

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**ESTRESSE HÍDRICO NO CRESCIMENTO E TROCAS
GASOSAS EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.**

DEREK BRITO CHAIM JARDIM ROSA

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2017

**ESTRESSE HÍDRICO NO CRESCIMENTO E TROCAS
GASOSAS EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.**

DEREK BRITO CHAIM JARDIM ROSA
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: PROF^a. DR^a. SILVANA DE PAULA QUINTÃO SCALON

Tese apresentada a Universidade Federal da
Grande Dourados, como parte das exigências
do Programa de Pós Graduação em
Agronomia – Produção Vegetal, para
obtenção do título de Doutor

Dourados
Mato Grosso do Sul
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R788e	<p>Rosa, Derek Brito Chaim Jardim. Estresse hídrico no crescimento e trocas gasosas em mudas de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. / Derek Brito Chaim Jardim Rosa. – Dourados, MS : UFGD, 2017. 86f.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Aparato fotossintético. 2. Metabolismo fotossintético. 3. Atividade antioxidante. 4. Alagamento. 5. Deficit hídrico. I. Título.</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

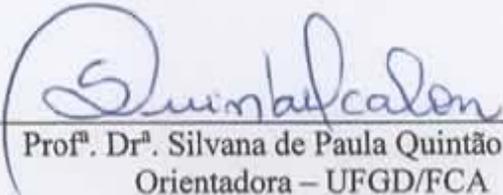
**ESTRESSE HÍDRICO NO CRESCIMENTO E TROCAS
GASOSAS EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.**

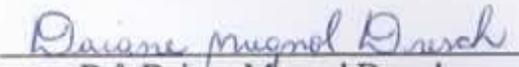
por

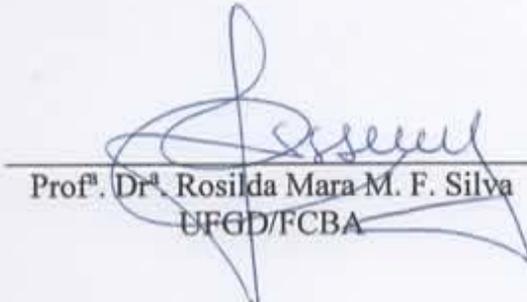
Derek Brito Chaim Jardim Rosa

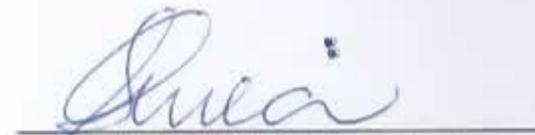
Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção
do título de DOUTOR EM AGRONOMIA

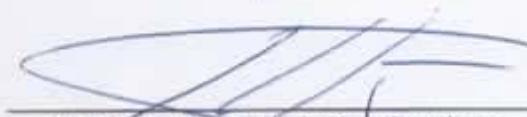
Aprovada em: 18 de dezembro de 2017


Prof.^a. Dr.^a. Silvana de Paula Quintão Scalon
Orientadora – UFGD/FCA


Dr.^a. Daiane Mugnol Dresch
UFGD/FCA


Prof.^a. Dr.^a. Rosilda Mara M. F. Silva
UFGD/FCBA


Prof.^a. Dr.^a. Silvia Correa Santos
UFGD/FCA


Prof. Dr. Etenaldo Felipe Santiago
UEMS

Aos meus pais, Edgard e Yara (*in memoriam*), pelos valores, educação e base que transmitiram. A minha mãe, especialmente, pelo exemplo de luta, perseverança e amor.

A Caroline, minha companheira e melhor amiga, pelo apoio, carinho e compreensão durante meus melhores e piores momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados, em especial à Faculdade de Ciências Agrárias pela oportunidade concedida;

À FUNDECT pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos;

A Silvana de Paula Quintão Scalon pelo exemplo de profissionalismo e de mestre durante a orientação dos trabalhos.

A Daiane Dresch Mugnol, pelas precisas correções, sugestões e colaborações.

Aos colegas Thais, Felipe, Gustavo e Jonas pelo auxílio nas atividades de campo e laboratoriais e pelos muitos momentos de descontração.

À banca examinadora pelas valiosas correções.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO	7
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO GERAL	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPÍTULO I – TROCAS GASOSAS EM <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	
SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE	
RESUMO	17
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	32
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPÍTULO II – TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	
EM MUDAS DE <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. APÓS ALAGAMENTO	
RESUMO	41
ABSTRACT	41
INTRODUÇÃO	42
MATERIAL E MÉTODOS	43
RESULTADOS	45
DISCUSSÃO	52
CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

**CAPÍTULO III – TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. EM DIFERENTES
DISPONIBILIDADES HÍDRICAS**

RESUMO	61
ABSTRACT	61
INTRODUÇÃO	62
MATERIAL E MÉTODOS	63
RESULTADOS	65
DISCUSSÃO	72
CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
ANEXO	83

ESTRESSE HÍDRICO NO CRESCIMENTO E TROCAS GASOSAS EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.

Autor: Derek Brito Chaim Jardim Rosa
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Silvana de Paula Quintão Scalon

RESUMO – A copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) é uma arbórea nativa no Cerrado brasileiro que possui ampla distribuição geográfica pelo território nacional, em ambiente com grande variação edafoclimática, sugerindo que a espécie tolera adversidades hídricas. Entretanto, quando se visa o melhor aproveitamento dos recursos hídricos para a produção de mudas de qualidade ou, a implantação de projetos de recuperação de áreas degradadas e de reflorestamento, poucas são as informações acerca da capacidade que esta nativa possui para suportar o estresse hídrico. Em vista disso, objetivou-se com este trabalho, avaliar as trocas gasosas e o crescimento em mudas de *C. langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes condições de estresse hídrico. Para tanto, foram realizados três experimentos. No primeiro, foram avaliadas as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante das mudas submetidas ao déficit hídrico em diferentes condições luminosas (30%, 70% e 100% de luz) e o potencial de recuperação dessas características após a suspensão da condição estressante. No segundo, foram avaliadas, ao longo do tempo, a recuperação da eficiência do aparato fotossintético e a atividade antioxidante de mudas alagadas por diferentes períodos. No terceiro, foram avaliadas as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *C. langsdorffii* cultivadas sob diferentes capacidades de retenção hídrica. Ao final do primeiro experimento, observou-se que as mudas submetidas ao déficit hídrico e expostas a 100% de luminosidade apresentaram perda na capacidade de recuperação do metabolismo fotossintético. Quanto ao segundo experimento, observou-se que mudas alagadas por períodos prolongados apresentaram menor capacidade de recuperação após o alagamento, sendo menores os índices de eficiência do aparato fotossintético, das trocas gasosas, da produção de fotoassimilados e da qualidade das mudas. No terceiro experimento foi constatado que disponibilidades hídricas extremas são sugestivas de estresse para a espécie nas condições estudadas e desencadeiam elevada atividade das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, peroxidase e catalase) na planta.

Palavras-chave: Aparato fotossintético, metabolismo fotossintético, atividade antioxidante, alagamento, déficit hídrico.

**WATER STRESS IN GROWTH AND GASEOUS EXCHANGES
IN SEEDLINGS OF *Copaifera langsdorffii* Desf.**

Author: Derek Brito Chaim Jardim Rosa

Adviser: Prof^a. Dr^a. Silvana de Paula Quintão Scalon

ABSTRACT - Copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) is a native tree of the Brazilian Cerrado that has a wide geographic distribution throughout the national territory, in ambience of great edaphoclimatic variation, suggesting that the species is able to withstand water adversities. However, when is aimed the best use of water resources for the production of quality seedlings or the implementation of projects for the recovery of degraded areas and reforestation, there is little information about the capacity of this native plant to withstand water stress. The aim of this work was to evaluate the gas exchange and the growth in *C. langsdorffii* Desf. submitted to different water stress conditions. For that, three experiments were carried out. In the first one, were evaluated the gaseous exchanges, the efficiency of the photosynthetic apparatus and the antioxidant activity of the seedlings submitted to the water deficit in different light conditions (30%, 70% and 100% light) and the potential for recovery of these characteristics after suspension of the stressful condition. In the second, were evaluated, over the time, the recovery of the efficiency of photosynthetic apparatus and the antioxidant activity of seedlings flooded for different periods. In the third one, were evaluated the gaseous exchanges, the efficiency of photosynthetic apparatus and the antioxidant activity of *C. langsdorffii* seedlings cultivated under different water retention capacities. At the end of the first experiment, it was observed that the seedlings submitted to the water deficit and exposed to 100% of luminosity showed loss of the capacity for the recovery of the photosynthetic metabolism. As for the second experiment, it was observed that seedlings flooded for prolonged periods showed lower recovery capacity after flooding, with lower indexes for the efficiency of photosynthetic apparatus, gaseous exchanges, photoassimilates production and seedlings quality. In the third experiment it was observed that extreme water availabilities are suggestive of stress for the species under the studied conditions and causes high activity of the antioxidant enzymes (superoxide dismutase, peroxidase and catalase) in the plant.

Keywords: Photosynthetic apparatus, photosynthetic metabolism, antioxidant activity, flooding, water deficit.

