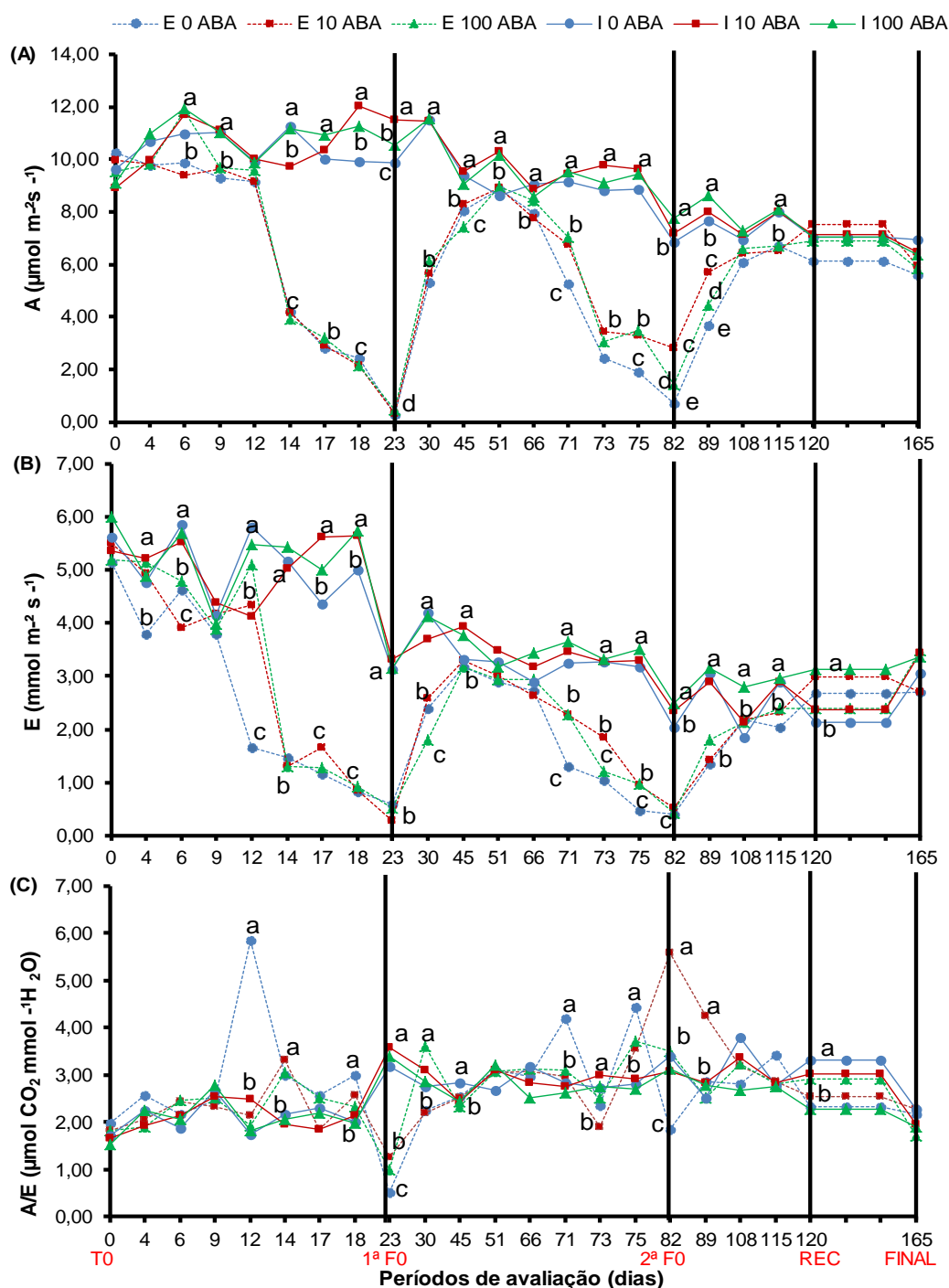


Figura 4. Valores médios da taxa fotossintética A (A), da taxa de transpiração E (B) e eficiência instantânea do uso da água A/E (C) em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Calophyllum brasiliense* (I 0 ABA, I 10 ABA e I 100 ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA). Linha vertical contínua indica os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL) Dourados-MS, UFGD, 2018. Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste Scott Knott a 5 % de probabilidade.

A concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) oscilou durante o experimento de modo que no 14º dia houve uma redução expressiva nas plantas sob déficit hídrico e na 1ª F0 houve acréscimos de valores aumentando  $189,85 \mu\text{mol mol}^{-1}$  em relação aos valores médios encontrados entre o 14º e o 23º (Figura 5 A).

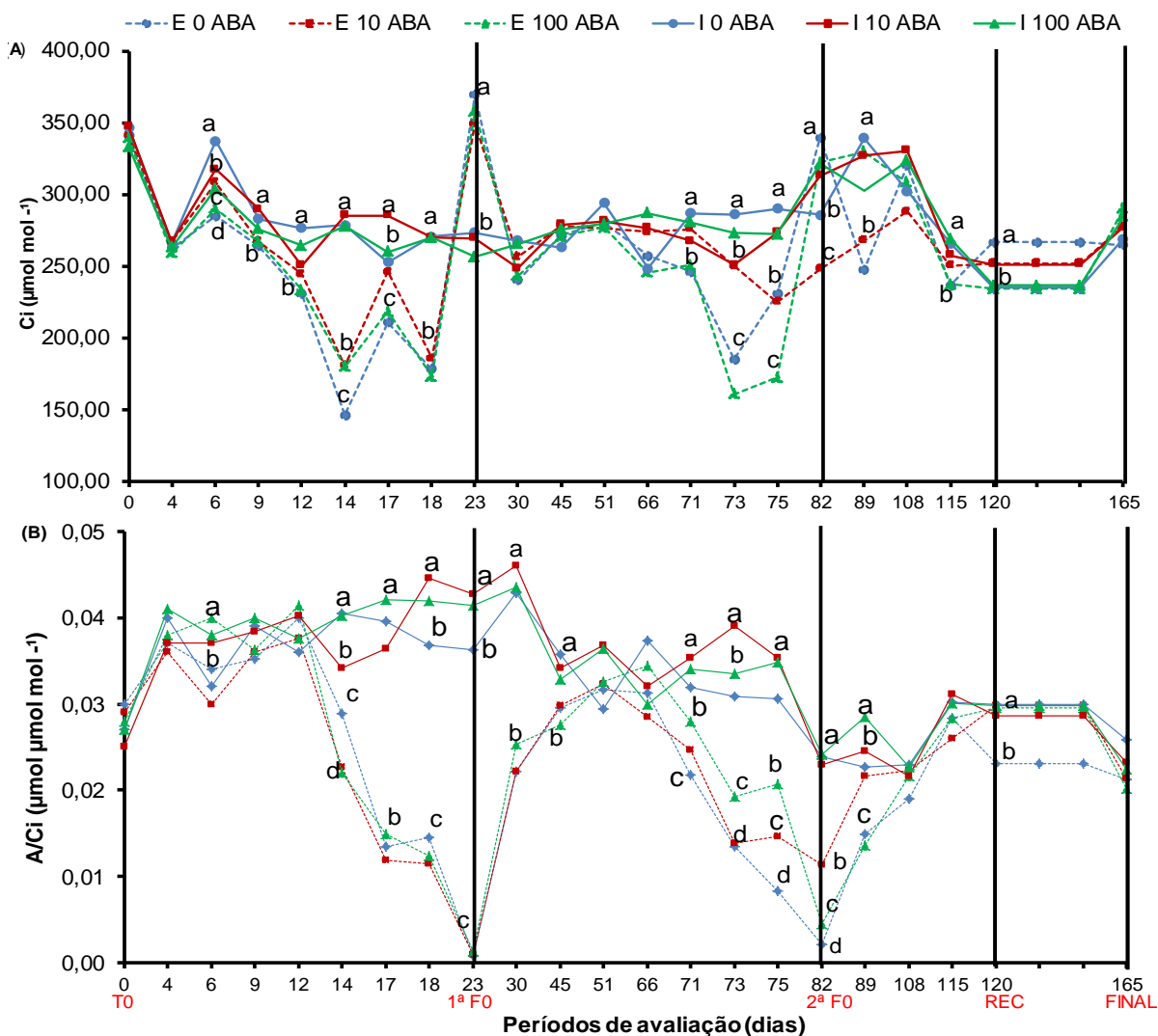


Figura 5. Valores médios da concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) (A) e da eficiência instantânea de carboxilação de  $\text{CO}_2$  ( $A/C_i$ ) (B) em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Calophyllum brasiliense* (I 0 ABA, I 10 ABA e I 100 ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA). Linha vertical contínua indica os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste Scott Knott a 5 % de probabilidade.

Para a eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ), as mudas sob déficit hídrico apresentaram valores inferiores em relação aos tratamentos irrigados na 1ª e 2ª F0 no entanto, as plantas do tratamento E 10 ABA apresentaram aumento  $0,0114 \mu\text{mol } \mu\text{mol}^{-1}$

<sup>1</sup> na 2ª F0 da A/Ci em relação aos demais tratamentos estressados E 0 ABA, 0,0020  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  e E 100 ABA, 0,0045  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  (Figura 5 B).

De maneira geral a  $G_s$  das mudas sob déficit hídrico foram inferiores à das mudas irrigadas a partir do 14º dia, sendo que quando reirrigadas os valores da  $G_s$  alcançaram os níveis próximos das plantas controle a exemplo no 51º não ocorreu diferenças significativas entre os tratamentos irrigados e sob déficit hídrico sendo valor médio entre 0,16 e 0,19  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 6 A).

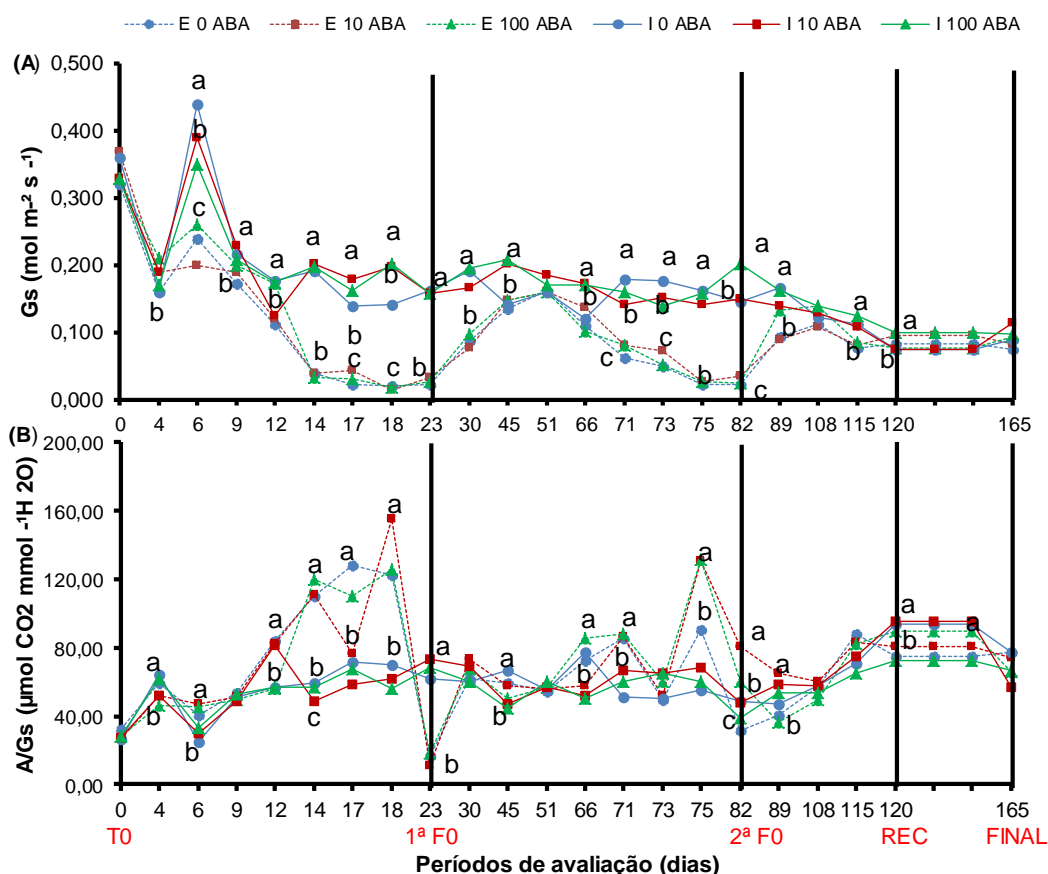


Figura 6. Valores médios da condutância estomática ( $G_s$ ) (A) e da eficiência intrínseca do uso da água ( $A/G_s$ ) (B), em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Calophyllum brasiliense* (I 0 ABA, I 10 ABA e I 100 ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA). Linha vertical contínua indica os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL) Dourados-MS, UFGD, 2018. Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste Scott Knott a 5 % de probabilidade.

Na segunda suspensão da irrigação ocorreu redução da  $G_s$  para todas as mudas sob déficit hídrico de modo que recuperaram seus níveis na fase de recuperação.



As mudas apresentaram oscilações nos valores de eficiência intrínseca do uso da água ( $A/G_s$ ) ao longo do experimento nos diferentes tratamentos empregados. As mudas sob déficit hídrico apresentaram valores superiores ao das irrigadas a partir do 14º dia de suspensão até a 1ª F0 com posterior diminuição dos valores, tendo essa mesma tendência observada também na 2ªF0. Durante o período de reirrigação observa-se que os valores de maneira geral oscilaram entre 50,60, 57,71 e 55,02  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$  na 1ª recuperação para os tratamentos E 0 ABA, E 10 ABA e E 100 ABA respectivamente (Figura 6 B).

Os valores de  $F_v/F_m$  foram inferiores nas mudas sob déficit hídrico na 1ª F0 em relação as irrigadas (Figura 7 A). As mudas não irrigadas e com aplicação de 10  $\mu\text{M}$  ABA apresentou valor superior que foi 0,797 aos demais tratamentos E 0 ABA (0,768) e E 100  $\mu\text{M}$  ABA (0,738) e próximos ao controle I 10  $\mu\text{M}$  ABA (0,801) (Figura 7 B).

As mudas tratadas com 100  $\mu\text{M}$  ABA apresentaram redução na 1ª F0, entretanto, na avaliação final ocorreu aumento em relação a recuperação de 0,785, 0,845 e 0,781 para 0,896, 0,845 e 0,830 da  $F_v/F_m$  em todas as concentrações 0, 10, e 100 ABA respectivamente (Figura 7C). Na concentração de 0 ABA observa-se alteração da  $F_v/F_m$  apenas na avaliação final, ao passo que na concentração de 10 ABA a 1ª e 2ª F0 e REC observa-se o mesmo comportamento (Figura 7C).

Eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II ( $F_0/F_m$ ) das mudas de *C. brasiliense* apresentaram interação significativa para os períodos de avaliação, regimes hídricos e concentrações de ABA (Figura 8).

No tempo zero (T0) observa-se valores superiores 4,47 de  $F_v/F_0$  em relação a 1ª e 2ª F0 que apresentaram 3,76 e 4,02 respectivamente (Figura 8 A). As plantas do tratamento E 0 ABA apresentaram valor inferior 3,75, em relação ao controle I 0 ABA 4,65 (Figura 8 B).

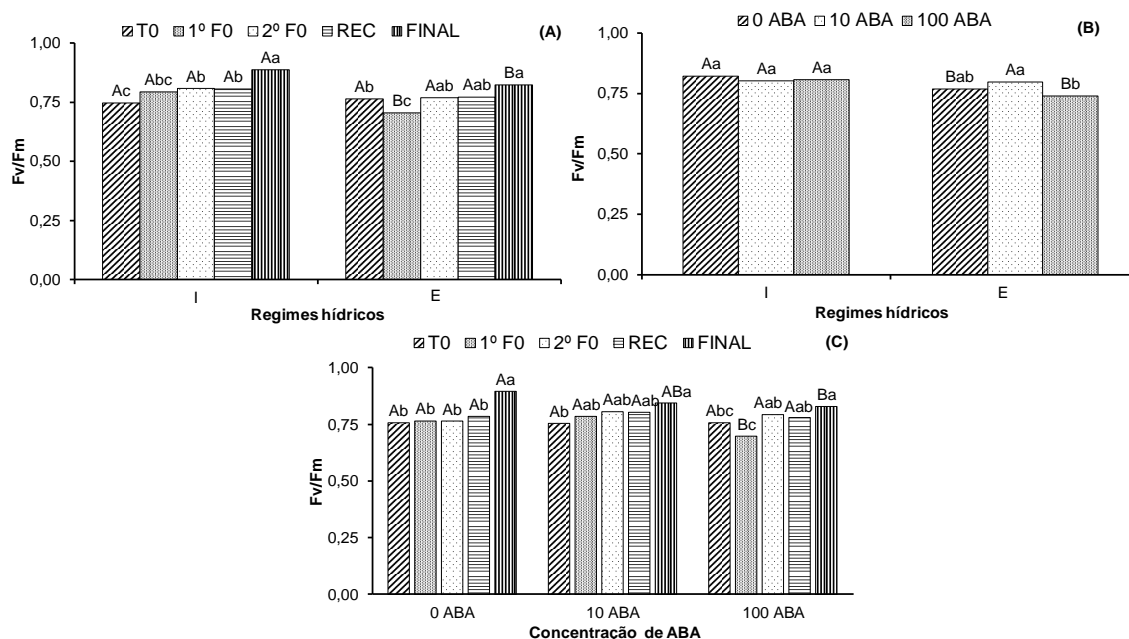


Figura 7. Valores médios da Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) (A, B e C), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100 µM), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos diferentes regimes hídricos (Figura A). Letras minúsculas comparam diferentes concentrações de ABA no mesmo regime hídrico e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes regimes hídricos (Figura B). Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação na mesma concentração e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes períodos de avaliação (Figura C). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

Para produção quântica basal (F0/Fm) as mudas apresentam valor superior na 1<sup>a</sup> F0 não diferindo significativamente da 2<sup>a</sup> F0, REC e FINAL (Figura 8 C). As mudas do tratamento E 0 ABA apresentou valor 0,016 maior quando comparadas com as mudas E 10 ABA as quais alcançaram valores próximos ao controle I 10 ABA sendo 0,195 e 0,192 respectivamente (Figura 8 D). observa-se também que o tratamento E 0 ABA foi 0,031 maior que o tratamento I 0 ABA (Figura 8 D).

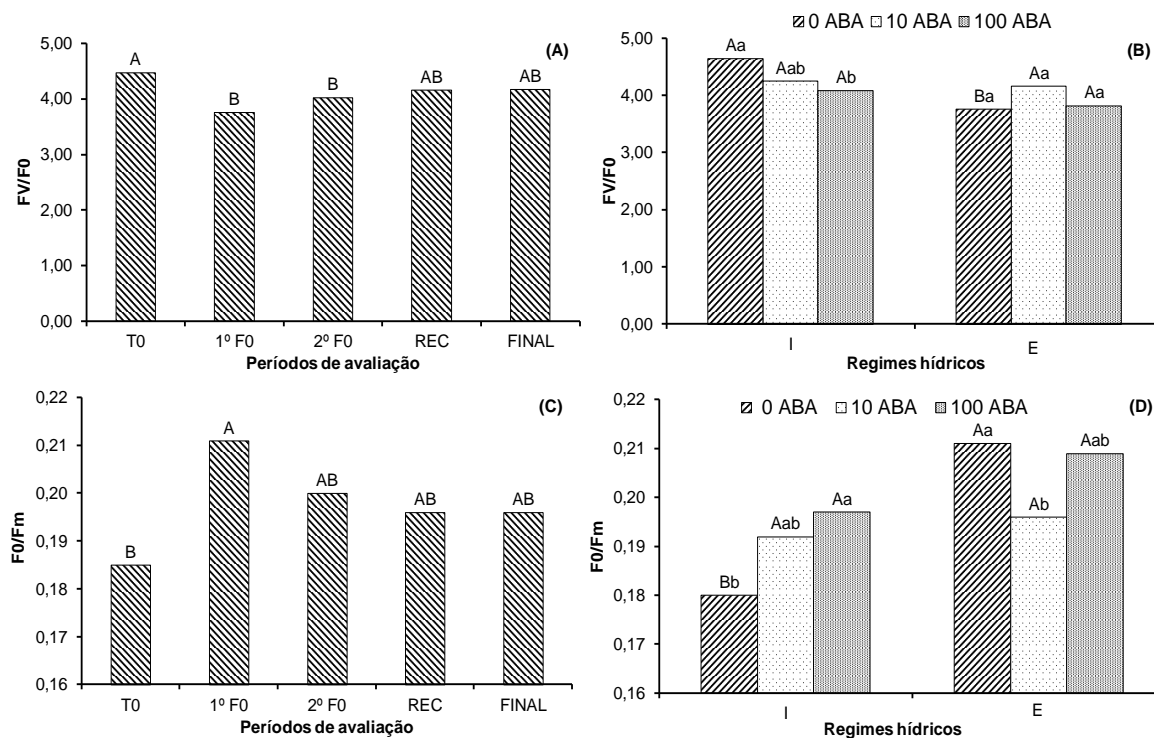


Figura 8. Valores médios da Eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) (A e B) e Produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II ( $F_0/F_m$ ) (C e D) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam diferentes concentrações de ABA no mesmo regime hídrico e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes regimes hídricos (Figura B e D). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

A catalase (CAT) apresentou maior atividade na 1ª e 2ª F0, em relação a média das demais épocas no entanto não apresentou efeito significativo quanto às concentrações de ABA. A maior atividade CAT da nas folhas foi observada nas mudas sob déficit hídrico nos dois ciclos de fotossíntese zero e recuperação quando comparadas com as mudas irrigadas, sendo que na 1ª F0 os valores foram superiores nas demais avaliações (Figura 9 A).

A folha e raiz apresentaram as mesmas atividades de CAT, após a 2ª F0 diminuiu a atividade da CAT reduzindo em ambas as partes nas mudas sob déficit hídrico aproximando-se dos valores do T0 (Figura 9 B).

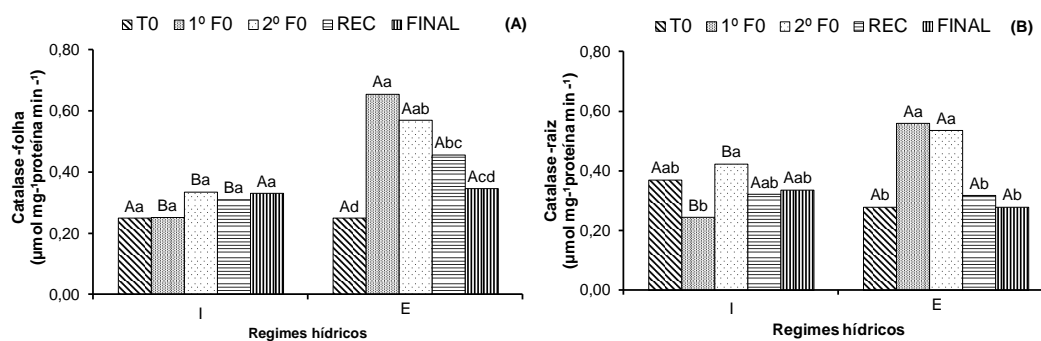


Figura 9. Atividade da enzima catalase na folha (A) e raiz (B) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos diferentes regimes hídricos (Figura A e B). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação.

A maior atividade de peroxidase (POD) nas folhas foram observados nas mudas não irrigadas sendo que a concentração de 100  $\mu\text{M}$  ABA foi superior aos demais tratamentos (Figura 10 A). A atividade da POD na 1<sup>a</sup> F0 e 2<sup>a</sup> F0 foi mais elevado em todas as concentrações de ABA (Figura 10 B).

Na raiz a atividade da POD foi menor que nas folhas, plantas que não foram irrigadas na 1<sup>a</sup> F0 observa-se maior atividade, diferindo dos outros períodos de avaliação em relação as mudas não irrigadas (Figura 10 C). Nas irrigadas observa-se que no período T0 a POD apresentou um valor inferior 0,17 enquanto os demais períodos apresentaram media de 0,39 de atividade da POD (Figura 10 D).

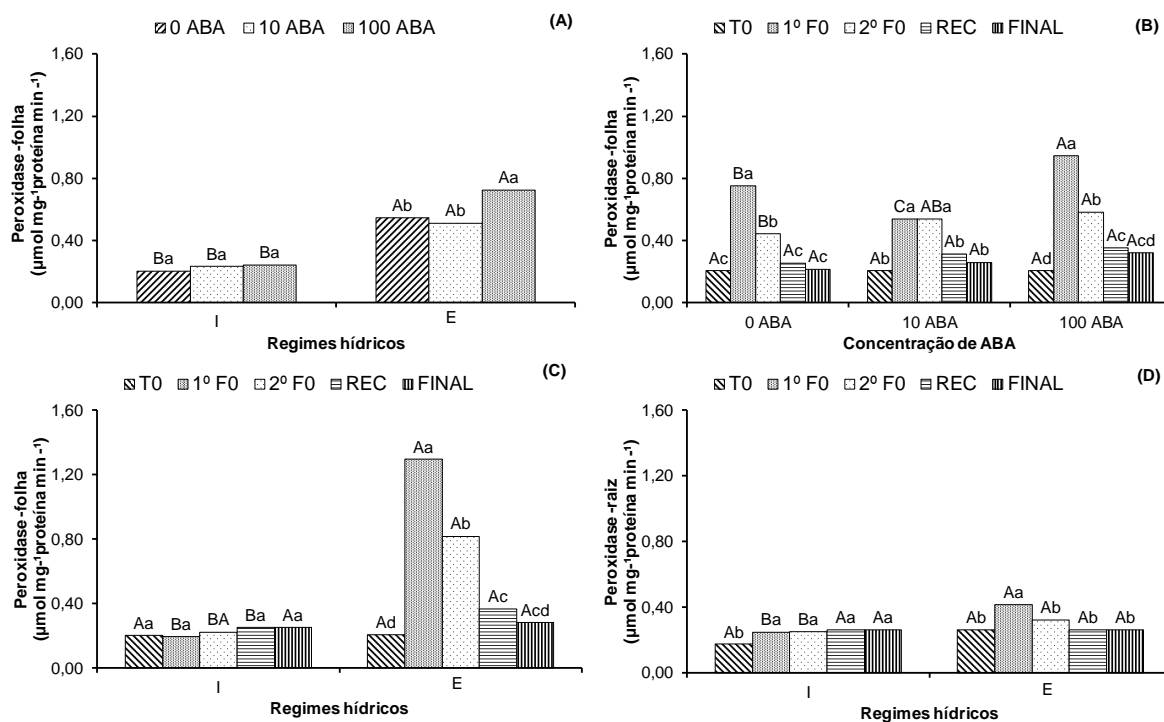


Figura 10. Atividade da enzima peroxidase na folha ( A, B e C) e raiz ( D) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas ( I ), submetidas a condições de déficit hídrico ( E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam diferentes concentrações de ABA no mesmo regime hídrico e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes regimes hídricos (Figura A). Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação na mesma concentração e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes períodos de avaliação (Figura B). Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos diferentes regimes hídricos (Figura C e D). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nas folhas, foi maior nas mudas não irrigadas na 1ª e 2ª F0 (Figura 11 A). Na 1ª e 2ª F0 a maior atividade da SOD foi observado nas plantas tratadas com 10  $\mu\text{M}$  ABA (Figura 11 B). Observou-se em relação aos períodos e concentrações de ABA que na 2º F0 apresentou maior atividade da SOD (Figura 11 B).

Dentre os períodos de avaliação, o tratamento 0 ABA na 2º F0 foi superior em relação aos outros períodos na mesma condição, indicando que mesmo sem aplicação exógena de ABA, a planta produziu mecanismos para sua proteção (Figura 11 B). Na raiz a maior atividade de SOD foi observada nos dois ciclos de fotossíntese zero para os tratamento sob déficit hídrico (Figura 11 C).