INTRODUÇÃO GERAL

É recorrente a preocupação mundial quanto a disponibilidade dos recursos hídricos e, principalmente, quais os impactos que a escassez de água pode originar nos mais diferentes setores da vida e, conseqüentemente, da economia. Tal fato é ainda mais evidente quando observados os setores produtivos diretamente ligados à agricultura, uma vez que, a água em quantidade adequada é fator determinante para o estabelecimento de cultivos saudáveis, o que em tese resulta em boas produtividades.

Entretanto, nos últimos anos, vêm sendo registradas discrepâncias no regime hídrico ao redor do globo terrestre, resultando em chuvas ou secas prolongadas, principalmente devido ao aumento da temperatura atmosférica somado às mudanças na distribuição da precipitação (ALLEN et al., 2010).

O estresse hídrico é caracterizado por situações de excesso ou falta de água e, em ambos os casos, a sua ocorrência e duração são fatores limitantes para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, em especial os florestais, pois o impacto que causa nas relações hídricas altera o metabolismo das plantas, influenciando negativamente na produtividade e nos parâmetros de crescimento das espécies (VELLINI et al., 2008; LISAR et al., 2012).

Fisiologicamente, os vegetais em condições de estresse apresentam uma série de respostas distintas, que vão desde as alterações nas relações das trocas gasosas, como por exemplo as mudanças na taxa de assimilação líquida de CO₂, que conseqüentemente afetam a fotossíntese, até mesmo de mudanças nas variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila *a* e o decréscimo na atividade de enzimas do Ciclo de Calvin e outras enzimas relacionadas ao combate dos danos oriundos do estresse oxidativo, tais como a superóxido dismutase, a peroxidase e a catalase (CAMPELO et al., 2015; COSTA et al., 2015).

O estresse hídrico pode alterar o processo de expansão e divisão celular, interferindo no desenvolvimento e crescimento das plantas. Muitas vezes, ocorre também a diminuição do potencial hídrico foliar, induzindo o fechamento estomático, o que resulta na diminuição das trocas gasosas e, conseqüentemente, na produção de biomassa dado o decréscimo da fotossíntese (FAROOQ et al., 2009; RODRIGUES et al., 2011; CUNHA et al., 2013). O estresse hídrico afeta o crescimento de raízes e da parte aérea das plantas, tanto pela inibição do alongamento dos entrenós, quanto pela inibição da expansão das folhas, causando depósito de ceras e aumento de tricomas na superfície das

folhas, acelerando a sua senescência e abscisão (TAIZ e ZEIGER, 2013; COSTA et al., 2015). Em baixa disponibilidade hídrica, o número e a localização dos estômatos variam e, sob alagamento, as plantas tendem a formar em seus caules, lenticelas e em suas raízes, aerênquimas, estruturas que facilitam difusão do oxigênio e aumentam a tolerância das espécies nestes ambientes estressores (FIGUEIRÔA et al., 2004; MALIK et al., 2004; CARVALHO et al., 2016).

Ainda sobre as mudanças fisiológicas, em especial aquelas decorrentes das trocas gasosas, observa-se que, em condições de estresse hídrico a condutância estomática é, de um modo geral, alterada. O controle desta variável é considerado uma importante propriedade fisiológica, por meio da qual as plantas limitam a perda de água, por transpiração, como forma de resposta ao déficit hídrico e ao alagamento, evitando, desta maneira, a morte por dessecação (CORDEIRO et al., 2009; SCALON et al., 2011). A condutância estomática regula a saída de vapor d'água da planta e, ao mesmo tempo, a entrada de gás carbônico e, geralmente a taxa de fotossíntese decresce a níveis próximos de zero em potenciais de água que induzem o fechamento estomático (BATISTA et al., 2008; FAROOQ et al., 2009).

A rápida diminuição de condutância estomática pode ser particularmente importante para a sobrevivência das plantas sob alagamento, pois impede a transpiração excessiva em condições em que a capacidade de absorção de água está prejudicada devido a condição de hipoxia ou anoxia. Na maioria das espécies tolerantes à inundação, a diminuição inicial da condutância estomática frequentemente é seguida pela reabertura estomática, além da recuperação da taxa fotossintética. Entretanto, situações prolongadas de inundação/alagamento provocam a morte dos tecidos vegetais e a mudança da respiração aeróbica para anaeróbica (NASCIMENTO, 2009; LIRA et al., 2013).

Por outro lado, a redução na condutância estomática em condições de déficit hídrico além de resultar no declínio da taxa fotossintética, devido à menor difusão de CO₂ para o interior da folha, ocasiona também um aumento na temperatura foliar, devido a menor dissipação de calor pela transpiração. Em situações extremas, quando falho o resfriamento evaporativo, podem ocorrer o surgimento de danos irreparáveis ao aparato fotossintético das plantas, uma vez que o excesso de calor pode desestabilizar e até mesmo degradar proteínas e lipídeos que constituem a membrana das organelas responsáveis pela fotossíntese (MAHAJAN e TUTEJA, 2005; OLIVEIRA et al., 2005). A manutenção da temperatura foliar igual ou inferior à temperatura do ar comprova a capacidade de

refrigeração das diversas espécies via transpiração, com o objetivo de proteger as plantas contra estresses térmicos (TAIZ e ZEIGER, 2013).

O estresse hídrico também pode desencadear a produção das espécies reativas ao oxigênio (ROS), representadas por oxigênio molecular (O_2), ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroxila (OH^\cdot). As ROS são altamente reativas, dão origem ao estresse oxidativo podendo alterar o metabolismo celular causando danos aos carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos e a peroxidação de lipídeos e de membranas, levando a perda de íons, a hidrólise de proteínas e até mesmo danos ao DNA vegetal (ZHANG et al., 2007; AZEVEDO NETO et al., 2008). Geralmente, como consequência desse estresse oxidativo, os tecidos ou órgãos danificados apresentam um aumento na atividade dos seus sistemas antioxidantes, como por exemplo, a elevação na expressão das enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase, que implicam em reduzir os prejuízos decorrentes do estresse (LIMA et al., 2002; SCHÜTZENDÜBEL e POLLE, 2002).

A *Copaifera langsdorffii*, popularmente conhecida por copaíba, pau-óleo, podói, cupaúba ou cupiúva é uma espécie arbórea da família Leguminosae (Caesalpinioideae) e possui ampla distribuição no Brasil. Sua ocorrência se estende pelos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná, sendo encontrada também em outros estados brasileiros abrangidos pelo Bioma Cerrado. A espécie é caracterizada por ser semidecídua, heliófita, seletiva xerófila, característica das formações de transição do Cerrado para a floresta latifoliada semidecídua. Sua ocorrência se dá tanto na mata primária densa como nas formações secundárias e a dispersão de suas sementes é predominantemente ornitocórica. Além disso, apresenta uma grande variação edafoclimática entre os tipos climáticos tropical, subtropical, temperado úmido e subtropical de altitude sendo encontrada em regiões onde a precipitação média é de 800 mm a 2400 mm, sugerindo que pode suportar forte deficiência hídrica. Ocorre naturalmente tanto em solos férteis bem drenados, como terrenos úmidos de matas ciliares, como em solos pobres do Cerrado (CARVALHO, 2003; LORENZI 2008).

A *C. langsdorffii* é uma árvore que pode atingir entre 25 a 40 metros de altura e alcançar até 100 centímetros de diâmetro a altura do peito e pode viver por aproximadamente 400 anos. Seu tronco é cilíndrico tortuoso, a copa é densa e globosa e as folhas são compostas, alternas, paripinadas, com folíolos medindo 4 a 5 cm de comprimento e 2 a 3 cm de largura. Quando novas, as folhas apresentam coloração rosada,

muito decorativa e de fundamental importância para a identificação da espécie. As flores são dispostas em panículas e são hermafroditas com coloração branco-esverdeada. O fruto é do tipo legume, deiscente, ovóide, castanho claro quando maduro, com uma semente, sendo esta preta, oblonga e recoberta por um arilo alaranjado de consistência mucilaginosa e carnuda (FREITAS e OLIVEIRA, 2002; ARAÚJO JÚNIOR et al., 2005; LAMEIRA, 2011).

A espécie apresenta uma madeira moderadamente densa, com superfície lustrosa ou lisa ao tato, medianamente resistente, com média a alta resistência natural, apresentando problemas com empenamento durante o processo de secagem. A madeira é indicada para uso na construção civil, sendo destinada a produção de vigas, caibros, ripas, batentes de portas e janelas, para a fabricação de móveis e peças torneadas, como coronha de armas, cabo de ferramentas e vassouras, usada ainda, para carrocerias, miolo de portas e painéis, lambris e tábuas para assoalhos (CARVALHO, 2003; LORENZI 2008). Além disso, a *Copaifera langsdorffii* é conhecida pelo fornecimento de um óleo muito utilizado na medicina popular, por este apresentar uma variedade de propriedades farmacológicas, dentre elas, anti-inflamatória e cicatrizante. Este óleo, pode ser utilizado puro, ou servir de componente na preparação de produtos terapêuticos e cosméticos, apresentando também, potencial para o uso industrial em tintas, vernizes e como fixador de fragrância de perfumes (LAMEIRA et al., 2011).

Somado a isso, a *C. langsdorffii* fornece uma ótima sombra, o que faz dela uma espécie que pode ser empregada tanto no paisagismo urbano quanto no rural, sendo útil também, por se tratar de uma nativa de ampla ocorrência no território brasileiro, para o uso em programas de revegetação ou de recuperação de áreas de preservação permanente degradadas pela ação antrópica. Entretanto, pouco se sabe acerca desta espécie quanto aos procedimentos e recomendações técnicas para a produção de mudas de qualidade e, menos ainda, quanto as limitações fisiológicas que estas mudas podem sofrer quando do cultivo a campo, uma vez que estarão, naquele momento, sujeitas aos mais diferentes tipos de estresse (LORENZI, 2008; DUTRA et al., 2012).

A demanda por informações relativas as ações de restauração de áreas com espécies nativas, em especial das tropicais, fizeram com que pesquisadores voltassem seus esforços para conhecer as estratégias de sucessão e habilidades competitivas que as espécies florestais possuem. Descobriu-se que o sucesso nas ações de restauração depende, dentre outros fatores, da capacidade que as mudas das arbóreas possuem em absorver água e nutrientes, resistir ao ataque de pragas e doenças e de tolerar os estresses

impostos pelas inúmeras condições adversas, merecendo destaque, o estresse hídrico. Sabe-se que a produção de mudas de espécies nativas arbóreas destinadas tanto para fins comerciais, quanto para ações de restauração, além de ser uma atividade economicamente viável, visa, quando associada aos programas de recuperação, a diminuição dos impactos ambientais, a melhoria das condições edafoclimáticas e a conservação da biodiversidade (POUYU-ROJAS e SIQUEIRA, 2000; POUYU-ROJAS et al., 2006; GONÇALVES et al., 2009; SCABORA et al., 2010).

Com este trabalho, procurou-se avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* submetidas a diferentes condições de estresse hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, C. D.; MACALADY, A. K.; CHENCHOUNI, H.; BACHELET, D.; McDOWELL, N.; VENNETIER, M.; KITZBERGER, T.; RIGLING, A.; BREASHERS, D. D.; HOGG, E. H.; GONZALEZ, P.; FENSHAW, R.; ZHANG, Z.; CASTRO, J.; DEMIDOVA, N.; LIM, J. H.; ALLARD, G.; RUNNING, S. W.; SEMERCI, A.; COBB, N. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. **Forest Ecology and Management**, v. 259, n. 1, p. 660-684. 2010.

ARAÚJO JÚNIOR, F. A.; BRZ, M. N.; ROCHA NETO, O. G.; COSTA, F. D.; BRITO, M. V. H. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 93-9, 2005.

AZEVEDO NETO, A. D.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T. Salinity and oxidative stress. In: **Khan NA, Sarvajeet S (eds), Abiotic Stress and Plant Responses**, p.58-82. New Delhi: IK International, 2008.

BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; MEDRI, C.; PIMENTA, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachysrachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta Botânica Brasílica**, v. 22, n. 1, p. 91-98, 2008.

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. 1, p. 973-983, 2015.

CARVALHO, L. S. O.; LIRA, G. M. S.; RODRIGUES, A. C.; LARA, T. S.; PACHECO, F. V.; ALVARENGA, A. A. Resistance mechanisms of *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert submitted to flood conditions. **Floram – Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 4, p. 582-588, 2016.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003.

CORDEIRO, Y. E. M.; PINHEIRO, H. A.; SANTOS FILHO, B. G.; CORRÊA, S. S.; SILVA, J. R. R.; DIAS-FILHO, M. B. Physiological and morphological responses of young mahogany (*Swietenia macrophylla* King) plants to drought. **Forest Ecology and Management**, v. 258, n. 1, p. 1449-1455, 2009.

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 Pará state, Brazil. **Revista Ciências Agrárias**, v. 56, n. 3, p. 255-260, 2013.

DUTRA, T. R.; GRAZZIOTTI, P. H.; SANTANA, R. C.; MASSAD, M. D.; Desenvolvimento inicial de mudas de copaíba sob diferentes níveis de sombreamento e substratos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 2, p. 321-329, 2012.

FAROOQ, M.; BASRA, S. M. A.; WAHID, A.; AHMAD, N.; SALLEM, B. A. Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid. **Journal of Agronomy e Crop Science**, v. 195, n. 1, p. 237-246, 2009.

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botânica Brasileira**, v. 18, n. 3, p. 573-580, 2004.

FREITAS, C. V.; OLIVEIRA, P. E. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, n. 3, p. 311-321, 2002.

GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; 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.

LAMEIRA, H. L. N. **Morfofisiologia de graviola (*Annona muricata* L.), cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.) e copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.)**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém – PA.

LIMA, A. L. S.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TÓTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, n. 1, p. 239-247, 2002.

LIRA, J. M. S.; FERREIRA, R. A.; SILVA JUNIOR, C. D.; SANTOS NETO, E. M.; SANTANA, W. S. Análise de crescimento e trocas gasosas de plantas de *Lonchocarpus*

sericeus (Poir.) D.C. sob alagamento para uso na recuperação de matas de ciliares. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 4, p. 655-665, 2013.

LISAR, S. T.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. In: RAHMAN, I. M. M. **Water stress**. Rijeka: InTech, 2012. p. 1-14.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 5 ed. Editora Nova Odessa. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008, 384 p.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stress: An overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 444, p. 139-158, 2005.

MALIK, A. I., COLMER, T. D., LAMBERS, H., SCHORTEMAYER, M. Aerenchyma formation and radial O₂ loss along adventitious roots of wheat with only the apical root portion exposed to O₂ deficiency. **Plant Cell and Environment**, v. 26, n. 1, p. 1713-1722, 2004.

NASCIMENTO, J. L. **Crescimento e assimilação de carbono em plantas jovens de *Attalea funifera* Mart. submetidas ao sombreamento e ao estresse hídrico**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus – BA.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, J. E.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. **Engenharia Agrícola**, v. 25, n. 1, p. 86-95, 2005.

POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 103-114, 2000.

POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, G. D. S. Compatibilidade de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 1, p. 413-424, 2006.

RODRIGUES, B. M.; ARCOVERDE, G. B.; ANTONINO, A. C. D.; SANTOS, M. G. Water relations in physic nut according to climatic seasonality, in semiarid conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1112-1115, 2011.

SCABORA, M. H.; MALTONI, K. L.; CASSIOLATO, A. M. R. Crescimento, fosfatase ácida e micorrização de espécies arbóreas em solo de cerrado degradado. **Bragantia**, v. 69, n. 1, p. 445-451, 2010.

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.

SCHÜTZENDÜBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 1, p. 1351-1365, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

VELLINI, A. L. T. T.; PAULA, N. F.; ALVES, P. L. C. A. PAVANI, L. C.; BONINE, C. A. V.; SCARPINATI, E. A.; PAULA, R. C. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, v. 32, n. 1, p. 651-663, 2008.

ZHANG, Y. M.; ZHANG, Z. P.; GUO, T. R. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. **Colloides and Surfaces**, v. 57, n. 1, p. 182-188, 2007.

CAPÍTULO I

TROCAS GASOSAS EM *Copaifera langsdorffii* Desf. SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE

RESUMO – Nas plantas, o estresse causado pelo déficit hídrico pode alterar as suas trocas gasosas causando uma série de prejuízos, entretanto, tal situação pode ser amenizada quando se trabalha com diferentes níveis de luminosidade. Objetivou-se com esse trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas ao déficit hídrico em diferentes níveis de luminosidade e o potencial de recuperação do status fisiológico destas mudas após a suspensão da condição estressante. As mudas foram expostas a diferentes níveis de luminosidade (30%, 70% e 100%) e condições de irrigação (irrigação contínua e irrigação intermitente) e avaliadas em seis períodos distintos (Início, 1ª Fotossíntese Zero, 1ª Recuperação, 2ª Fotossíntese Zero, 2ª Recuperação e Final). Ao final do período experimental, observou-se que mudas de *Copaifera langsdorffii* com irrigação intermitente e cultivadas a 100% de luminosidade apresentaram perda na capacidade de recuperação do metabolismo fotossintético, com quedas acentuadas das seguintes variáveis: fotossíntese – A; transpiração – E; concentração interna de CO₂ – Ci; eficiência da carboxilação da Rubisco – A/Ci e condutância estomática – gs. Por outro lado, mudas cultivadas a 30% e a 70% de luminosidade com irrigação intermitente apresentaram melhor capacidade de recuperação de suas trocas gasosas, não sendo observadas, nestas condições, alterações e/ou danos significativos a eficiência do fotossistema II.

Palavras-chave: Estresse fisiológico, fotossíntese, fotossistema II.