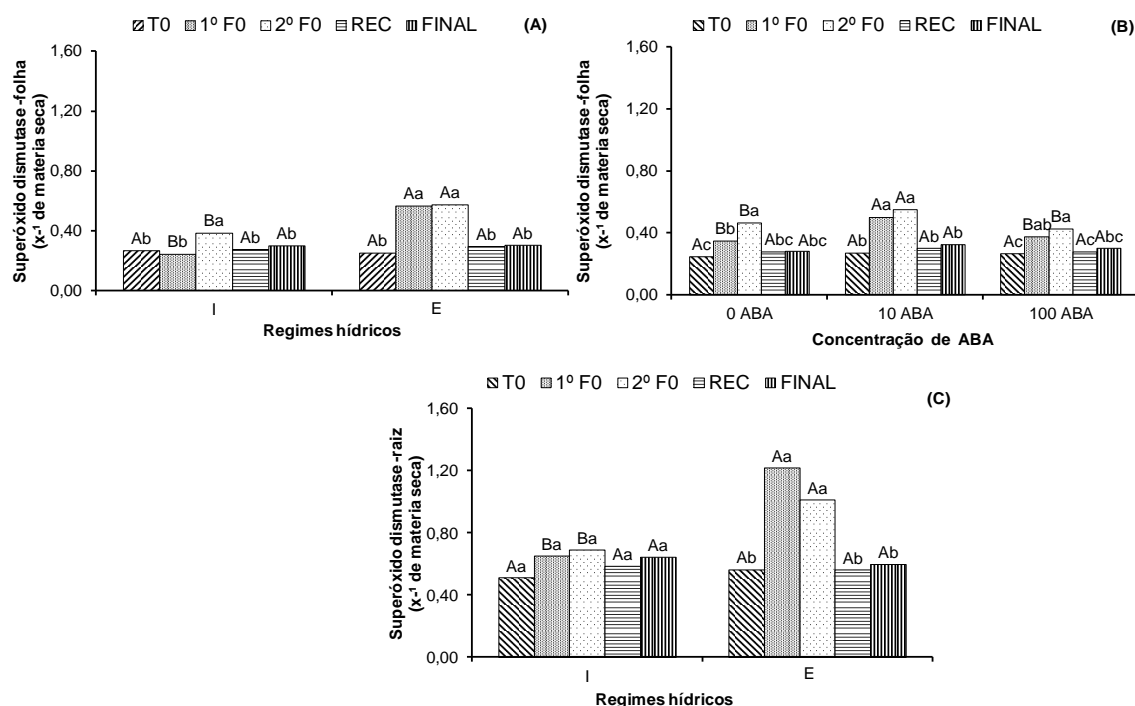


Figura 11. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) na folha (A e B) e raiz (C) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos diferentes regimes hídricos (Figura A e C). Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação na mesma concentração e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes períodos de avaliação (Figura B). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

#### 4. DISCUSSÃO

A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  ABA nas mudas não irrigadas proporcionou melhores resultados no  $\Psi_w$ . Nas plantas, a deficiência hídrica afeta o potencial hídrico foliar, o status nutricional e as trocas gasosas foliares, assim como, pode alterar outros mecanismos e processos fisiológicos relacionados ao crescimento vegetal (LIBERATO et al., 2006; GONÇALVES et al., 2009)

Trabalhando com o *Khaya ivorensis* A. Chev. em condições de estresse hídrico, Albuquerque et al. (2013) verificaram reduções no potencial hídrico foliar nas plantas sem rega, que alcançaram valores de -2,66 MPa. Plantas jovens de *Carapa guianensis* Aubl. sob déficit hídrico apresentaram redução do  $\Psi_w$  em mais de quatro vezes após 21 dias de

suspensão da irrigação, enquanto que as plantas irrigadas mantiveram valores próximos a zero (GONÇALVES et al., 2009).

Nos períodos de avaliação as mudas com irrigação apresentaram variações de  $\Psi_w$  o que pode ser atribuído às oscilações da umidade relativa do ar e da temperatura. Na avaliação final o  $\Psi_w$ , embora não tenha se diferenciado significativamente, as mudas irrigadas apresentaram valor ligeiramente inferior ao das não irrigadas possivelmente pela ação prolongada do ABA. Também pode ser observado o efeito prolongado do ABA nas trocas gasosas onde a concentração 10  $\mu\text{M}$  ABA, possibilitou melhores resultados em relação ao tratamento E 0 ABA na 2<sup>o</sup> F0 65 dias após a aplicação do ABA.

A redução da disponibilidade hídrica causa efeitos diretos na capacidade fotossintética das plantas, afetando as reações bioquímicas e o funcionamento do aparato fotossintético e fechamento estomático (TONELLO e TEIXEIRA FILHO, 2012; CUNHA et al., 2013).

Após a reirrigação as mudas levaram 43 dias para se recuperar. Na 2<sup>o</sup> F0 observa-se diferenças significativas nos tratamentos sob déficit hídrico sendo que a concentração 10  $\mu\text{M}$  ABA possibilitou maior taxa fotossintética  $A$ , e após 24 dias da reirrigação as mudas estressadas estabeleceram valores próximos ao controle, independentemente da aplicação ou não do ABA. De acordo com Flexas e Medrano (2002), a redução da  $A$ , em plantas submetidas a déficit hídrico, pode ocorrer por diferentes razões, tais como limitação estomática ao influxo de  $\text{CO}_2$ , danos ao aparato fotoquímico da fotossíntese, redução na síntese de ATP, e diminuição na atividade da Rubisco ou em sua taxa de regeneração.

O status hídrico das plantas influencia diretamente a sua capacidade em assimilar carbono, ambos regulados pela taxa de  $G_s$  e, sob condições de déficit hídrico, as plantas normalmente reduzem a  $A$  pela maior resistência estomática criada para reduzir a perda de água pelo processo transpiratório (YOKOTA et al., 2006; FERREIRA et al., 2009). Assim, a manutenção de elevadas taxa  $A$  associadas a menores valores de  $G_s$  e  $E$  são características de plantas tolerantes a menor disponibilidade de água no solo, que reflete nas maiores  $A/G_s$  e  $A/E$  (MA et al., 2004). Ressalta-se que essas características foram importantes para que as mudas ajustarem ao ambiente estressante, pois a espécie embora tenha adaptabilidade a uma variedade de habitats ela ocorre preferencialmente em

ambientes com elevada disponibilidade hídrica Wanginiak (2016) justificando os melhores resultados para mudas irrigadas.

As mudas sob déficit hídrico reduziram a  $G_s$  aos 14 dias de suspensão da irrigação, sendo constante até o 1º F0, efeitos similares ao da taxa  $A$ , demonstrando o efeito direto entre a  $G_s$  e  $A$ . Os resultados das taxas  $E$  corroboram com os encontrados por Campelo et al. (2015) sendo que as variações na  $E$  seguiram a mesma tendência da  $G_s$  sugerindo que as plantas diminuem as perdas de água por transpiração por meio do fechamento estomático de acordo com as condições de disponibilidade hídrica.

O fechamento estomático também ocorre em função da redução da umidade relativa do ar, que influencia diretamente a turgescência das células-guardas (CASSON e HETHERINGTON, 2010), sendo esse fechamento é considerado causa primária da redução da taxa fotossintética e da taxa de transpiração sob condições de déficit hídrico (GONÇALVES et al., 2009). Campelo et al. (2015) verificaram que o *Swietenia macrophylla* King. e *Calophyllum brasiliense* Cambes. tiveram a taxa de transpiração ( $E$ ) mais afetada nas épocas mais secas, seguida de recuperação na época chuvosa em relação à outras espécies *Astronium fraxinifolium* Schott., *Handroanthus serratifolius* (Vahl.), *Handroanthus impetiginosa* (Mart.) Matos e *Simarouba amara* Aubl..

Na 2º F0, a concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ) das mudas cultivadas sob déficit hídrico e com 10  $\mu M$  ABA foi menor em relação aos demais tratamentos, sugerindo maior eficiência de carboxilação da Rubisco ( $A/C_i$ ). As mudas estressadas sem aplicação do ABA apresentaram aumento da  $C_i$  e diminuição na  $A/C_i$ . O aumento da  $C_i$  no 23º dia, momento em que houve redução taxa  $A$ , pode ser atribuído à menor eficiência de carboxilação da Rubisco conforme sugerido por Costa et al. (2015), que observaram aumento da  $C_i$  em mudas de *Myracrodruon urundeuva* sob estresse hídrico ou a fatores não-estomáticos, como problemas no transporte de elétrons e na fotofosforilação (KAISER, 1987). Estudos têm verificado reduções nas taxas fotossintéticas de plantas em deficiência hídrica mesmo sem alteração das concentrações internas de  $CO_2$  (PACHECO et al., 2011; COSTA et al., 2015; CAMPELO et al., 2015).

Pacheco et al. (2011) observaram efeitos potenciais do ABA, após seis dias de suspensão da irrigação em mudas de *Calendula officinalis* L., ocorrendo controle estomático via ação hormonal. Cerqueira (2011) avaliando déficit hídrico em *Vitis vinifera* L. observou que sob deficiência hídrica apresentaram teor médio de ABA três vezes maior



do que em plantas controle. No entanto para *C. brasiliense* no presente estudo não foi observado a ação do ABA na  $G_s$  para as mudas sob déficit hídrico. Entretanto a aplicação de ABA favoreceu a eficiência intrínseca do uso da água ( $A/G_s$ ), nos períodos antecedendo as fotossínteses zero especialmente no 75° dia de avaliação onde os tratamentos E 10 ABA e E 100 ABA apresentaram maior  $A/G_s$  e relação aos outros tratamentos.

As mudas de *C. brasiliense* apresentaram redução da razão  $F_v/F_m$  quando submetidas ao déficit hídrico. Vários autores relataram redução na relação  $F_v/F_m$  em diferentes espécies de plantas sob estresse hídrico como por exemplo *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (ESPOSTI, 2013), *Carapa guianensis* (GONÇALVES et al., 2009), *Swietenia macrophylla* King, *Calophyllum brasiliense* e *Handroanthus albus* (Cham.) Mattos (CAMPELO et al., 2015).

Comparando a razão  $F_v/F_m$  nas períodos de avaliação em relação aos regimes hídricos, observa-se redução nos valores na 1° F0 constatando dessa forma estresse das mudas não irrigadas. Em relação o efeito do ABA, a concentração 10  $\mu\text{M}$  ABA possibilitou valores próximos ao controle e acima de 0,75.

Após reirrigação a relação  $F_v/F_m$  se restabeleceu sendo que ambas as concentrações de ABA na avaliação FINAL apresentaram valores acima de 0,75, indicando que não houve danos permanentes no aparato fotossintético. A eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) foi inferior na 1ª F0 sendo que na recuperação e avaliação final recuperou valores próximos ao controle, mostrando a eficiência das mudas de *C. brasiliense* em tolerar o estresse.

A relação  $F_v/F_0$  pode ser utilizada como indicador da eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII e/ou da atividade fotossintética potencial, com valores entre 4 e 6 sendo considerado indicativo de estresse valores abaixo de 4 (ZANANDREA et al., 2006). Quando ocorre o aumento da produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II ( $F_0/F_m$ ), pode ser considerado como um parâmetro indicativo de estresse, no qual os valores normais estão entre 0,14 e 0,20 (ROHÁCEK, 2002). Estes resultados corroboram com a razão  $F_0/F_m$  que apresentaram valores superiores na 1° F0, tendo em vista os valores inferiores a 4,0 na relação  $F_v/F_0$  e superiores 0,20 relação  $F_0/F_m$  são indicativos de estresse.

As espécies como *Swietenia macrophylla*, *Calophyllum brasiliense* e *Handroanthus albus* apresentaram maior sensibilidade ao déficit hídrico em comparação com outras espécies, sendo essa situação evidenciado pelas maiores reduções nas trocas gasosas e na eficiência fotoquímica do fotossistema II (CAMPELO et al., 2015). Souza et al. (2013) trabalhando com concentrações de ABA em *Zea mays* L. verificaram atenuação do estresse hídrico, reduzindo as funções do fotossistema II. No início do estresse hídrico, uma maior quantidade de ABA nas folhas pode ser importante para a ativação do sistema antioxidante enzimático (YE et al., 2011). A atividade das enzimas antioxidante é superior em plantas expostas a condições de estresse, e a sua elevada atividade está relacionada à tolerância ao estresse (ALLEN et al., 1997; CARVALHO et al., 2012).

A concentração 10  $\mu$ M ABA tem maior atividade da enzima SOD, ao passo que a atividade da POX foi menor que no tratamento de 0 ABA na 1ª F0. Esse resultado sugere que a ação hormonal na atividade enzimática varia de acordo com a concentração, a enzima e parte da planta em estudo. A SOD é considerada a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo, devido sua atuação na dismutação do superóxido transformando-o em  $H_2O_2 + O_2$  (GRATÃO et al., 2005; BARBOSA et al., 2014). Após a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio pela SOD, os níveis intracelulares de  $H_2O_2$  necessitam serem regulados através de enzimas, sendo as mais importantes as POD e as catalases CAT, localizadas em quase todas as partes da célula (BLOKHINA et al., 2003; BARBOSA et al., 2014).

A POD tem papel na prevenção e proteção aos efeitos do estresse oxidativo tornando-se uma enzima chave no processo de aclimação das mudas (SARAIVA et al., 2014). A atividade da POD acelera a biossíntese de certos compostos fenólicos, levando à biossíntese de lignina, a qual, por sua vez, reduz a perda de água dos tecidos e protege a planta do estresse hídrico (PACHECO et al., 2011). Carvalho et al. (2012) observaram aumento da enzima peroxidase em função do estresse hídrico, mostrando seu potencial para sequestro das espécies reativas de oxigênio em *Hyptis pectinata* (L.) Poit..

O aumento da atividade da CAT sob condições de deficiência hídrica também foi observado em plantas de *Jatropha curcas* L., (LUIS, 2009) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. (ROSA et al., 2017) e em *Schinus terebinthifolius* Raddi. (NUNES et al., 2017). Souza (2012) avaliando cultivares de *Zea mays* L. submetidas ao estresse

hídrico com e sem ABA durante dez dias observou que a aplicação de ABA elevou a atividade da CAT.

De maneira geral as mudas de *C. brasiliense* quando submetidas ao estresse hídrico por déficit apresentaram redução das trocas gasosas, potencial hídrico da folha e aumento da atividade enzimática. Foi observado a redução da condutância estomática acompanhada da taxa fotossintética e transpiratória, no entanto as mudas que receberam a concentração 10  $\mu\text{M}$  de ABA mantiveram uma taxa fotossintética superior aos demais tratamentos do déficit hídrico nos períodos de fotossíntese nula, apresentando superioridade nas relações  $A/E$ ,  $A/C_i$  e  $A/G_s$ , o que pode ser atribuído a ação do ABA em promover maior tolerância a essas mudas durante tempo de exposição ao déficit hídrico.

A influência da concentração 10  $\mu\text{M}$  de ABA também foi observada na fluorescência da clorofila *a* sugerindo que as mudas desse tratamento não apresentaram estresse de acordo com parâmetros indicativos de estresse citados, na 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> F0. As mudas sob do déficit hídrico aumentaram a atividade de enzimas antioxidantes, nos períodos de fotossíntese zero, variando-as de acordo com a enzima, a concentração de ABA e a parte da planta. No entanto após reirrigação das mudas na avaliação FINAL, todos os parâmetros em estudo, recuperaram chegando aos valores do controle indicando a plasticidade fisiológica das mudas de *C. brasiliense* sob déficit hídrico garantindo assim sua sobrevivência.

## 5. CONCLUSÃO

O déficit hídrico intermitente reduz o status hídrico, as trocas gasosas e prejudica o funcionamento do aparato fotoquímico.

A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  de ABA nas plantas estressadas minimiza o efeito estressante do déficit hídrico e otimiza a recuperação das plantas após reirrigação, mantendo a integridade e funcionamento do aparato fotossintético.

A atividade das enzimas antioxidantes durante os períodos de suspensão hídrica aumentou e variou de acordo com a enzima, concentração de ABA e parte da planta.

Após reirrigação das mudas e até o final das avaliações, todas as características metabólicas estudadas

sob-restrição hídrica alcançaram valores próximos das mudas controle, os resultados observados neste trabalho contrariam o hipótese testada, sugerindo a plasticidade fisiológica da espécie durante a fase de muda.

## 6. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASAMAA, K.; SÖBER, A. Stomatal sensitivities to changes in leaf water potential, air humidity, CO<sub>2</sub> concentration and light intensity, and the effect of abscisic acid on the sensitivities in six temperate deciduous tree species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 72–78, 2011.