ABSTRACT – In plants, the stress caused by the water deficit can change its gas exchange causing a series of damages, however, such situation can be mitigated when working with different light levels. It was aimed at this work evaluate the gas exchange, the efficiency of the photosynthetic apparatus and the antioxidant activity of *Copaifera langsdorffii* Desf. submitted to the water deficit in different light levels and the potential of recovery of the physiological status of these seedlings after the suspension of the stressful condition. The seedlings were exposed to different light levels (30%, 70% and 100%) and irrigation conditions (continuous irrigation and intermittent irrigation) and evaluated in six distinct periods (Start, 1st Zero Photosynthesis, 1st Recovery, 2nd Zero

Photosynthesis, 2nd Recovery and Final). At the end of the experimental period, it was observed that *Copaifera langsdorffii* Desf. seedlings that were subjected to intermittent irrigation and cultivated at 100% luminosity showed a loss in the capacity to recover the photosynthetic metabolism, with marked decreases of the following variables: photosynthesis – A; transpiration – E; internal CO₂ concentration – Ci; Carboxylation efficiency of Rubisco – A/Ci; stomatal conductance – gs. On the other hand, seedlings cultivated at 30% and 70% of light and subjected to intermittent irrigation showed better capacity of recovery of their gas exchanges, not being observed, under these conditions, changes or significant damages to the photosystem II efficiency.

Keywords: Physiological stress, photosynthesis, photosystem II.

INTRODUÇÃO

A *Copaifera langsdorffii* Desf., popularmente conhecida por copaíba, é uma espécie arbórea da família Leguminosae (Caesalpinioideae) que possui ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrada nos estados de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e em outros estados brasileiros sob domínio do Cerrado. Trata-se de uma espécie recomendada para a recuperação de áreas degradadas, entretanto, pouco se sabe acerca dos mecanismos relacionados a sua fisiologia e metabolismo frente às condições de estresse impostas pelo ambiente, especialmente aquelas relacionadas ao déficit hídrico, situação que limita o crescimento e desenvolvimento das espécies, além de regular a sua distribuição espacial (DUTRA et al., 2012; CALDATO e SCHUMACHER, 2013; SANTANA et al., 2016).

Nas plantas, o estresse causado pelo déficit de água afeta o potencial hídrico das folhas e pode alterar a atividade das suas trocas gasosas, uma vez que o conteúdo total de água das células e dos tecidos vegetais está abaixo da máxima hidratação (TAIZ e ZEIGER, 2013). Algumas respostas ao déficit hídrico são comumente observadas, tais como o fechamento estomático e a consequente diminuição da fotossíntese e da transpiração, além de danos às membranas dos tecidos, a perda de pigmentos relacionados a fotossíntese e o comprometimento dos processos de fixação e assimilação do gás carbônico, e na ação de enzimas que combatem o estresse oxidativo, como por exemplo, a superóxido dismutase (SOD) e a peroxidase (POD) (FLEXAS et al., 2012; ASHARAF e HARRIS, 2013; CAMPELO et al., 2015).

A extensão dos efeitos que o déficit hídrico pode causar nas plantas depende da sua intensidade e duração e da capacidade genética que as espécies possuem para responder a este tipo de estresse. Pesquisas indicam que as plantas possuem, de modo geral, rápida e até completa recuperação de sua taxa fotossintética quando submetidas ao déficit hídrico leve ou moderado, entretanto, diante de déficit hídrico severo o quadro é alterado e tal recuperação é lenta ou até mesmo nula. Por este motivo, muitos trabalhos que objetivam a produção de mudas para o reflorestamento em áreas sujeitas ao déficit hídrico levam em consideração respostas fisiológicas ligadas às trocas gasosas que espécies arbóreas apresentam. Trata-se, na verdade, de uma segurança adicional ao sucesso e viabilidade dos projetos de revegetação (SAPETA et al., 2013; SOBANSKI e MARQUES, 2014; JUNGLOS et al., 2016).

Dentre os mecanismos que podem amenizar os efeitos do déficit hídrico, merece destaque o sombreamento. Ao mimetizar condições encontradas na natureza, este recurso artificial permite a obtenção de diferentes condições de luminosidade, o que influi diretamente na fotossíntese, condutância estomática, transpiração e síntese de clorofila (AZEVEDO et al., 2015), além de reduzir a temperatura ao redor da planta. Em vista disso, objetivou-se com esse trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas ao déficit hídrico em diferentes intensidades luminosas e o potencial de recuperação de seu status fisiológico após a suspensão da condição estressante.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no viveiro de plantas da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no município de Dourados – MS, durante os meses de dezembro de 2016 a abril de 2017. Foram utilizadas mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. com 60 dias após a emergência. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, no esquema fatorial 3 x 2 x 6, sendo 3 níveis de luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), 2 condições de irrigação (irrigação contínua – IC e irrigação intermitente – II) e seis períodos de avaliação (Início, 1ª Fotossíntese Zero – 1a F0, 1ª Recuperação – 1a Rec., 2ª Fotossíntese Zero – 2a F0, 2ª Recuperação – 2a Rec. e Final). A unidade experimental foi constituída por um vaso com duas mudas cada.

O experimento foi conduzido em local coberto com plástico transparente para evitar a incidência de chuvas e, para garantir o controle de luz adequado, as mudas dos níveis de 30% e 70% de luminosidade foram mantidas sob uma estrutura revestida com tela de nylon preta conhecida como Sombrite[®]. Dentro de cada nível de luminosidade foram acondicionados os vasos irrigados de modo contínuo e de modo intermitente. As avaliações foram realizadas no começo do período experimental (Início – 0 dias) e as demais quando observado, em algum dos tratamentos, uma condição de fotossíntese próxima a zero (1^a e 2^a Fotossíntese Zero – 19 e 61 dias) e de recuperação desta condição de fotossíntese zero (1^a e 2^a Recuperação – 32 e 77 dias) e uma ao fim do experimento (Final – 149 dias).

Durante todo período experimental, o controle da irrigação nas mudas submetidas a irrigação contínua foi individualizado, sendo que a cada dois dias, via método gravimétrico, foi realizada a irrigação suficiente para atingir 75% da capacidade de retenção de água do sistema (SOUZA et al., 2000). Quando as plantas irrigadas de modo intermitente atingiram a fotossíntese próxima a zero elas foram reirrigadas até que a taxa fotossintética atingisse valores próximos aos das plantas controle. Após atingida a recuperação, as mudas irrigadas de modo intermitente foram novamente submetidas à suspensão do fornecimento de água, exceto quando atingida a 2^a Recuperação, cujo fornecimento de água foi uniforme para todas as mudas de até o fim do período experimental. O substrato utilizado para o preenchimento dos vasos com capacidade para 6 litros consistiu em uma mistura, em volumes iguais de Bioplant[®], vermiculita e Latossolo Vermelho distroférico (1:1:1 v/v).

Em todos os períodos as mudas foram avaliadas quanto ao potencial hídrico das folhas (Ψ_w) obtido a partir de leituras realizadas em folhas individuais pertencentes ao segundo par de folhas totalmente expandidas do ápice para a base, entre 10 e 11 horas da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander modelo 3115 Portable PWSC (ICT-International, Armindale, NSW), imediatamente após a coleta das folhas (SCHOLANDER et al., 1964); o índice de clorofila com auxílio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Konica-Minolta, Tokyo, Japan); a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m), eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_o) e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_o/F_m) obtidas a partir de dados de fluorescência da clorofila *a* mensurados com o auxílio do fluorímetro portátil modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA); as taxas fotossintética (A) e transpiratória (E);

condutância estomática (gs); concentração interna de CO₂ (Ci); e as relações eficiência do uso da água – EUA (A/E); eficiência da carboxilação da rubisco (A/Ci) e eficiência intrínseca do uso da água – EIUA (A/g) utilizando-se o analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCI PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK). As avaliações foram realizadas em quatro mudas por tratamento no período da manhã, entre 8 e 11 horas da manhã, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas, de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas.

Foram avaliados também o número de folhas; a área foliar com o integrador de área foliar LI-COR® modelo LI 3100; o índice de qualidade de Dickson (IQD) segundo a equação $IQD = [massa\ seca\ total / (altura / diâmetro + massa\ seca\ parte\ aérea / massa\ seca\ raiz)]$ (DICKSON et al., 1960) e, por fim, a atividade das enzimas antioxidativas superóxido dismutase e peroxidase nos tecidos vegetais das folhas e raízes, segundo a metodologia descrita por Broetto (2014). Dados de temperatura e umidade relativa durante o período experimental foram obtidos da Estação Meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados – MS (Figura 1).

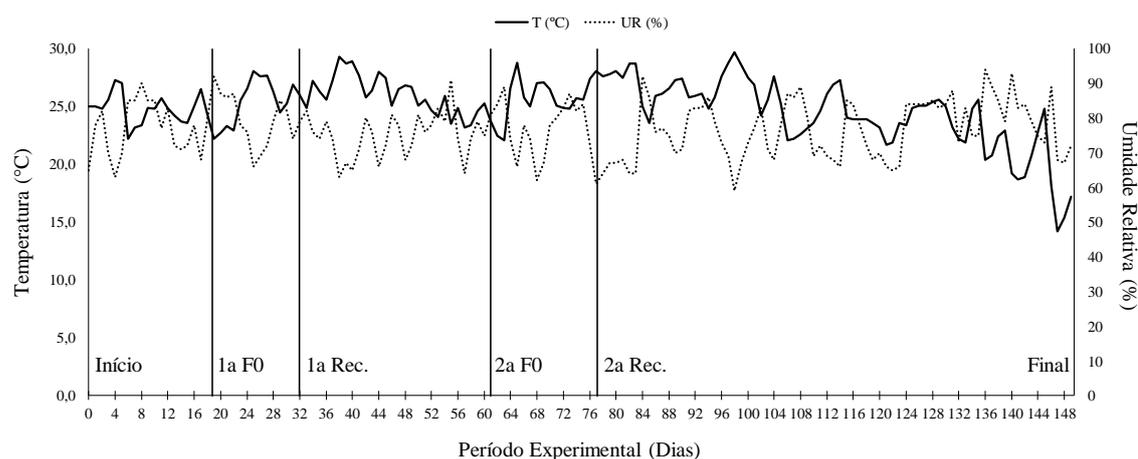


Figura 1. Temperatura e umidade relativa médias durante o período experimental (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017.