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013.

ALLEN, R. D.; WEBB, R. P.; SCHAKE, S. A. Use of transgenic plants to study antioxidant defenses. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, n. 3, p. 473-479, 1997.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. DE A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARAI, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p.453-460, 2014.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; SANTOS, A. O. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, 2000.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

CAMPELO, D. H.; LACERDA, C. F.; SOUSA, J. A.; CORREIA, D.; BEZERRA, A. M. E.; ARAÚJO, J. D. M.; NEVES, A. L. R. Trocas gasosas e eficiência do fotossistema II em plantas adultas de seis espécies florestais em função do suprimento de água no solo. **Revista Árvore**, v. 39, n. 5, p. 973-983, 2015.

CARVALHO, J. S. B. de.; MARTINS, J. D. L.; MOREIRA, K. A. Respostas fisiológicas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. ao estresse hídrico. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 12, n. 2, p. 20-28, 2012.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnologia; Colombo-PR: Embrapa Florestas, p. 1039, 2003.

CASSON, S. A.; HETHERINGTON, A. M. Environmental regulation of stomatal development. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 13, p. 90–95, 2010.

CERQUEIRA, R. C. Influência do frio e do déficit hídrico nas características fisiológicas e bioquímicas em videiras (*Vitis vinifera* L.) cv. *Thompson seedless*. 2011. 122p. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Horticultura), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, p.122, 2011.

COSTA, A. S.; FREIRE, A. L. O.; BAKKE, I. A.; PEREIRA, F. H. F. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) Allemão ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga**, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.

CUNHA, R. L. M.; FILHO, B. G. S.; COSTA, R. C. L.; VIÉGAS, I. J. M. Physiological assessment in young Brazilian and African mahogany plants during the dry and rainy seasons in northeastern Para state, Brazil. **Revista Ciências Agrárias**, v. 56, n. 3, p. 255-260, 2013.

ESPOSTI, M. S. de O. D. **Estresse hídrico em duas espécies arbóreas de diferentes estágios sucessionais. 2013. 46p. Dissertação** (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Estadual Do Norte Fluminense, Campos Dos Goytacazes, p. 46, 2013.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, L. M. M.; TONINI, H. Comportamento da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) e da cupiúba (*Goupia glabra*) em sistema agrosilvicultural na região da Confiança, Cantá – Roraima. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 4, p. 835-842, 2009.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, v. 89, p. 183-189, 2002.

FRANÇA, P. H. T.; SILVA, E. C. A. ; SILVA, T. C. ; BRASIL, N. A. ; NOGUEIRA, R. J. M. C. Análise fisiológica em mudas de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess.) submetidas ao déficit hídrico. **Agropecuária Científica no semi-árido**, v. 13, p. 264-269, 2017.

GONÇALVES, J. F. DE C.; SILVA, C. E. M. DA.; GUIMARÃES, D. G. Características fotossintéticas e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 1, p. 8-14, 2009.

GRATÃO, P.L. POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the Life of Heavy Metal Stressed Plants a Little Easier. *Functional Plant Biology*, v. 32, p. 481 - 494, 2005.

INÁCIO, M. C.; SILVA, E. S.; SOUZA, M. E.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Mensageiros secundários relacionados à ação dos hormônios vegetais. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 4, p. 438-446, 2011.

KAISER, W. M. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. **Physiologia Plantarum**, v. 71, n. 1, p. 142-150, 1987.

KALIL FILHO, A. N. MARZOLLO, L. G.; LOPES, A. J.; WENDLING, I. Produção de mudas de guanandi. **Comunicado Técnico Embrapa**, Colombo, , n. 177, p. 4, 2007.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa. 531 p., 2004.

LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v. 89, n. 2, p. 871-885, 2002.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation associated metabolism in relation water deficits in higher plants. **Plant Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 275-294, 2002.

LEUNG, J. GIRAUDAT, J. ABSCISIC ACID SIGNAL TRANSDUCTION. **Physioland Plant Mol Biol**, v. 49, p. 199-222, 1998.

LIBERATO, M. A. R.; GONCALVES, J. F. C.; CHEVREUIL, L. R.; NINA JUNIOR, A. R.; FERNANDES, A. V.; SANTOS JUNIOR, U. M. Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 315-323, 2006.

LUÍS, R. M. F. C. B. Respostas de *Jatropha curcas* L. ao déficit hídrico: caracterização bioquímica e ecofisiológica. 2009. 62p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Agrônoma)- Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, p. 62, 2009.

MA, C. C.; GAO, Y. B.; GUO, H. Y.; WANG, J. L. Photosynthesis, transpiration and water use efficiency of *Caragana microphylla*, *C. intermedia* and *C. korshinskii*. **Photosynthetica**, v. 42, n. 1, p. 65-70, 2004.

MARTINAZZO, E. G.; SILVA, D. M.; BIANCHI, V. J.; BACARIN, M. A. Fluorescência da clorofila a em plantas de pessegueiro do cultivar maciel enxertada sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 678-685, 2012.

MOUGET, J.; TREMBLIN, G. Suitability of the Fluorescence Monitoring System (FMS, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. **Aquatic Botany**, v. 74, p. 219-231, 2002.

NUNES, D. P.; SCALON, S. de. P. Q.; DRESCH, D. M.; GORDIN, C. R. B. . Photosynthetic and enzymatic metabolism of *Schinus terebinthifolius* Raddi. seedlings under water deficit. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, p. 676-682, 2017.

PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. P. C.; SOUZA, G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, p. 275-281, 2011.

PORTES, M. T. ALVES, T. H.; SOUZA, G. M. Water deficit affects photosynthetic induction in *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae) and *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) growing in understorey and gap conditions. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 4, p. 491-512, 2006.

QUEIROZ, C. G. S.; LEMOS FILHO, J. P.; GARCIA, Q. S. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-so-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 14, n. 1, p. 59-63, 2002.

ROCK, C. D. Pathways to abscisic acid-regulated gene expression. **New Phytologist**, v.148, p. 357-396, 2000.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll Fluorescence Parameters: The Definitions, Photosynthetic Meaning, and Mutual Relationships. **Photosynthetica**, , v.40, p.13-29, 2002.

ROSA, D. B. C. J.; SCALON, S. de P. Q.; CREMON, T.; CECCON, F.; DRESCH, D. M. . Gas exchange and antioxidant activity in seedlings of *Copaifera langsdorffii* Desf. under different water conditions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 3039-3050, 2017.

SARAIVA, G. F. R.; SOUZA, G. M.; RODRIGUES, J. D. Aclimação e fisiologia de mudas de guanandi cultivadas em telas de sombreamento foto-protetoras. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 01-10, 2014.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHISHINOZAKI, K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and crosstalk between two stress signaling pathways. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, n. 3, p. 217-223, 2000.

SOUZA, T. C. **Aplicação de ácido abscísico (ABA) e caracterização fisiológica e anatômica em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca**. Tese. Lavras, MG. 2012.

SOUZA, T. C. de.; MAGALHAES, P. C.; CASTRO, E. M. de.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de.; MARABESI, M. A. The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance. **Acta Physiol Plant**, v. 35, p. 515–527, 2013.

SUASSUNA, J. F.; MELO, A. S.; COSTA, F. S.; FERNANDES, P. D.; FERREIRA, R. S.; SOUSA, M. S. S. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivado sob diferentes lâminas de irrigação. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p.1251-1262, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª edição. Editora Artmed, p. 719 2013.

TARDIEU, F.; DAVIES, W. J. Stomatal response to ABA is a function of current plant water status. **Plant Physiology**, v. 98, n. 2, p. 540-545, 1992.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Relações hídricas e trocas gasosas na seleção precoce de clones de eucalipto para ambientes com diferenciada disponibilidade de água no solo. **Floresta**, v.38, n. 2, p. 387-400, 2008.

TONELLO, K.C.; TEIXEIRA FILHO, J. Ecofisiologia de três espécies arbóreas nativas da mata atlântica do Brasil em diferentes regimes de água. **Irriga**, v.17, n. 1, p.58-101, 2012.

WANGINIÁK, T. C. R. Desenvolvimento inicial de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess., clusiaceae) em sistema sob cobertura e a pleno sol. 2016. 44p. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Florestal) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p. 44, 2016.

YE, N.; ZHU, G.; LIU, Y.; LI, Y.; ZHANG, J. ABA Controls H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation through the induction of OsCATB in rice leaves under water stress. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 52, p. 689-698, 2011.

YOKOTA, A. K. T.; AKASHI, K. Water stress. In: MADHAVA RAO, K. V.; RAGHAVENDRA, A.S.; JANARDHAN REDDY, K. (Eds.). **Physiology and molecular Biology of Stress Tolerance in Plants**, Berlin: Springer-Verlag, p. 15–39.2006.

ZANANDREA, I.; NASSI, F. L.; TURCHETTO, A. C.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.



**CAPITULO II: CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Calophyllum brasiliense* (Cambess.) SUBMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO ABSCÍSIKO.**

**RESUMO**

Objetivou-se com o estudo avaliar o efeito de diferentes concentrações de ácido abscísico no crescimento inicial e na morfoanatomia de mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. sob déficit hídrico intermitente. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente com seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA (I 0 ABA); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (I 10 ABA); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (I 100 ABA); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E 0 ABA); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (E 10 ABA); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100 ABA) e quatro repetições. As mudas de *C. brasiliense* quando submetidas déficit hídrico apresentaram redução nos parâmetros de biomassa e crescimento como diâmetro do caule e índice de clorofila. A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  ABA pode estimular a tolerância ao déficit hídrico ao manter o  $\Psi_w$  e o CRA das folhas próximas ao das plantas controle e estimula o crescimento do sistema radicular e aumento da área foliar. A restrição hídrica desencadeia respostas adaptativas em mudas *Calophyllum brasiliense*, como redução da área foliar e aumento no crescimento das raízes e da densidade estomática. Durante o período avaliado, as plantas não recuperaram seu crescimento e aspectos anatômicos após o restabelecimento da irrigação. O déficit hídrico limita o crescimento e o status hídrico das plantas de *C. brasiliense*.

**Palavras-chave:** restrição hídrica, tolerância, recuperação, fitormônio.

**CHAPTER II: GROWTH OF CHANGES OF CALYLLIUMUM BRUILLIANA (Cambess.) SUBMITTED TO INTERMITTENT HYDRICAL DEFICIT AND ABSCYSIC ACID CONCENTRATIONS.**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the effect of different concentrations of abscisic acid on initial growth and on the morphology of *calophyllum brasiliense* Cambess. under intermittent water deficit. The experiment was carried out in an interim design with six treatments: 1) daily irrigation without ABA (I 0 ABA); 2) daily irrigation + 10  $\mu\text{M}$  ABA (I 10 ABA); 3) daily irrigation + 100  $\mu\text{M}$  ABA (I 100 ABA); 4) suspension of daily irrigation without ABA (E 0 ABA); 5) daily irrigation suspension + 10  $\mu\text{M}$  ABA (E 10 ABA); 6) suspension of daily irrigation + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100 ABA) and four repetitions. The *C. brasiliense* seedlings when submitted to water deficit showed reduction in biomass parameters and growth as stem diameter and chlorophyll index. The application of 10  $\mu\text{M}$  ABA can stimulate tolerance to water deficit by maintaining the  $\Psi_w$  and CRA of the leaves close to the control plants and stimulates the growth of the root system and increase of the leaf area. The water restriction triggers adaptive responses in *Calophyllum brasiliense* seedlings, such as reduction of leaf area and increase in root growth and stomatal density. During the evaluated period, the plants did not recover their growth and anatomical aspects after irrigation reestablishment. The water deficit limits the growth and water status of *C. brasiliense* plants.

**Key words:** water restriction, tolerance, recovery, phytohormonium.

## 1. INTRODUÇÃO

*O Calophyllum brasiliense* Cambess é uma espécie conhecida popularmente em todo Brasil como guanandi, taxonomicamente pertencente à família Clusiaceae (ex Guttiferae), ocorre em todas as bacias hidrográficas brasileiras, desde a América Central até o Litoral Sul do Brasil, na Floresta Amazônica, Floresta Atlântica e de Restinga e em Florestas de Galeria, Cerrado, com preferência em colonizar solos com alta saturação hídrica (OLIVEIRA-FILHO e RATTER 1995 ; REIS et al., 2009 ; OLIVEIRA e JOLY, 2010). O *C. brasiliense* é considerada uma espécie heliófila, com grande agressividade sobre a vegetação brejosa mais esparsa, porém alguns autores consideram-no uma espécie esciófila, que se regenera abundantemente na sombra (CARVALHO, 2003).

O *C. brasiliense* tem diversas aplicações e utilizações dentre as quais, a casca e o látex podem ser utilizados na medicina, na veterinária, como planta ornamental, na apicultura, no reflorestamento ambiental, em sistemas agroflorestais, por ser muito procurada pela fauna possui ainda potencial para recuperação de áreas degradadas, sua semente é um atrativo da fauna que auxilia na dispersão da espécie, além do potencial de facilitação onde ela propicia condições favoráveis ao estabelecimento de outras espécies contribuindo para o processo ecológico (KALIL FILHO et al., 2007; WANGINIYAK, 2016).

Condicionadas às mudanças climáticas ambientais, as plantas sofrem alterações fisiológicas, anatômicas e/ou modificações estruturais para se adaptarem e se aclimatarem aos estresses abióticos que podem ser definidos como qualquer alteração de crescimento dentro do habitat natural da planta que perturba sua homeostase metabólica tais como estresse hídrico, salino e térmico (GONDIM et al.; 2010; REDMAN et al., 2011).

As plantas podem responder ao déficit hídrico diminuindo a área foliar, abscisão foliar, fechamento estomático, crescimento de raízes, redução de clorofila, limitação da fotossíntese, aumento no depósito de cera nas folhas, diminuição do tamanho dos estômatos e aumentando a densidade estomática (COSTA e MARENCO, 2007; PINTO et al.; 2008, SCALON et al., 2011, Nascimento et al., 2011; ASHARAF e HARRIS, 2013; CAMPELO, 2014; NUNES et al., 2017)

Em plantas estressadas por falta de água ocorre aumento do nível de ácido abscísico (ABA) (CERQUEIRA, 2011). Acredita-se que ele estimule o fechamento

estomático e aumenta a relação raiz/parte aérea, ao estimular o crescimento das raízes por reduzir a síntese do etileno e diminuir crescimento do caule, além de favorecer a maior abscisão de folhas (SHARP, 2002; AASAMAA & SÖBER, 2011; INÁCIO et al., 2011; SOUZA et al., 2013).

Embora existam alguns registros na literatura sobre as necessidades hídricas e luminosas dessa espécie, não foram encontradas informações sobre o potencial de tolerância ao déficit hídrico induzido pelo ácido abscísico. Considerando a ocorrência da *C. brasiliense* em ambiente e paludoso e matas aluviais acredita-se que suas mudas não toleram a restrição hídrica.