Para análise dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e os dados foram submetidos à análise de variância e os efeitos significativos para as médias de cada nível de luminosidade, de cada condição de irrigação e de tempo de avaliação foram submetidas, respectivamente, aos testes Tukey, T de Bonferroni e Scott Knott a 5% de probabilidade. Para as características referentes às

trocas gasosas (A, E, Ci, gs, EUA, A/Ci e EIUA), as médias foram comparadas dia a dia e, quando significativas, submetidas ao teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Houve interação significativa tripla ($p < 0,05$) entre os níveis de luminosidade, as condições de irrigação e os períodos de avaliação para potencial hídrico das folhas (Ψ_w), eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_M) e para a atividade enzimática de peroxidase tanto das folhas quanto das raízes das mudas de *C. langsdorffii*. Interações duplas ($p < 0,05$) entre os níveis de luminosidade e os períodos de avaliação e entre as condições de irrigação e os períodos de avaliação foram observadas para eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_o), produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_o/F_M) e superóxido dismutase das folhas, sendo que para as raízes só foi observada interação dupla entre os níveis de luminosidade e os períodos de avaliação. Efeitos isolados ($p < 0,05$) para os períodos de avaliação foram observados para área foliar, índice de qualidade de Dickson e número de folhas, sendo que para esta última variável também foi observado efeito isolado ($p < 0,05$) para as condições de irrigação. Para a clorofila foi observado apenas efeito isolado ($p < 0,05$) para os níveis de luminosidade.

O potencial hídrico das folhas (Ψ_w) foi inferior nos tratamentos de irrigação intermitente quando comparado aos de irrigação contínua, principalmente quando as mudas atingiram a 2ª Fotossíntese Zero. Os maiores potenciais foram observados para a maioria dos tratamentos no período de avaliação Final, diferindo estatisticamente entre si quanto a condição de irrigação nas plantas expostas a 100% de luminosidade. Observa-se também, que a 100% luminosidade, os efeitos da irrigação foram mais pronunciados que nos demais tratamentos, para todos os períodos de avaliação, exceto para o Início (Figura 2).

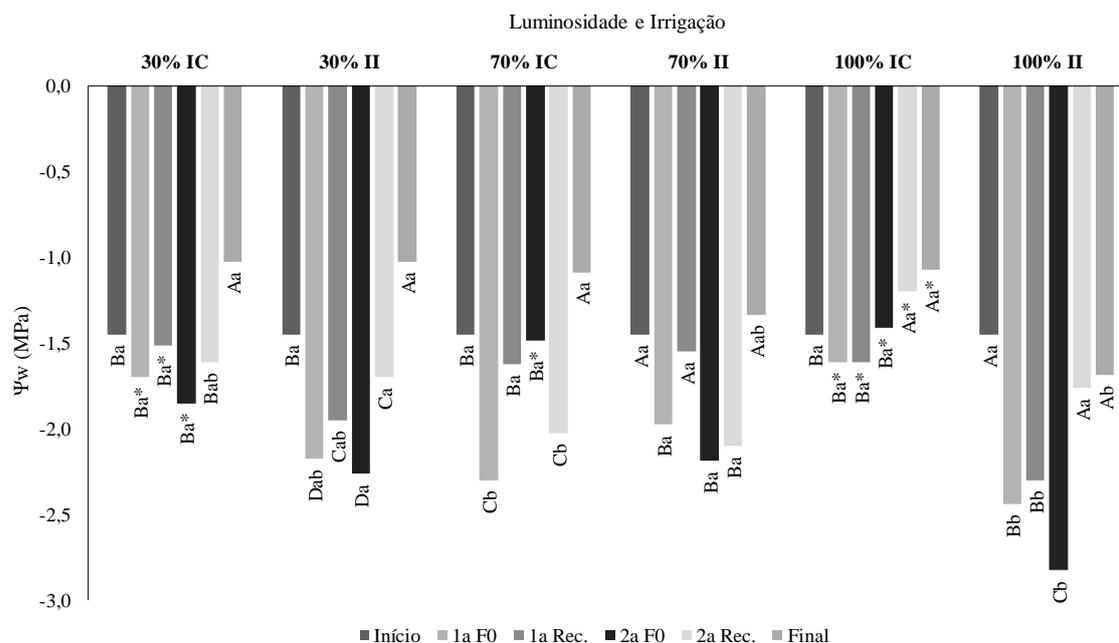


Figura 2. Potencial hídrico das folhas (Ψ_w) de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição luminosidade e irrigação. (Scott Knott, $p < 0,05$); letras minúsculas comparam as condições de luminosidade dentro do mesmo período de avaliação e irrigação (Tukey, $p < 0,05$) e asteriscos comparam as condições de irrigação dentro do mesmo período de avaliação e luminosidade (T de Bonferroni, $p < 0,05$).

A fotossíntese (A) foi menor nas mudas dos tratamentos de irrigação intermitente quando observadas as condições de 1ª e 2ª Fotossíntese Zero, sendo que os menores valores foram registrados quando submetidas a condição de 100% de luminosidade (respectivamente 0,11 e 0,46 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Figura 3A). Observa-se também, ao longo do período experimental, que mudas de irrigação intermitente e submetidas a 100% de luminosidade apresentaram menor taxa de fotossíntese. Com a reirrigação as mudas de todos os tratamentos apresentam taxas fotossintéticas que não variaram significativamente entre si.

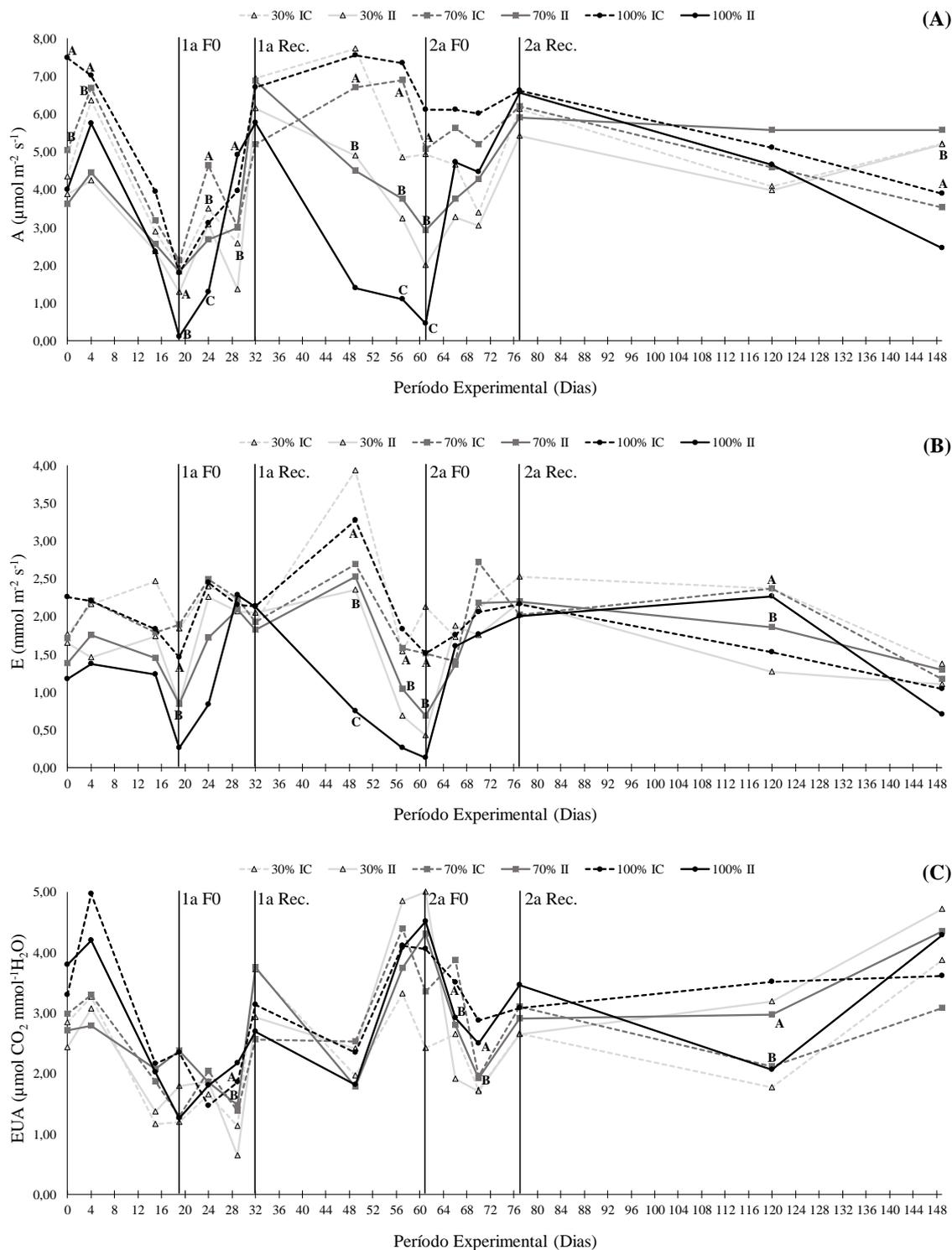


Figura 3. Fotossíntese líquida – A (A); transpiração – E (B) e eficiência do uso da água – EUA (C) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas diferentes entre si no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos avaliados (Scott Knott, $p < 0,05$).