Diante do exposto objetivou-se neste estudo avaliar o efeito de diferentes concentrações de ABA no crescimento inicial e nos aspectos anatômicos de mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. sob déficit hídrico intermitente.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Implantação do experimento

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, no período de 25 de fevereiro de 2017 a 10 de agosto de 2017. As mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess. foram mantidas sob 30% de sombreamento e protegidas da precipitação pluviométrica com cobertura plástica durante o experimento. As mudas com 7 meses após a emergência foram cultivadas em vasos com capacidade de sete litros, todos os vasos foram mantidos com 70% da capacidade de campo até a caracterização do tempo zero, utilizando duas mudas por vaso com em média 9,33 folhas, 14,32 cm de altura, 21,83 cm de raiz e 3,18 cm de diâmetro do caule. Foram realizados seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA (I 0 ABA); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu$ M (I 10 ABA); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu$ M (I 100 ABA); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E 0 ABA); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu$ M (E 10 ABA); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu$ M (E 100 ABA). Cada tratamento foi composto por 22 vasos, além de seis mudas separadas para caracterização no tempo zero.

Para os tratamentos de irrigação, as mudas foram divididas em dois grupos onde o primeiro foi irrigado diariamente durante todo o período do experimento, mantido o solo com 70% da capacidade de retenção de água sendo considerados como plantas controle de

acordo com cada concentração de ABA e o segundo grupo foi submetido à restrição hídrica até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero caracterizando a primeira fotossíntese zero (1ª F0). A partir da 1ª F0, todos os vasos foram irrigados diariamente, e as plantas mantidas com 70% da capacidade de retenção de água até a recuperação.

Quando as mudas do tratamento déficit hídrico apresentaram fotossíntese semelhante às irrigadas e posteriormente outro ciclo de suspensão hídrica foi realizado e as mudas foram avaliadas até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero novamente caracterizando a segunda fotossíntese zero (2ª F0), momento que foram reirrigadas até a recuperação (REC) e avaliação final (FINAL) (Figura 1). Ao 17º dia, com base na taxa fotossintética próxima a  $2 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de acordo com pré-testes, foi realizada uma aplicação de ABA, nas devidas concentrações dos tratamentos.

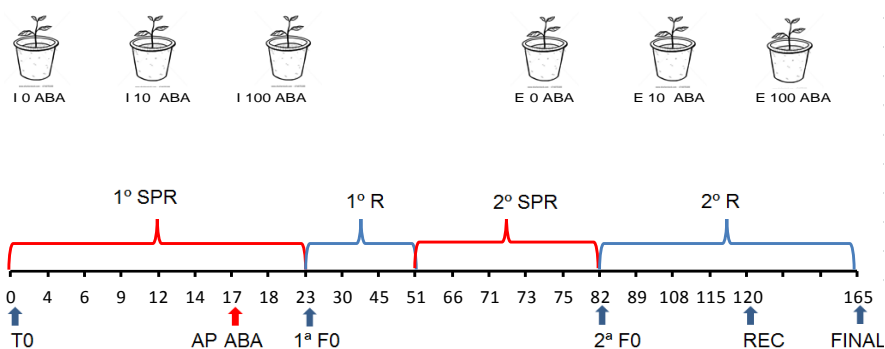


Figura 1. Tratamentos e períodos de avaliação do experimento de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I 0 ABA, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E 0 ABA, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA) tempo zero (T0), aplicação do ABA (AP ABA), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC), avaliação final (FINAL). Primeira suspensão da irrigação (1º SPR), segunda suspensão da irrigação (2º SPR), primeira reirrigação (1º R) e segunda reirrigação (2º R) Dourados-MS, UFGD, 2018.

### Características avaliadas

As avaliações foram realizadas em cinco períodos: T0- tempo zero (início do experimento), 1ª F0- primeira fotossíntese zero (aos 23º dia), 2ª F0- segunda fotossíntese zero (aos 82º dia), REC- recuperação (aos 120º dia) e FINAL- avaliação final (aos 165º dia), (Figura 1).

**O Conteúdo relativo de água nas folhas (CRA)**, foi determinado em quatro folhas de cada tratamento, segundo a expressão matemática:  $\text{CRA} = 100 \times (\text{massa fresca-}$

massa seca / massa saturada – massa seca). As folhas foram coletadas entre 7:00 e 10:00 horas da manhã e cortadas com cilindros de área conhecida. Após pesagem da massa fresca, foram colocados em placas de petri com água destilada por 24 h para saturação. Após pesagem dos discos saturados eles foram secos para determinação da massa seca.

Comprimentos **de raiz e parte aérea**, medidos com auxílio de uma régua graduada em centímetros (cm) e os resultados expressos em centímetros. **Massa seca parte aérea (folha e caule) e raiz** a partir da secagem de cada órgão em estufa de circulação forçada de ar, regulada a  $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 72 horas até atingir massas constante com auxílio de uma balança analítica de precisão (0,0001g). **O diâmetro do caule** medidos com auxílio de um paquímetro digital Digimess (0,001 mm). **Razão altura/diâmetro (RAD)** calculada dividindo-se a altura pelo diâmetro de coleta. **Razão raiz/parte aérea (Raiz/PA)**: calculada dividindo-se o comprimento de raiz pela altura. **Área foliar** medida com auxílio do aparelho Li 3100 – Area Meter. **Índice de clorofila**, utilizando o clorofilômetro Spad 502 MINOLTA.

**Índice de Qualidade de Dickson**: foi determinado em função da altura da parte aérea (PA), do diâmetro do coleto (D), massa seca total (PMST) que é dado pela soma da massa seca da parte aérea (PMSPA) e das raízes (PMSR), através da seguinte equação  $\text{IQD} = \text{PMST} / [(\text{H}/\text{D}) + (\text{PMSR}/\text{PMSPA})]$  (DICKSON et al., 1960).

#### **Avaliação estomática**

Foram preparadas secções paradérmicas com impressões em cola SuperBonder<sup>®</sup>, amostrando-se a região mediana do limbo e determinando as seguintes características estomáticas: diâmetro polar (DP) e equatorial (DE), abertura do ostíolo, densidade estomática em  $\text{mm}^2$ , funcionalidade estomática em função da razão entre (DP/DE) e índice estomático que foi calculado através da seguinte fórmula  $\text{Si} (\%) = [\text{Sn}/(\text{Sn} + \text{Em})] \times 100$ , sendo (Sn) o número de estômatos e (Em) o número de células da epiderme. Os resultados obtidos foram documentados através de fotomicrografia feitas em microscópio óptico modelo Olympus BX 60 acoplado à câmera digital Canon A630. As imagens foram analisadas em software para análise de imagens UTHSCSA Imagetool.

#### **Dados de temperatura e umidade relativa do ar (UR)**

Os dados de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) externa ao sombrite e umidade relativa (UR<sub>ext</sub>) externa ao sombrite foram obtidos do banco de dados da estação da Embrapa Agropecuária

Oeste, Dourados/MS, localizada a 23,4 km do local do experimento. A temperatura da folha (Tf) foi obtida utilizando dados do medidor portátil de fotossíntese LCIPro (Figura 2).

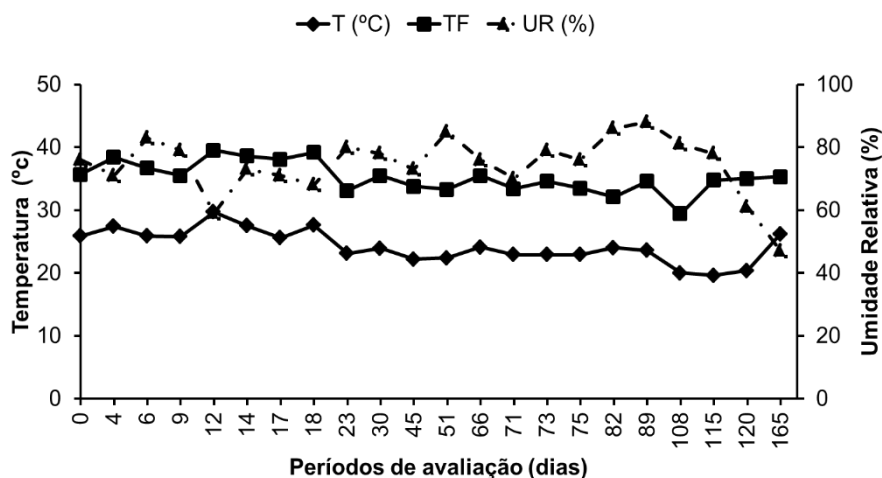


Figura 2: Temperaturas médias da folha (TF), Temperatura (T) e Umidade relativa (UR%) externa durante o experimento. Dados de temperatura média externa e umidade relativa média foram obtidos da estação meteorológica EMBRAPA, do dia 25 de fevereiro de 2017 a 10 de agosto de 2017. Dourados-MS, UFGD, 2018.

#### **Delineamento experimental e análise dos dados:**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas. Na parcela tinha-se irrigação diária (I) e suspensão da irrigação (E), na subparcela as três concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$  ABA) e na sub-subparcela os 5 períodos de avaliação (T0, 1<sup>o</sup> F0, 2<sup>o</sup> F0, REC e FINAL). Os resultados foram submetidos à análise de variância e havendo efeito significativo pelo teste F as médias das parcelas foram submetidas ao teste de t de Bonferroni a 5% de probabilidade e as médias das subparcelas e sub-subparcelas submetidas ao teste Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

### **3. RESULTADOS**

Para a interação períodos de avaliação e regimes hídricos, observa-se redução acentuada do CRA na 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> F0 no tratamento sob déficit hídrico, enquanto o tratamento com irrigação não ocorreu redução acentuada em função dos períodos de avaliação (Figura 3 A, B). O conteúdo relativo de água na folha (CRA) em mudas sob déficit hídrico apresentaram redução significativa em relação as não estressadas, com os menores valores

sob cultivo E 0 ABA e E 100 0 ABA. O tratamento E 10 ABA proporcionou valor semelhante ao do controle (Figura 3 C).

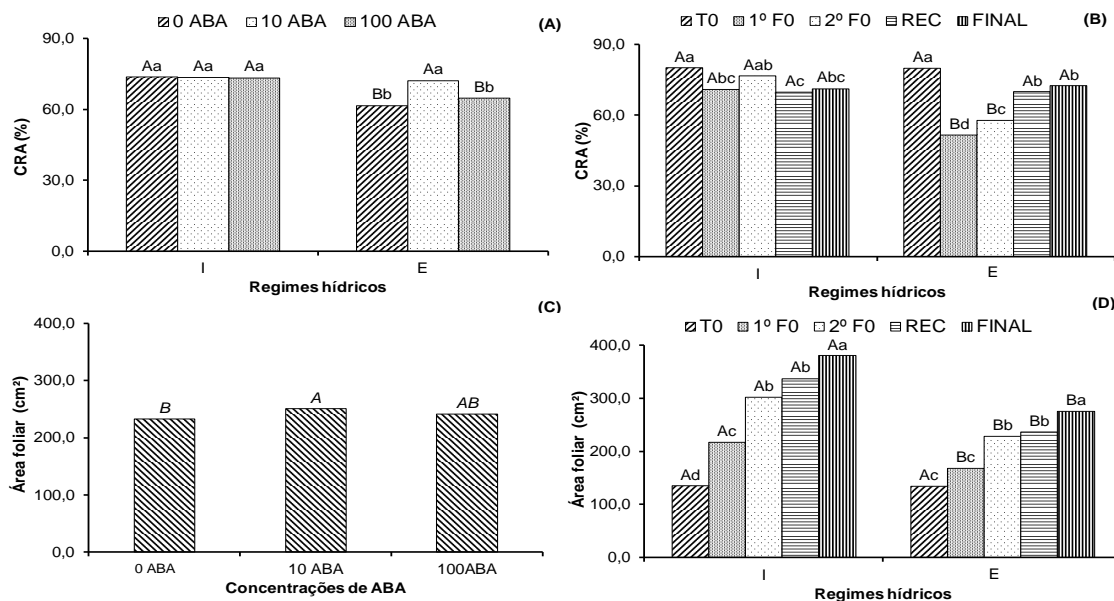


Figura 3. Valores médios do Conteúdo relativo de água na folha (CRA) (A e B), e da área foliar (cm<sup>2</sup>) (C e D), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu$ M), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação e diferentes concentrações de ABA, no mesmo regime hídrico e letras maiúsculas em itálico as concentrações de ABA, ambas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade; Letras maiúsculas comparam mesmo período de avaliação e concentrações de ABA, nos regimes hídricos, ambas pelo teste t de Bonferroni a 5 % de probabilidades.

Para as concentrações de ABA observa-se que os maiores valores de área foliar foram obtidos nas plantas cultivadas sob 10 e 100  $\mu$ M ABA (Figura 4 A). A área foliar aumentou ao longo dos períodos de avaliações, sendo que a partir da 1<sup>a</sup> F0 as mudas irrigadas (I) sempre apresentaram valores superiores em relação as mudas estressadas (E). A maior área foliar foi observada na avaliação final, sendo que as mudas I apresentaram 105, 35 cm<sup>2</sup> a mais quando comparado com as mudas E (Figura 3 C, D).

O diâmetro do caule, foi influenciado isoladamente pelos períodos de avaliação e regimes hídricos. Observou-se um aumento dos valores nos períodos de avaliação seguindo uma mesma tendência na 2<sup>o</sup> F0, REC e Final. Observando se os maiores valores nas mudas I sendo 0,64 mm maior que as mudas E (Figura 4 A, B).