Quanto a transpiração (E), os menores valores registrados foram observados para a condição de 100% de luminosidade nas mudas de irrigação intermitente nos dois períodos de Fotossíntese Zero e, os maiores valores foram registrados, durante todo o período, para as mudas de irrigação contínua, especialmente para aquelas submetidas a 30% e 70% de luminosidade (Figura 3B). Para a eficiência do uso da água (EUA), apesar de haver pouca diferença estatística ao longo do período experimental, observa-se que a partir da 2ª Recuperação, plantas irrigadas continuamente e expostas a 30% e 70% de luminosidade apresentaram, de modo geral, os menores valores de EUA, principalmente quando comparadas às plantas irrigadas de modo contínuo e expostas a 100% de luminosidade (Figura 3C).

Comportamento similar ao da fotossíntese foi observado para a concentração interna de CO₂ (Ci). Mudas irrigadas intermitentemente e expostas a 100% de luminosidade apresentaram as menores concentrações nas condições de avaliação de 1ª e 2ª Fotossíntese Zero. Por outro lado, os maiores valores estatisticamente diferentes destes dois momentos de avaliação foram obtidos para as mudas de irrigação contínua a 30% e 70% de luminosidade (Figura 4A). Esse mesmo padrão de resposta repetiu-se para a eficiência na carboxilação da Rubisco (A/Ci), onde os menores valores foram observados na condição de irrigação intermitente para mudas expostas a 100% de luminosidade durante a 1ª e 2ª Fotossíntese Zero, sendo inclusive estatisticamente inferiores aos demais tratamentos avaliados naquela condição (Figura 4B).

Os maiores valores observados para esta característica durante o período entre a 1ª e 2ª Recuperação foram registrados para as mudas irrigadas continuamente, especialmente aquelas submetidas a 70% e 100% de luminosidade. Ao Final do período de avaliação, mudas irrigadas de modo intermitente e expostas a 100% de luminosidade apresentaram menor A/Ci que não variou estatisticamente das mudas a 70% e a 100% de luminosidade de irrigação contínua.

Para a condutância estomática (gs), tanto na 1ª quanto na 2ª Fotossíntese Zero, os valores entre mudas irrigadas intermitentemente e mudas irrigadas continuamente foram estatisticamente diferentes entre si, independentemente da condição de luminosidade avaliada (Figura 5A). Por outro lado, nas duas Recuperações, não foi observada diferença estatística entre os tratamentos utilizados, porém, na avaliação Final, foi registrado que mudas do tratamento intermitente sob 100% de luminosidade apresentaram a menor gs quando comparadas aos demais tratamentos.

Com relação a eficiência intrínseca do uso da água (EIUA), os menores valores também foram observados nas mudas de irrigação intermitente e submetidas a 100% de luminosidade quando avaliadas na 1ª e 2ª Fotossíntese Zero (Figura 5B). A maior EIUA foi observada durante a 2ª Fotossíntese Zero para mudas de irrigação intermitente e cultivadas a 30% de luminosidade, seguida das mudas de irrigação intermitente e cultivadas a 70% de luminosidade. Ao Final do período experimental, não foi observada diferença significativa para esta característica entre os tratamentos avaliados.

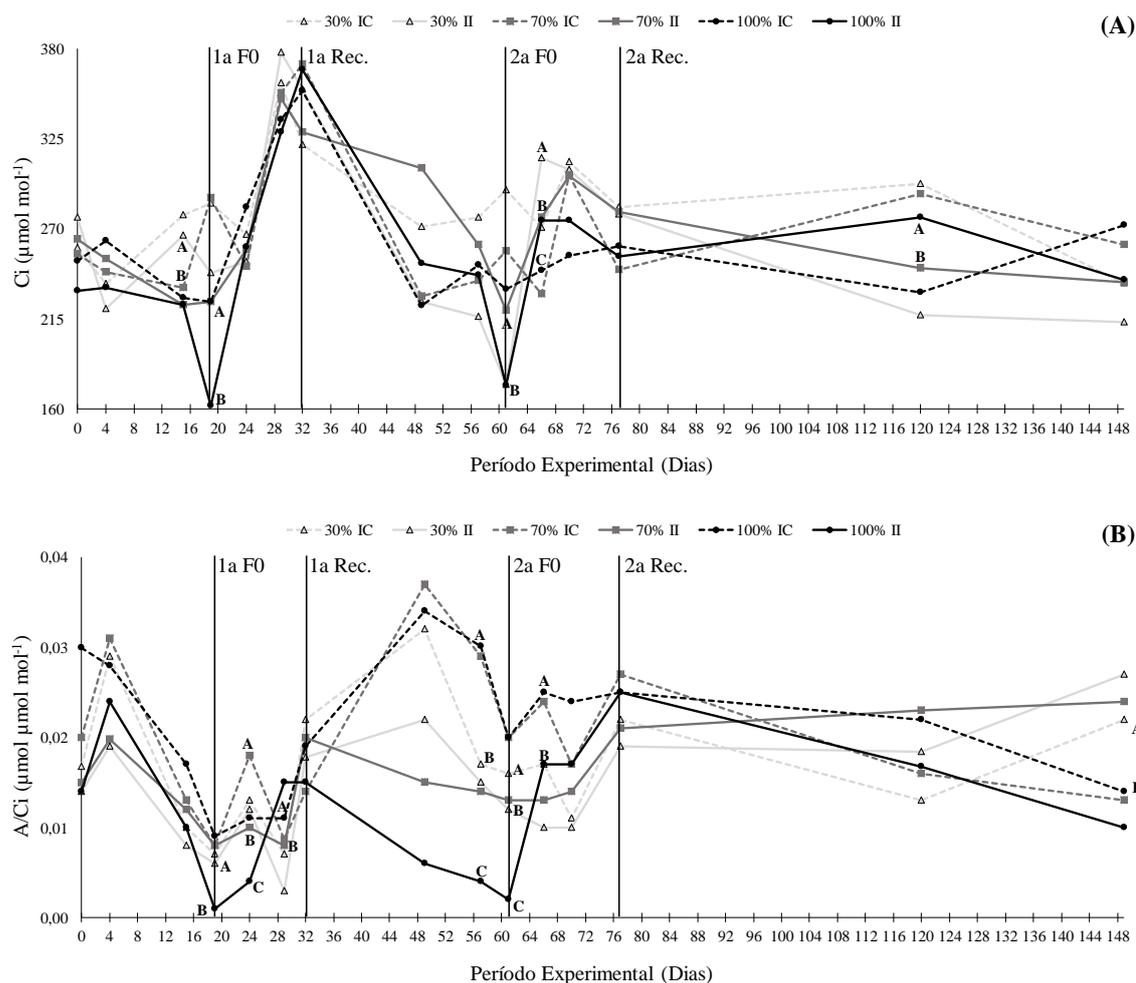


Figura 4. Concentração interna de CO₂ – Ci (A); eficiência da carboxilação da rubisco – A/Ci (B) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas diferentes entre si no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos avaliados (Scott Knott, p<0,05).

Com relação a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_M), o menor valor observado foi nas mudas submetidas a 100% de luminosidade (0,50) e irrigadas intermitentemente durante a 2ª Fotossíntese Zero (100% II – 2a F0), valor este estatisticamente inferior ao das mudas avaliadas no mesmo período e luminosidade, porém irrigadas continuamente (100% IC – 2a F0). Além disso, este valor foi estatisticamente inferior quando comparado com as demais condições de luminosidade em plantas de irrigação intermitente no mesmo período de avaliação. Plantas do tratamento de irrigação contínua, de um modo geral, independentemente da condição de luminosidade a que foram submetidas, não apresentaram diferenças significativas entre si para F_v/F_M (Figura 6A).