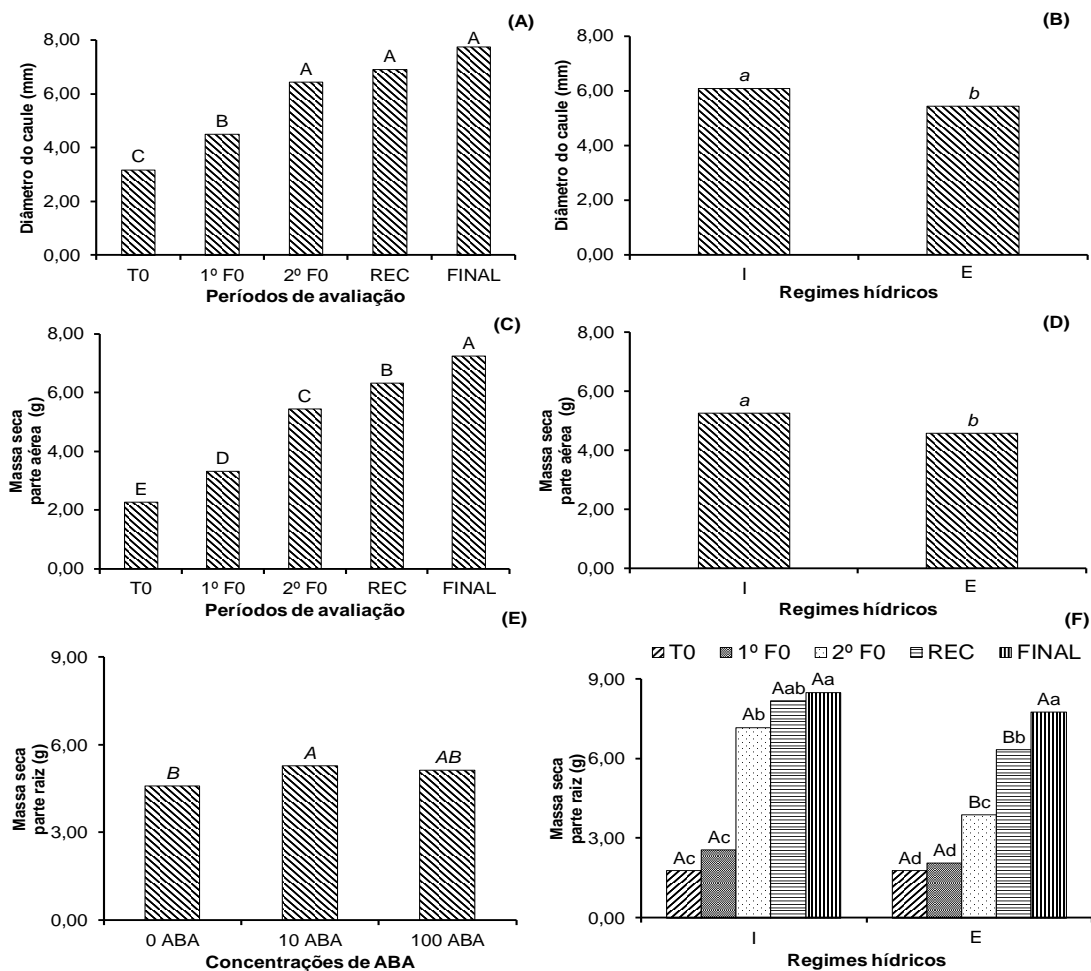


Figura 4. Valores médios do diâmetro do caule (mm) (A e B), Massa secada parte aérea (g) (C e D) e massa seca da raiz (g) (E e F), de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) e diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e letras maiúsculas em itálico as concentrações de ABA e letras maiúsculas os períodos de avaliação, ambos pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade; Letras minúsculas em itálico os  $\neq$  regimes hídricos, pelo teste t de Bonferroni a 5 % de probabilidades.

A massa seca da parte aérea (PA) foi influenciada pelos períodos de avaliação e regimes hídricos. Observa-se aumento de massa seca durante os períodos de avaliação (Figura 4 C). As mudas que apresentaram maior massa seca de PA foram as I (Figura 4 D).

A massa seca da raiz também aumentou durante as avaliações sendo que as mudas irrigadas produziram maior matéria seca, entretanto ao final das avaliações não houve diferenças entre os tratamentos. As concentrações de 10 e 100  $\mu$ M ABA possibilitaram maior acúmulo de matéria seca de raiz, não variando e entre si (Figura 4 E e F).



O índice de clorofila reduziu nas mudas sob déficit hídrico porém foi maior quando tratadas com ABA (Figura 5 A). Nos períodos de avaliação a 1º F0 apresentou o menor índice sendo que o tratamento E foi 44,51 % menor que as mudas I (Figura 5 B). A 1º F0 foi o período que apresentou menor índice de clorofila para todos os tratamentos com ou sem ABA (Figura 5 C).

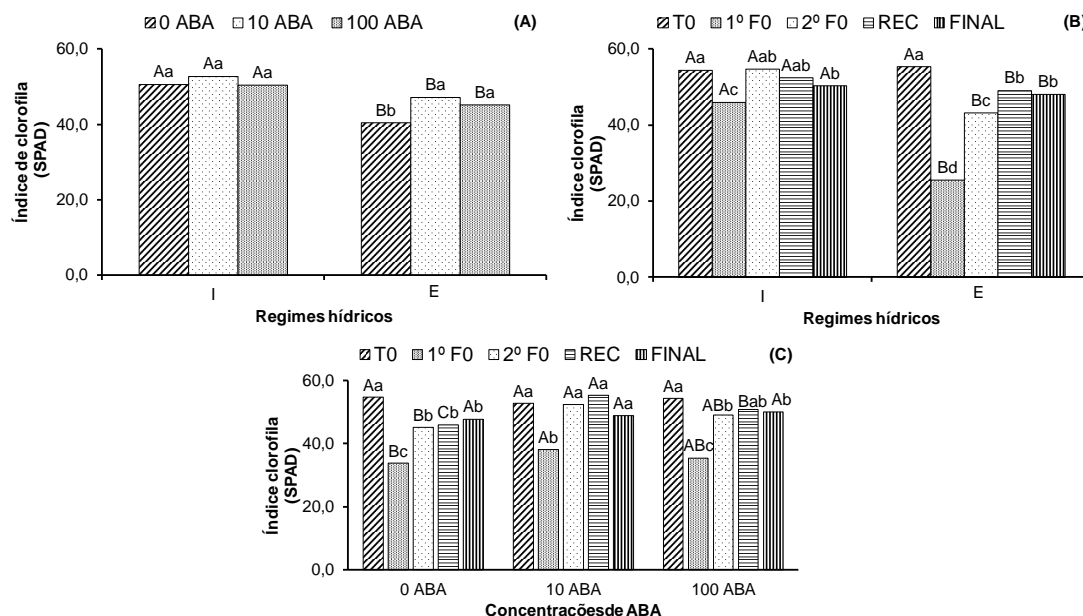


Figura 5. Valores médios do índice de clorofila (SPAD) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam  $\neq$  concentrações de ABA no mesmo regime hídrico e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos  $\neq$  regimes hídricos (Figura A). Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos  $\neq$  regimes hídricos (Figura B). Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação na mesma concentração e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos  $\neq$  períodos de avaliação (Figura C). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

A relação altura/diâmetro (RAD) foi maior na 1º F0 em relação aos regimes hídricos o maior valor foi nas mudas I sendo 7,06 % maior que as E, entretanto de maneira geral foi inferior nas plantas sob déficit hídrico (Figura 6 A e B).

A relação raiz/parte aérea (R/PA), das mudas irrigadas e tratadas com 100  $\mu\text{M}$  ABA foi superior, mostrando maior incremento do sistema radicular das mudas em relação à parte aérea, mesmo não estando sob estresse. Nas mudas estressadas a concentração 10  $\mu\text{M}$  ABA foi superior ao tratamento irrigado com a mesma concentração, entretanto, não diferiu dos demais tratamentos sob estresse (Figura 6 C).

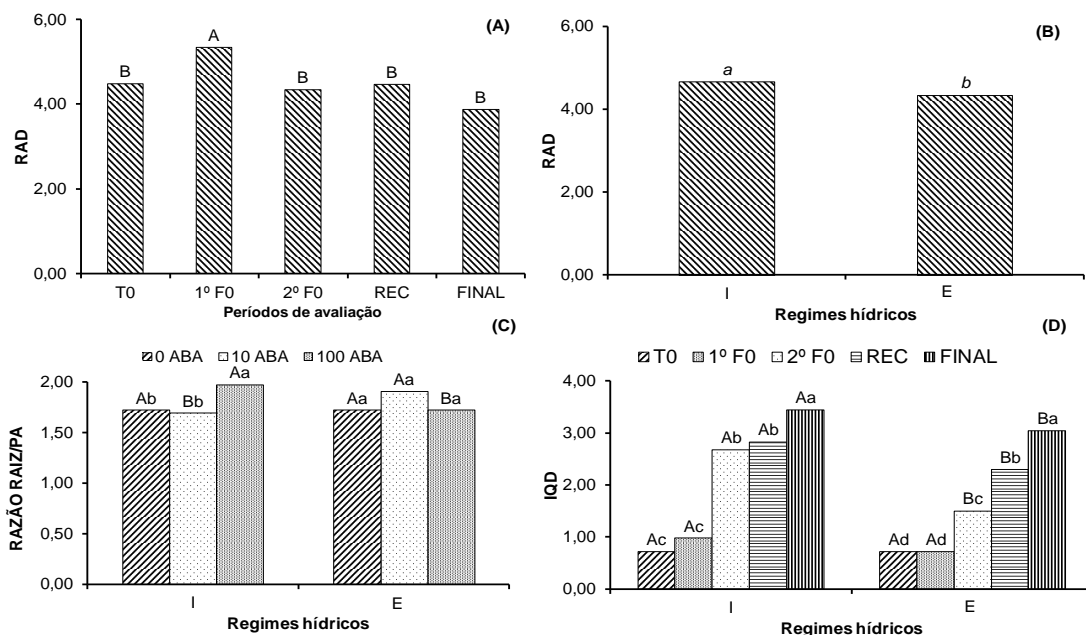


Figura 6. Valores médios da Razão altura/diâmetro (RAD) (A e B), Razão raiz/parte aérea (Raiz/PA) (C) e Índice de qualidade de Dickson (IQD) (D) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação e diferentes concentrações de ABA, no mesmo regime hídrico pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade; Letras maiúsculas comparam mesmo período de avaliação e concentrações de ABA, nos  $\neq$  regimes hídricos, ambas pelo teste t de Bonferroni a 5 % de probabilidade. Letras minúsculas em itálico os  $\neq$  regimes hídricos, pelo teste t de Bonferroni a 5 % de probabilidade.

O Índice de Qualidade de Dickson (IQD) aumentou ao longo dos períodos de avaliações em ambas as condições de irrigação, sendo que nos tratamentos irrigados os valores foram superiores aos estressados para a 2ª F0, REC e FINAL. No entanto, as mudas não irrigadas mesmo após a reirrigação não alcançaram valores próximos ao controle (Figura 6 D).

Entre os períodos de avaliação, o menor diâmetro equatorial foi observado no T0 e nas plantas estressadas (Figura 7 A e B). Já o diâmetro polar foi superior no T0 não se diferenciando da 2ª F0 (Figura 7 C). O menor diâmetro equatorial na primeira avaliação levou a maior funcionalidade estomática neste período (Figura 7 C e D).

As mudas tratadas com ABA apresentaram maior abertura ostiolar (Figura 7 G). A irrigação favoreceu maior abertura ostiolar (Figura 7 F). Nos períodos as mudas no T0 apresentaram maior abertura ostiolar em relação aos demais períodos de avaliação, mostrando o efeito do déficit hídrico, sendo as menores aberturas ostiolar observadas a

partir da 1<sup>o</sup>F0 ate a avaliação FINAL, onde as mudas não recuperaram a abertura observada antes do estresse (T0) (Figura 7 E).

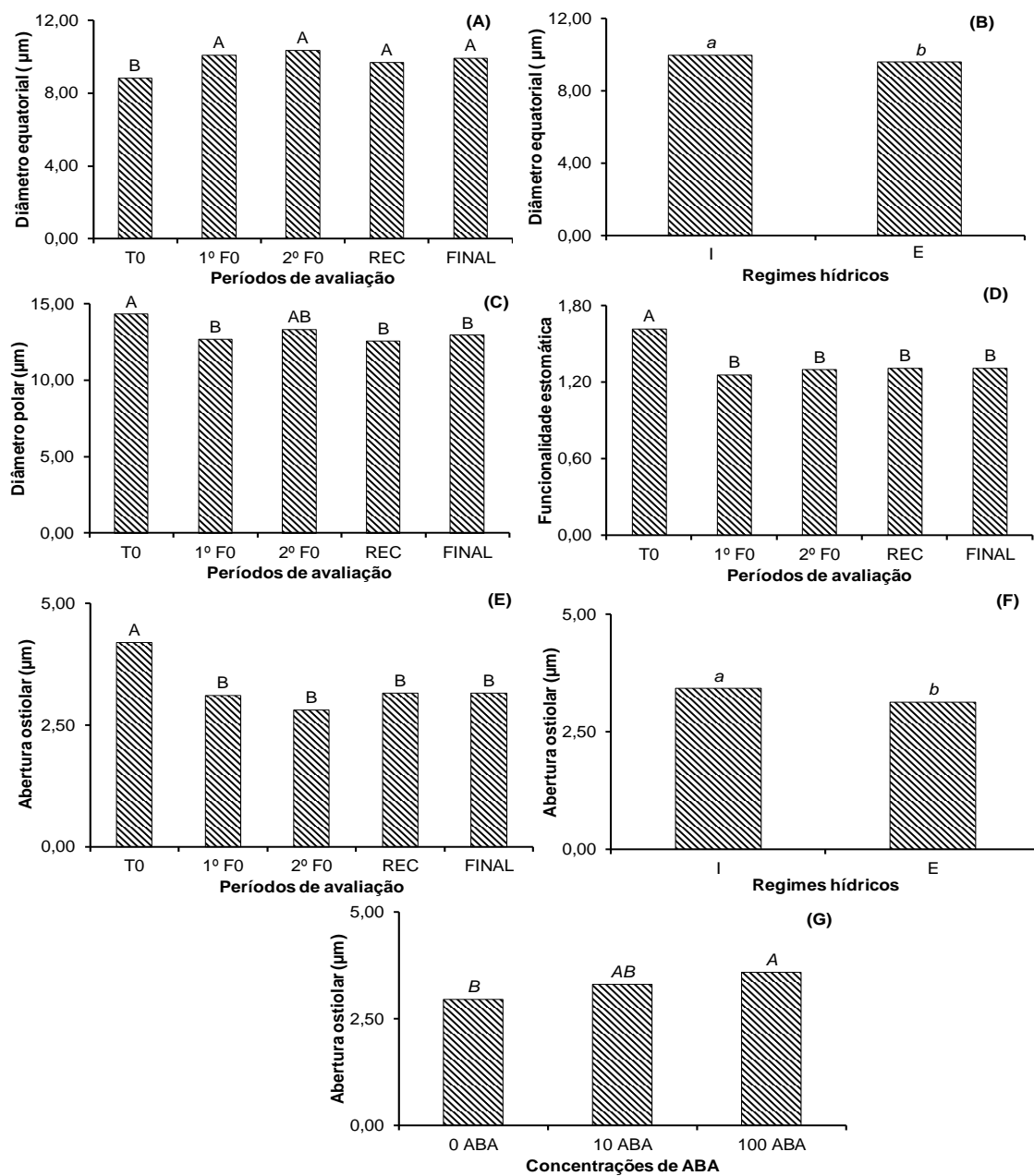


Figura 7. Valores médios do diâmetro equatorial dos estômatos (DQ  $\mu\text{m}$ ) (A e B), diâmetro polar dos estômatos (DP  $\mu\text{m}$ ) (C) e funcionalidade estomática (D) da abertura ostiolar (AE  $\mu\text{m}$ ) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) e diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras maiúsculas em itálico as comparam  $\neq$  concentrações de ABA, letras maiúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliações ambas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Letras minúsculas em itálico os  $\neq$  regimes hídricos, pelo teste t de Bonferroni a 5 % de probabilidade.

O índice estomático foi menor nos tratamentos sob déficit hídrico (Figura 8 C). As mudas sob déficit hídrico com 100  $\mu\text{M}$  ABA apresentou maior índice em relação aos outros tratamentos sob déficit (Figura 8 D). Na 1<sup>o</sup> F0 a concentração de 100 ABA foi superior ao tratamento 0 ABA, na 2<sup>o</sup> F0 as mudas 0 ABA e 10 ABA obtiveram maiores valores no índice estomático, ao passo que na fase de REC e FINAL a concentração 100 ABA apresentou maior índice, demonstrando diferentes comportamentos do índice estomático entre as concentrações de ABA e os períodos de avaliação (Figura 8 E).

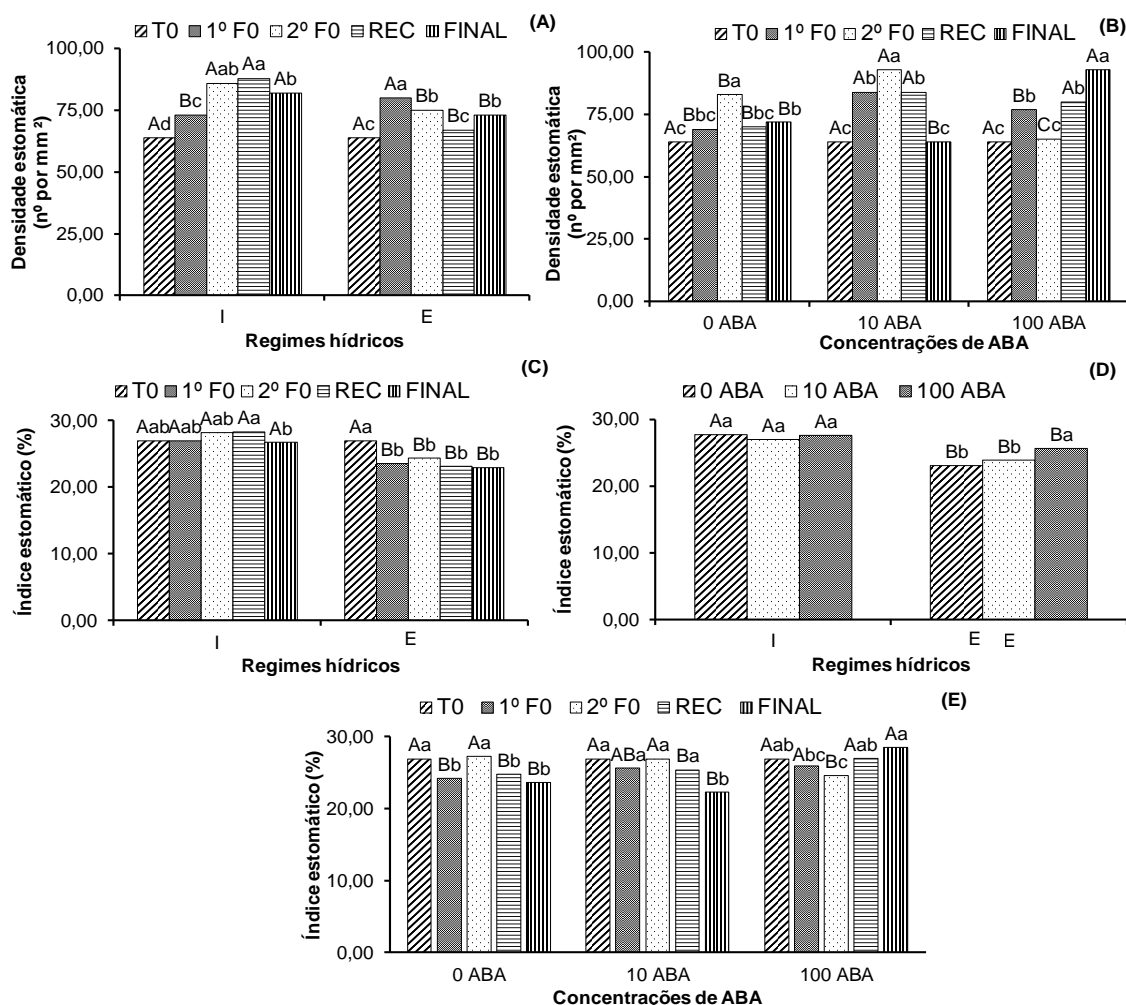


Figura 8. Valores médios do índice estomático (IE %) e da densidade estomática (DE) de mudas de *Calophyllum brasiliense*, irrigadas (I), submetidas a condições de déficit hídrico (E) sob concentrações de ABA (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ), nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1<sup>a</sup> F0), segunda fotossíntese nula (2<sup>a</sup> F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Dourados-MS, UFGD, 2018. Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação no mesmo regime hídrico e maiúsculas o mesmo período de avaliação nos  $\neq$  regimes hídricos (Figura A e C). Letras minúsculas comparam  $\neq$  concentrações de ABA no mesmo regime hídrico e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos diferentes regimes hídricos (Figura D). Letras minúsculas comparam  $\neq$  períodos de avaliação na mesma concentração e maiúsculas a mesma concentração de ABA nos  $\neq$  períodos de avaliação (Figura B e E). Médias seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste t de Bonferroni a 5% de probabilidade para os regimes hídricos e teste Tukey a 5% de probabilidade para os períodos de avaliação e concentrações de ABA.

Comparando a relação aos períodos de avaliação, o tratamento sob estresse hídrico observou-se maior valor densidade estomática na 2º F0 em relação aos demais períodos de avaliação na mesma condição hídrica (Figura 8 A).

A densidade estomática em relação às concentrações de ABA variou de acordo com a concentração e o período de avaliação sendo que para o tratamento 0 ABA a 2ºF0 apresentou maior densidade, não sendo superior a concentração 10 ABA na mesma época que também apresentou maior densidade entre os períodos de avaliação. A concentração 100 ABA apresentou maior densidade na avaliação final, também sendo superiores as outras concentrações no mesmo período (Figura 8 B).

#### 4. DISCUSSÃO

Nas plantas, a deficiência hídrica afeta o potencial hídrico foliar, o status nutricional e as trocas gasosas foliares, assim como, pode alterar outros mecanismos e processos fisiológicos relacionados ao crescimento (LIBERATO et al., 2006; GONÇALVES et al., 2009). Para o *Khaya ivorensis* A. Chev. em condições de déficit hídrico, Albuquerque et al. (2013) verificaram reduções no potencial hídrico foliar e teor relativo de água nas plantas sem rega que alcançaram valores de -2,66 MPa e 62 % CRA.

As plantas sob déficit hídrico apresentaram área foliar reduzida, em relação plantas irrigadas a partir da 1ºF0 embora tenha aumentado ao final do experimento as mudas sob estresse não alcançaram valores das plantas controle (I). A redução da área foliar em plantas lenhosas como resposta a baixa disponibilidade hídrica do solo foi comprovada também por vários autores (CABRAL et al., 2004; COSTA e MARENCO 2007; PINTO et al., 2008; SCALON et al., 2011).

Para *C. brasiliense* o ABA aumentou a expansão foliar e não causou abscisão foliar nas mudas uma vez que a área foliar aumentou. O ABA altera o crescimento e desenvolvimento das plantas, regula respostas adaptativas em condições de baixa disponibilidade hídrica, como a regulação da abertura e o fechamento dos estômatos, abscisão foliar, crescimento radicular (ZHU, 2002; SOUZA, 2012). A concentração 10 ABA proporcionou maior área foliar e crescimento radicular conforme observado na maior razão raiz/parte aérea das mudas sob restrição hídrica.

Com relação ao diâmetro do caule e os períodos de avaliação, após 2ºF0 não se diferenciaram, indicativo de que o estresse estabilizou o desenvolvimento da planta. Entretanto o diâmetro do caule foi maior nas mudas irrigadas. O maior crescimento em diâmetro do colo é desejável pois com maior diâmetro a possibilidade de formação de um sistema radicular mais desenvolvido aumenta (CAMPOS E UCHIDA, 2002). Mudanças de *Hymenaea courbaril* L. sob déficit hídrico apresentaram, redução em até 65,7%, na emissão de folhas sob 25% de capacidade de campo (cc) o que pode ser reflexo da menor taxa de divisão celular, reduzindo assim o aparecimento de novas folhas (NASCIMENTO et al., 2011).

Plantas jovens de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (SANTIAGO et al., 2001), *Guazuma ulmifolia* Lam., (SCALON et al., 2011) em diferentes regimes hídricos apresentaram menor crescimento sob condição de estresse severo. Mudanças de *Jatropha curcas* L. submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução em altura, número de folhas a massa seca de raiz e parte aérea, diâmetro do caule e área foliar (PADILHA et al., 2016). Nascimento et al. (2011) relataram que o número de folhas foi mais afetado do que o crescimento em altura e diâmetro do caule em mudas *Hymenaea courbaril* sob 25% da cc.

Os valores da massa seca da parte aérea das mudas de *C. brasiliense* indicam crescimento constante entre os períodos de avaliação onde as mudas sob estresse hídrico produziram menor massa, provavelmente porque, quando a planta está sob déficit hídrico ela paralisa seu crescimento e desenvolve medidas de proteção como aumento da atividade de enzimas antioxidantes.

A restrição hídrica causou redução da massa seca da raiz na 2ºF0, em relação às mudas irrigadas. No entanto, na recuperação as mudas sob déficit apresentaram valores próximos ao do controle demonstrando o potencial de recuperação das mudas de *C. brasiliense* após o restabelecimento da irrigação. Scalon et al. (2011) observaram valores médios da massa seca da parte aérea e raiz maiores com a maior disponibilidade de água, chegando a ser 50% menor sob menor disponibilidade de água em mudas *Guazuma ulmifolia*. Para a massa seca das raízes o efeito do ABA foi expressivo no crescimento radicular sendo que a concentração de 10 ABA aumentou a massa radicular.

Plantas de *Azadirachta indica* A. Juss. apresentaram maiores valores de matéria seca da raiz quando submetidas à 100% e 80% da cc, havendo redução na MSR, com a

diminuição da disponibilidade hídrica que conseqüentemente afetou a massa seca total no cultivo a 20% cc (MARTINS et al., 2010). A redução da produção de massa seca se torna mais visível na medida em que a exposição das plantas ao estresse é mais prolongada (ALMEIDA et al., 2016).

Mudas de *Hymenaea courbaril* sob 25% da cc apresentaram os menores valores e redução da MSR em 62,8% em relação ao tratamento 100% da cc (NASCIMENTO et al., 2011). Os diferentes níveis de água no solo em mudas de *Eugenia dysenterica* DC afetaram a produção e matéria seca na parte aérea (caule e folhas) e raízes, sendo que a condição hídrica mais limitante ocasionou menor massa. (CAMPOS, 2016). Plantas sob estresse hídrico apresentam redução dos teores de pigmentos fotossintéticos devido aos danos oxidativos assim afetando a fotossíntese (ASHARAF e HARRIS, 2013) e conseqüentemente a produção de massa seca.

As plantas estressadas apresentaram redução do índice de clorofila (SPAD), que foi menor na 1º F0, com posterior aumento para as demais avaliações, no entanto não alcançaram os valores do controle. *Schinus terebinthifolius* Raddi. sob déficit hídrico apresentaram índice SPAD reduzido durante os períodos em que as mudas atingiram a fotossíntese quase zero (1º F0) e não se recuperaram após a irrigação (NUNES et al., 2017). De maneira semelhante mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. apresentaram os valores mais baixos sob 25% e 100% de cc (ROSA et al., 2017).

Plantas de *Jatropha curcas* apresentaram reduções do índice SPAD quando submetidas à deficiência hídrica o que foi atribuindo ao menor conteúdo relativo de água (BATISTA, 2012). Outras espécies como *Khaya ivorensis*, *Calophyllum brasiliense*, *Astronium fraxinifolium* Schott, *Handroanthus albus* (Cham.) Mattos e *Simarouba amara* Abul. também apresentaram redução do índice de clorofila sob déficit hídrico (CAMPELO, 2014)

Ao avaliar o menor RAD e maior R/PA, podemos comprovar efeito do ABA sobre o crescimento radicular como já citado na literatura. O nível de ABA aumenta em plantas estressadas por falta de água o que aumenta a relação raiz/parte aérea, ao estimular o crescimento da raiz por reduzir a síntese do etileno e diminuir crescimento do caule (SHARP, 2002; INÁCIO et al., 2011).

Jung et al. (2017) observaram que os tratamentos irrigados promoveram as maiores valores de RAD no desenvolvimento inicial de *Eucalyptus urophylla* ST Blake, *Eucalyptus grandis* W. Hill e *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Scalon et al. (2011) relataram aumento da relação raiz/parte aérea em 35 dias nas plantas de *Guazuma ulmifolia* cultivadas sob 25% cc e em 85 dias sob 50% cc, sugerindo que o nível de tolerância das mudas no tratamento com 25% cc foi 35 dias pois a planta investiu maior quantidade de fotoassimilados para o desenvolvimento radicular em detrimento da parte aérea, entretanto, aos 83 dias as mudas sob o mesmo nível de água, já não conseguiam produzir fotoassimilados, necessários para a manutenção do crescimento. Mudanças de *Hedyosmum brasiliense* Mart. submetidas ao déficit hídrico apresentaram maior razão Raiz/PA sugerindo que elas investem mais fotoassimilados no desenvolvimento das raízes reduzindo o crescimento da parte aérea, o que favorece o aumento da absorção de água e reduz a perda pela transpiração foliar (MACHADO, 2004)

As mudas sob estresse apresentaram menor Índice de qualidade de Dickson (IQD) o que pode ser devido à menor produção de biomassa para o crescimento, e direcionamento do metabolismo para mecanismos de defesa. O IQD indica robustez da muda e quanto maior o seu valor, melhor a qualidade (BERNARDINO et al., 2005; MELO e CUNHA, 2008). Em mudas de *Schinus terebinthifolius* sob diferentes lâminas de irrigação (8, 10, 12 e 14 mm) também foi observado menores IQD quando as plantas receberam a menor quantidade de água, (MORAES et al., 2012).

O diâmetro equatorial dos estômatos foi maior nas mudas com irrigação. A variação de resposta do diâmetro equatorial dos estômatos indica que essa característica seja mais flexível do que o diâmetro polar, em consequência da variação da turgidez celular, a qual é determinante para os movimentos de abertura e fechamento estomático (GRISI et al., 2008). Em ambientes com menor disponibilidade hídrica, verifica-se diminuição no tamanho dos estômatos, para que haja uma menor perda de água pela transpiração, havendo o simultâneo aumento de sua densidade, contribuindo para o equilíbrio das trocas gasosas (BATISTA et al., 2010).