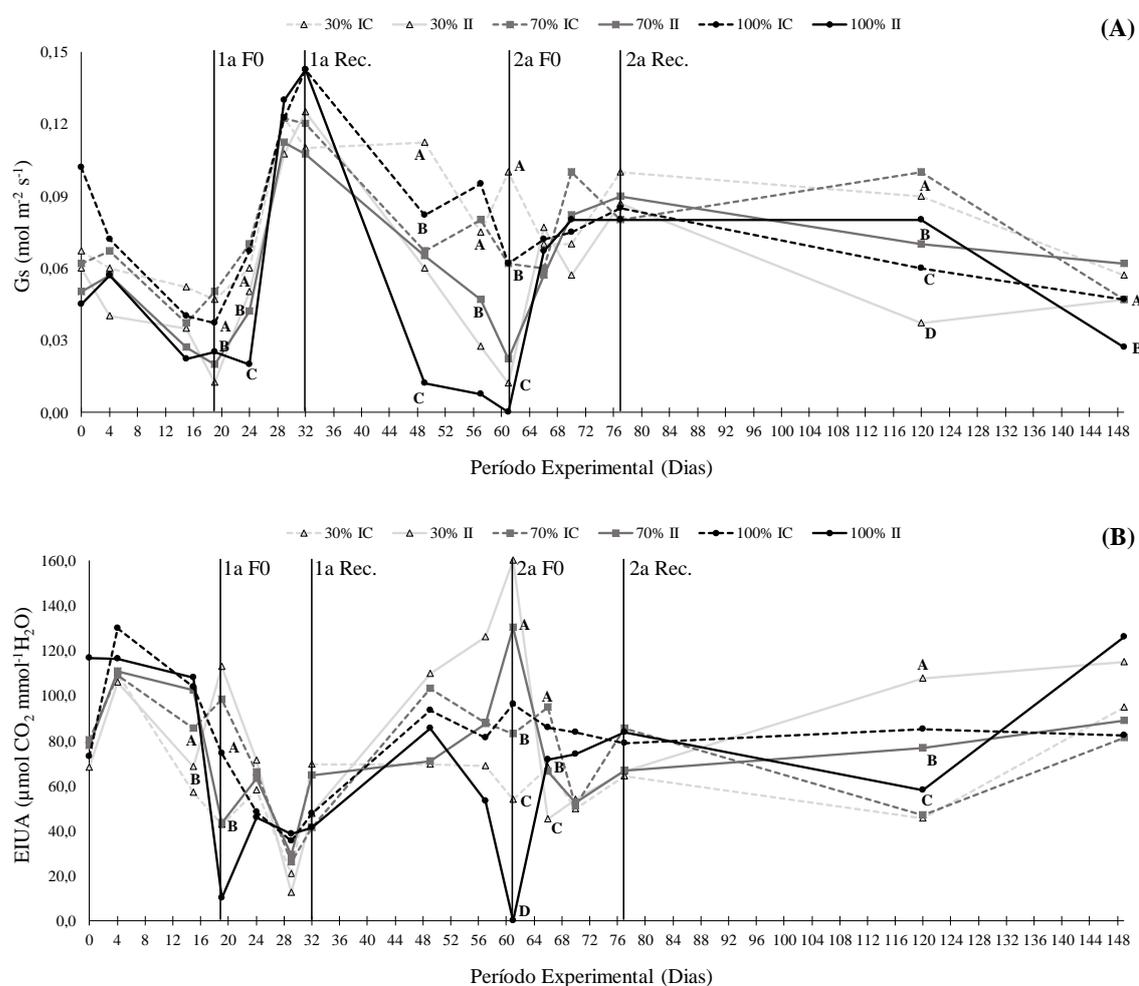


Figura 5. Condutância estomática – g_s (A) e eficiência intrínseca do uso da água – EIUA (B) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas diferentes entre si no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos avaliados (Scott Knott, $p < 0,05$).

Quanto a eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_o), plantas expostas a 100% de luminosidade, apresentaram de modo geral, menores valores para esta característica do que aquelas expostas a 30% e a 70% de luminosidade, especialmente quando comparadas na 2ª Fotossíntese Zero, sendo, também neste período de avaliação, registrado a diferença estatística entre mudas submetidas às diferentes condições de irrigação (Figura 6B). Para a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_o/F_M), o menor valor (0,11) foi observado na 2ª Fotossíntese Zero para plantas cultivadas a 30% de luminosidade e os maiores valores foram observados, de um modo geral, na condição de 100% de luminosidade (Figura 6C).

Para a atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD) nas folhas e raízes de *C. langsdorffii* (Figuras 7A e 7B), observa-se, primeiramente, que o seu efeito foi mais intenso nas folhas do que nas raízes, ressaltado inclusive pela diferença na escala de valores do eixo y. Nas folhas, os maiores resultados foram observados na 1ª Fotossíntese Zero e na 1ª Recuperação das mudas de irrigação intermitente, diferindo estatisticamente das mudas de irrigação contínua. Nestes mesmos períodos de avaliação foram também registrados os maiores valores de SOD das folhas, sendo que, a 100% de luminosidade a atividade desta enzima foi maior (Figura 7A).

Quanto a atividade de SOD nas raízes, uma pequena diferença foi observada nas mudas cultivadas a 70% de luminosidade, quando avaliadas na 2ª Fotossíntese Zero (Figura 7B). Por outro lado, a atividade enzimática de peroxidase (POD) foi mais expressiva nas raízes do que nas folhas (Figuras 8A e 8B). Durante a 2ª Fotossíntese Zero, os valores de POD tanto nas folhas quanto nas raízes para as mudas de irrigação intermitente a 100% de luminosidade foram estatisticamente superiores as das mudas irrigadas continuamente nas mesmas condições.

Para a área foliar, observou-se uma tendência no seu aumento ao longo do período experimental, entretanto, durante o intervalo das duas Fotossínteses Zero não foi constatada diferença significativa para esta característica (Figura 9A). Comportamento similar também foi observado para o índice de qualidade de Dickson (IQD) (Figura 9B) e para o número de folhas (Figura 9C), porém, para esta variável foi constatada diferença significativa para a irrigação. Quanto a clorofila (Figura 9D), os menores valores foram observados na condição de 100% de luminosidade, as demais condições não diferiram entre si.

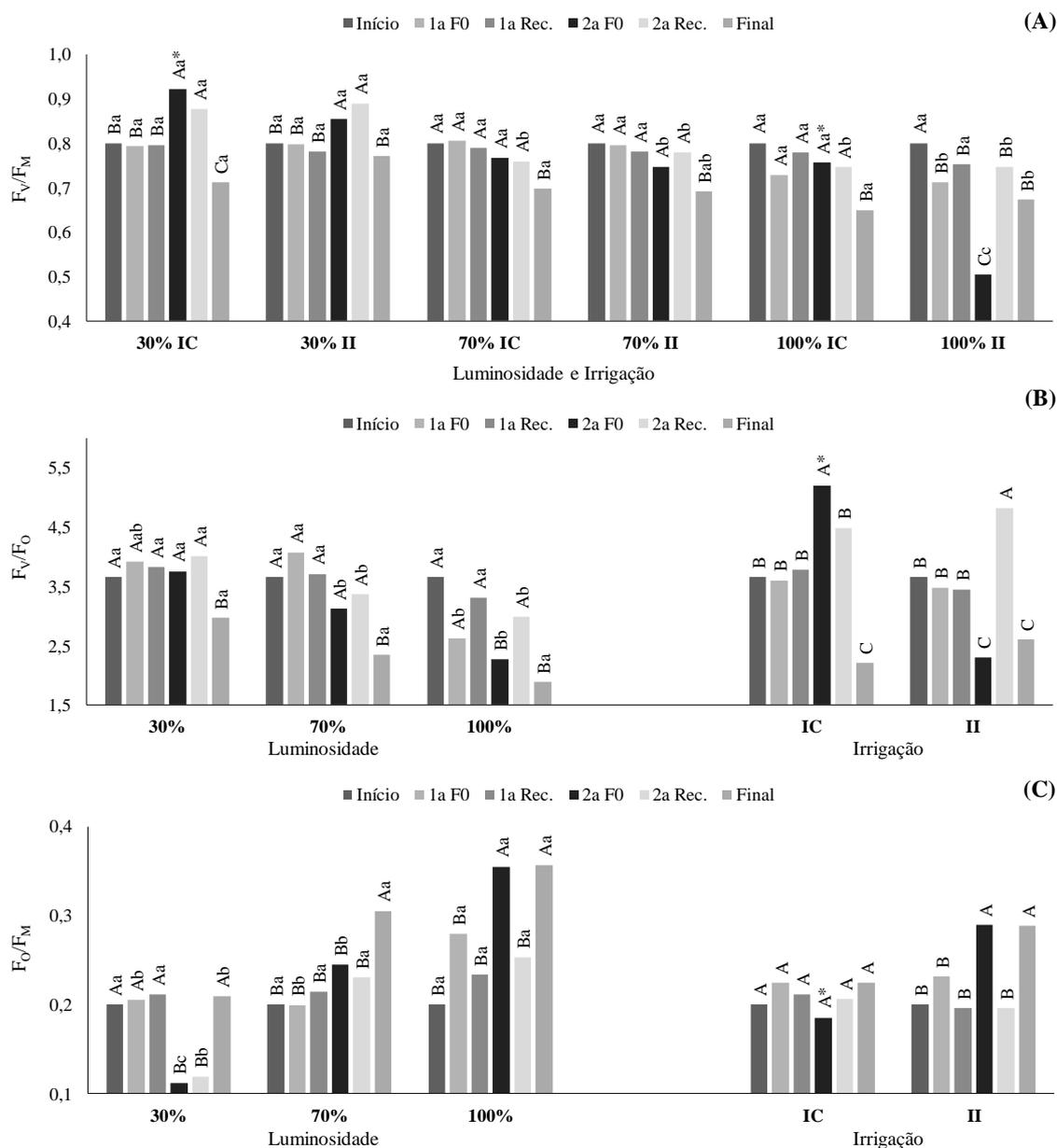


Figura 6. Eficiência quântica potencial do fotossistema II – F_v/F_M , **(A)**; eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II – F_v/F_0 **(B)** e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II – F_0/F_M **(C)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição luminosidade e irrigação. (Scott Knott, $p < 0,05$); letras minúsculas comparam as condições de luminosidade dentro do mesmo período de avaliação e irrigação (Tukey, $p < 0,05$) e asteriscos comparam as condições de irrigação dentro do mesmo período de avaliação e luminosidade (T de Bonferroni, $p < 0,05$).