A funcionalidade estomática, que é baseada na relação entre o diâmetro polar/equatorial, observada em plantas submetidas à restrição hídrica tem sido apontada como uma adaptação, pois os estômatos adquirem uma morfologia mais elíptica (fechada), visando reter o máximo de água existente no seu interior (CASTRO et al., 2009; BATISTA



et al., 2010). No presente estudo não foi observada maior funcionalidade estomática das plantas *C. brasiliense* entre os períodos de estresse que só apresentou diferença significativa no T0, sendo superiores as demais épocas. No trabalho de Grisi et al. (2008) observou-se maior relação DP/ DE, para o tratamento não irrigado em mudas *Coffea* sp. L. Plantas de *Cestrum axillare* Vell. apresentaram redução do diâmetro polar dos estômatos na epiderme abaxial sob deficiência hídrica que foi considerado um fator importante para o tamanho da abertura do ostíolo, e que conseqüentemente, favorece menor perda de água por transpiração (MELO et al., 2017).

A abertura ostiolar foi menor nas mudas estressadas, entretanto, quando tratadas com ABA foi maior, sugerindo que esse hormônio manteve a turgescência das folhas e conseqüentemente das células guardas, o que pode ser comprovado nas plantas tratadas com 10  $\mu$ M ABA que apresentaram maior CRA. O índice estomático envolve a relação entre o número de estômatos e de células num mesmo campo (GRISI et al., 2008). Rosa et al. (2017) observaram valores de índice estomático maior para as mudas de *Copaifera langsdorffii* cultivadas sob 25% cc, sendo que nas mudas cultivadas sob 100% de cc, o índice estomático diminuiu ao longo do tempo. ,

Segundo Castro et al. (2009) sob condições ambientais como estresse hídrico as plantas diminuem o tamanho dos estômatos e aumentam a densidade estomática o que auxilia na tolerância a esta condição. Assim esse comportamento fica evidente no presente trabalho, pois as mudas dos tratamentos não irrigados na 1ªF0 apresentaram maior densidade estomática em relação aos outros períodos. Em *Hedyosmum brasiliense*, espécie preferencialmente encontrada em solo alagado a densidade estomática foi maior nas plantas sob deficiência hídrica do que nas plantas controle (MACHADO, 2004).

Quanto às mudanças anatômicas nos estômatos, algumas espécies podem aumentar a densidade estomática na condição de deficiência hídrica, assim como uma redução no tamanho de seus estômatos, visando manter a regulação térmica promovida pela transpiração, ao mesmo tempo em que diminuem a perda de vapor de água pela diminuição do tamanho ou pela diminuição da abertura do ostíolo (MELO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2012; MELO et al., 2017).

Melo et al. (2017) observaram em sua revisão que tanto o aumento da densidade quanto a redução no tamanho dos estômatos são fatores importantes para adaptabilidade ou

tolerância de plantas a diferentes condições estressantes. O diâmetro polar dos estômatos das mudas de *C. brasiliense* reduziu com déficit hídrico, característica que interferiu na abertura ostiolar, e que conseqüentemente, deve ter favorecido a redução da perda de água por transpiração. A redução da taxa de transpiração é uma resposta importante para aumentar a tolerância de plantas ao ambiente com restrição hídrica (PLAUT et al., 2013).

As mudas de *C. brasiliense* quando submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução nos parâmetros de biomassa e crescimento como diâmetro do caule, área foliar e índice estomático além de possível relação das concentrações de ABA no crescimento radicular.

As mudas de *C. brasiliense* quando submetidas ao déficit hídrico aumentaram a densidade estomática nos períodos de restrição hídrica, assim como reduziram a abertura estomática. A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  ABA pode ter estimulado maior ajuste das mudas de *C. brasiliense* ao déficit hídrico.

## 5. CONCLUSÃO

O déficit hídrico intermitente limita o crescimento e o teor relativo de água nas mudas de *Calophyllum brasiliense*.

A aplicação de 10  $\mu\text{M}$  ABA pode estimular a tolerância ao déficit hídrico ao manter o CRA das folhas próximas ao das plantas controle e estimular o crescimento do sistema radicular e aumento da área foliar.

A restrição hídrica desencadeia respostas adaptativas em mudas *Calophyllum brasiliense*, como crescimento das raízes, densidade estomática e redução da área foliar.

Durante o período avaliado (165 dias) as mudas não recuperaram seu crescimento em relação ao controle e aspectos anatômicos após o restabelecimento da irrigação.

## 6. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASAMAA, K.; SÖBER, A. Stomatal sensitivities to changes in leaf water potential, air humidity, CO<sub>2</sub> concentration and light intensity, and the effect of abscisic acid on the sensitivities in six temperate deciduous tree species. **Environmental and Experimental Botany**. v. 71, n. 1, p. 72–78, 2011.

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013.

ALMEIDA, J.; TEZARA, W.; HERRERA, A. Physiological responses to drought and experimental water deficit and waterlogging of four clones of cacao (*Theobroma cacao* L.) selected for cultivation in Venezuela. **Water Manage**. V. 171, p.80-88. 2016

ASHRAF, M. H. P. J. C.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013;

BATISTA, L. A.; GUIMARÃES, R. J.; PEREIRA, F. J.; CARVALHO, G. R.; CASTRO, E. M. de. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 3, p. 475-481, 2010.

BATISTA, L. R. L. **Características radiculares e fisiológicas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) propagado por semente e por estaca cultivados sob diferentes condições hídricas**. 2012. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2012.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; SANTOS, A. O. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, 2000.

BERNARDINO, D. C. de S.; PAIVA, H. N. de; NEVES, J. C. de L.; GOMES, J. M.; MARQUES, V. G. Crescimento e qualidade de mudas de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan em resposta à saturação por bases do substrato. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.863-870. 2005.

CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.2, p.241-251, 2004.

CAMPELO, D. de H. **Crescimento e trocas gasosas de seis espécies florestais sob dois regimes hídricos no perímetro irrigado**, Dissertação. Baixo Acaraú - CE Fortaleza, 2014.

CAMPOS, M. A. A. e UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.3, p. 281-288. 2002.

CAMPOS, M. P. **Comportamento morfofisiológico de plantas jovens de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.) submetidas ao déficit hídrico**. Dissertação. SETE LAGOAS, 2016.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnologia; Colombo-PR: Embrapa Florestas, p. 1039, 2003

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 234 p. 2009.

CERQUEIRA, R. C. **Influência do frio e do déficit hídrico nas características fisiológicas e bioquímicas em videiras (*Vitis vinifera* L.) cv. *Thompson seedless***. Botucatu, 2011, 122p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2011.

COSTA, G.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v.37, n.2, p.229-234, 2007.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *For. Chron.*, v. 36, p. 10-13, 1960.

GONÇALVES, J. F. DE C.; SILVA, C. E. M. DA.; GUIMARÃES, D. G. Características fotossintéticas e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 1, p. 8-14, 2009.

GONDIM, T. M. de S.; CAVALCANTE L. F.; BELTRAO N. E. de M. Aquecimento Global: Salinidade e Consequências no Comportamento Vegetal. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.14, n.1, p37-54, 2010.

GRISI, F. A.; ALVES, J. D.; CASTRO, E. M.; OLIVEIRA, C.; BIAGIOTTI, G.; MELO, L. A. Avliações anatômicas foliares em mudas de café 'Catuaí' e 'Siriema' submetidas ao estresse hídrico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1730-1736, 2008.

INÁCIO, M. C.; SILVA, E. S.; SOUZA, M. E.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Mensageiros secundários relacionados à ação dos hormônios vegetais. **Revista Brasileira de Agrocência**, v. 17, n. 4, p. 438-446, 2011.

JUNG, L. H.; LOPES, A. S. ; OLIVEIRA, G. Q. ; OLIVEIRA, J. C. L. ; FANAYA JUNIOR, E. D. ; BRITO, K. R. M. . *Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis e Eucalyptus grandis x Eucalyptus camaldulensis*. **Ciencia Florestal**, v. 27, p. 655-667, 2017.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2006. 532p.  
LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthe ticcarbon assimilation dassociated metabolism in relation water deficits in higher plants. **Plant Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 275-294, 2002.

LIBERATO, M. A. R.; GONCALVES, J. F. C. ;Chevreuil, L.R. ;Nina Junior, A.R. ;Fernandes, A.V. ;SANTOS JUNIOR, U. M. . Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 315-323, 2006.

MACHADO, A. V. **Efeitos do estresse hídrico em plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* MART. (CHLORANTHACEAE)**. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MARTINS, M. O.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; AZEVEDO NETO, A. D.; SANTOS, M. G. Crescimento de plantas jovens de Nim-Indiano (*Azadirachta indica* a. juss. - Meliaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Revista Árvore** (Impresso), v. 34, p. 771-779, 2010.

MELO, H. C., CASTRO, E. M. ; SOARES, M. Â.; MELO, L. A.; ALVES, J. D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf x Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 145-153, 2007.

MELO, L. A.; MELO, H. C. ; DAVIDE, A. C. ; CASTRO, E. M. ; SANTOS, J.P. . Estaquia e efeito da deficiência hídrica ou inundação sobre características morfoanatômicas de *Cestrum axillare* Vell. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 325-337, 2017.

MELO, R. R.; CUNHA, M. C. L. Crescimento inicial de mudas de mulungu (*Erythrina velutina* Wild.) sob diferentes níveis de luminosidade. **Ambiência**, Guarapuava, v. 4, n. 1, p. 67- 77, 2008.

MORAES, W. W. C.; SUSIN, F.; VIVIAN, M. A.; ARAÚJOM. M. Influência da irrigação no crescimento de mudas de *Schinus terebinthifolius*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 69, p. 23-28, 2012

MOUGET, J.; TREMBLIN, G. Suitability of the Fluorescence Monitoring System (FMS, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. **Aquatic Botany**, v. 74, p. 219-231, 2002.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403: p.853-858, 2000.

NASCIMENTO, H. H. C do; NOGUEIRA, R. J. M. C; SILVA, E. C. da.; SILVA, M. A. da. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. **Revista Árvore**, v. 35, n.3, p.617-626, 2011,

NUNES, D. P. ; SCALON, S. DE P. Q.; DRESCH, D. M. ; GORDIN, C. R. B. . Photosynthetic and enzymatic metabolism of *Schinus terebinthifolius* Raddi. seedlings under water déficit. **Ciência e Agrotecnologia** (Online), v. 41, p. 676-682, 2017.

OLIVEIRA, V.C.; JOLY, C.A. Tolerância ao alagamento de *Calophyllum brasiliense* Camb.: respostas morfológicas, fisiológicas e de crescimento: (Clusiaceae). **Trees**, v. 24, p. 185-193, 2010

OLIVEIRA-FILHO, A.T. e RATTER, J.A. A study of the origin of central brasilian forest by the analysis of plant species distribution patterns. **Edinburg Journal of Botany**, v. 52, p. 141-194, 1995.

PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. P. CASTRO; SOUZA, G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, p. 275-281, 2011.

PADILHA, N.S.; SILVA, C. J. ; PEREIRA, S. B. ; SILVANETO, J. A. ; HEID, D. M. ; BOTTEGA, S. P. ; SCALON, S. P. Q. . Crescimento inicial do pinhão-manso submetido a diferentes regimes hídricos em Latossolo Vermelho distrófico. **CIENCIA FLORESTAL**, v. 26, p. 513-521, 2016.

PEREIRA, B. A.; VENTUROLI, F.; CARVALHO, F. A. Florestas estacionais no cerrado: uma visão geral. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, n.3, p.446-455, 2011.

PINTO, C. M.; TAVARA, J. F. A.; BEZERRA, M. A.; CORREA, C. de M. Crescimento, distribuição do sistema radicular em amendoim, gergelim e mamona a ciclos de deficiência hídrica. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 03, p. 429-436, 2008.

QUEIROZ, C. G. S.; LEMOS FILHO, J. P. ; GARCIA, Q. S. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-so-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 14, n.1, p. 59-63, 2002.

REDMAN, R. S.; KIM, Y. O.; WOODWARD, C. J. D. A.; GREER, C.; ESPINO, L.; DOTY, S. L.; RODRIGUEZ, R. J. Increased Fitness of Rice Plants to Abiotic Stress Via Habitat Adapted Symbiosis: A Strategy for Mitigating Impacts of Climate Change. **PLoSOne**, v. 6, n. 7, p. 1-10, 2011.

REIS, C. A. F.; SOUZA, A. S.; MENDONÇA, E. G.; GONÇALVEZ, R. F. MELO, R. M. G.; CARVALHO, D. Diversidade e estrutura genética espacial de *Calophyllum brasiliense* CAMB. (CLUSIACEAE) em uma floresta paludosa. *Revista Árvore*, v.33, n.2, p.265-275, 2009

RIBEIRO, M. N. O.; CARVALHO, S. P. de.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. de. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 354-361,2012.

ROSA, D. B. C. J. ; SCALON, S. DE P. Q. ; CREMON, T. ; CECCON, F. ; DRESCH, D. M. . Gas exchange and antioxidant activity in seedlings of *Copaifera langsdorffii* Desf. under different water conditions. **Anais da academia brasileira de ciências**. v. 89, p. 3039-3050, 2017.

SANTIAGO, A. M. P.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; LOPES, E. C. Crescimento em plantas jovens de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth, cultivadas sob estresse hídrico. **Revista Ecosistema**, v. 26, n. 1, p. 23-30, 2001.

SATO, A. Y.; MARIA, J. ; SEDIYAMA, T. ; BOREM, A. ; CECON, P. R. ; JUNQUEIRA, C. S. . Influencia do acido abscisico na micripropagacao da cultura da mandioca (*Manihotesculenta*Crantz). **Acta Scientiarum** v. 23, n.5, p. 1235-1237, 2001.

SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, v. 21, n. 4, p. 655-662, 2011.

SHARP, R. E. Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. **Plant Cell Environment**, v. 25, n. 2, p. 211-222, 2002.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Interrelações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasílica**, v. 19, n. 01, p. 183-194, 2005.

SOUZA, T. C. Aplicação de ácido abscísico (ABA) e caracterização fisiológica e anatômica em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca. **Tese**. Lavras, MG. 2012.

SOUZA, T. C. de.; MAGALHAES, P. C.; CASTRO, E. M. de.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de.; MARABESI, M. A. The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance. **Acta PhysiolPlant**. v. 35, p. 515–527, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5º. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 719p.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-73, 2002.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As mudas de *C. brasiliense* quando submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução nos parâmetros de biomassa, trocas gasosas, potencial hídrico, área foliar, aumento do número de folhas, diâmetro do caule, densidade estomática, atividade enzimática e possível relação das doses de ABA no crescimento radicular.

A redução da condutância estomática foi acompanhada da taxa fotossintética e transpiratória, no entanto as mudas que receberam a dose 10  $\mu\text{M}$  de ABA mantiveram uma taxa fotossintética superior aos demais tratamentos do déficit hídrico nos períodos de fotossíntese zero.

A influência da dose 10  $\mu\text{M}$  de ABA também foi observada na fluorescência da clorofila *a* as mudas que receberam essa dose não apresentaram estresse.

Após reirrigação das mudas na avaliação FINAL, todos os parâmetros em estudo, recuperaram chegando aos valores do controle indicando a plasticidade fisiológica das mudas de *C. brasiliense* sob déficit hídrico garantindo assim sua sobrevivência.