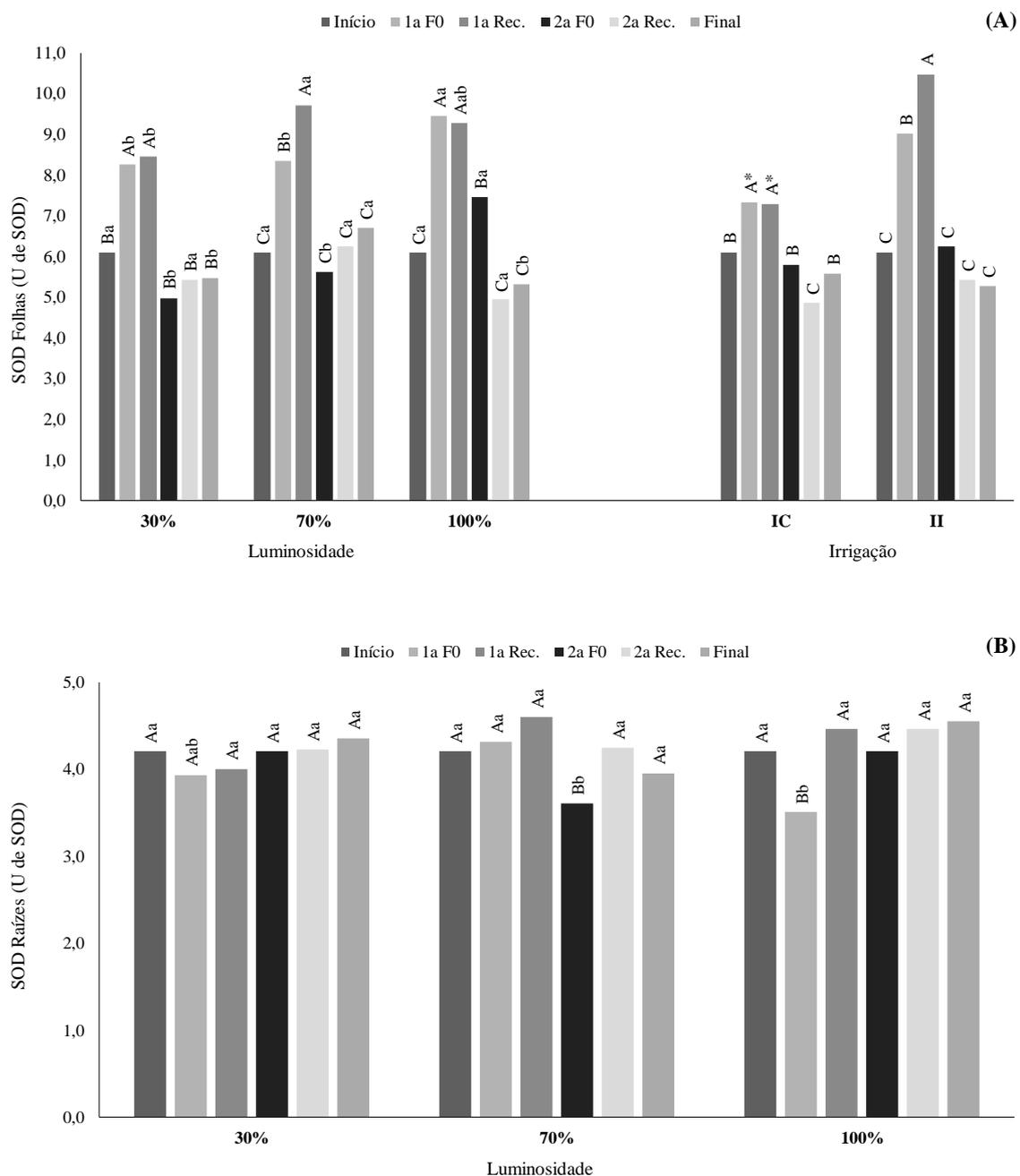


Figura 7. Atividade enzimática de superóxido dismutase nas folhas (SOD folhas) (A) e raízes (SOD raízes) (B) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição luminosidade ou irrigação. (Scott Knott, $p < 0,05$); letras minúsculas comparam as condições de luminosidade dentro do mesmo período de avaliação (Tukey, $p < 0,05$) e asteriscos comparam as condições de irrigação dentro do mesmo período de avaliação (T de Bonferroni, $p < 0,05$).

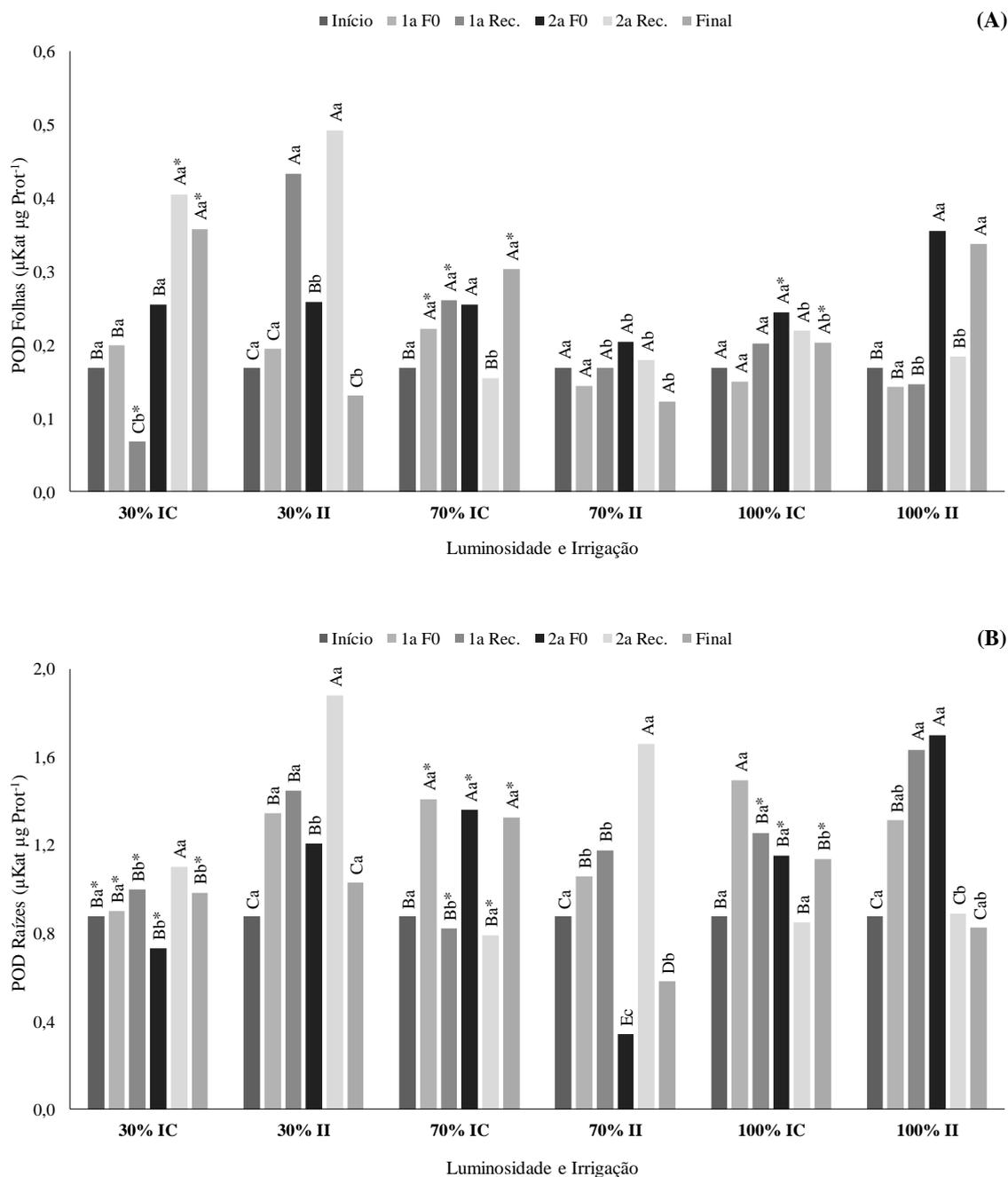


Figura 8. Atividade enzimática de peroxidase nas folhas (POD folhas) (A) e raízes (POD raízes) (B) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição luminosidade e irrigação. (Scott Knott, $p < 0,05$); letras minúsculas comparam as condições de luminosidade dentro do mesmo período de avaliação e irrigação (Tukey, $p < 0,05$) e asteriscos comparam as condições de irrigação dentro do mesmo período de avaliação e luminosidade (T de Bonferroni, $p < 0,05$).

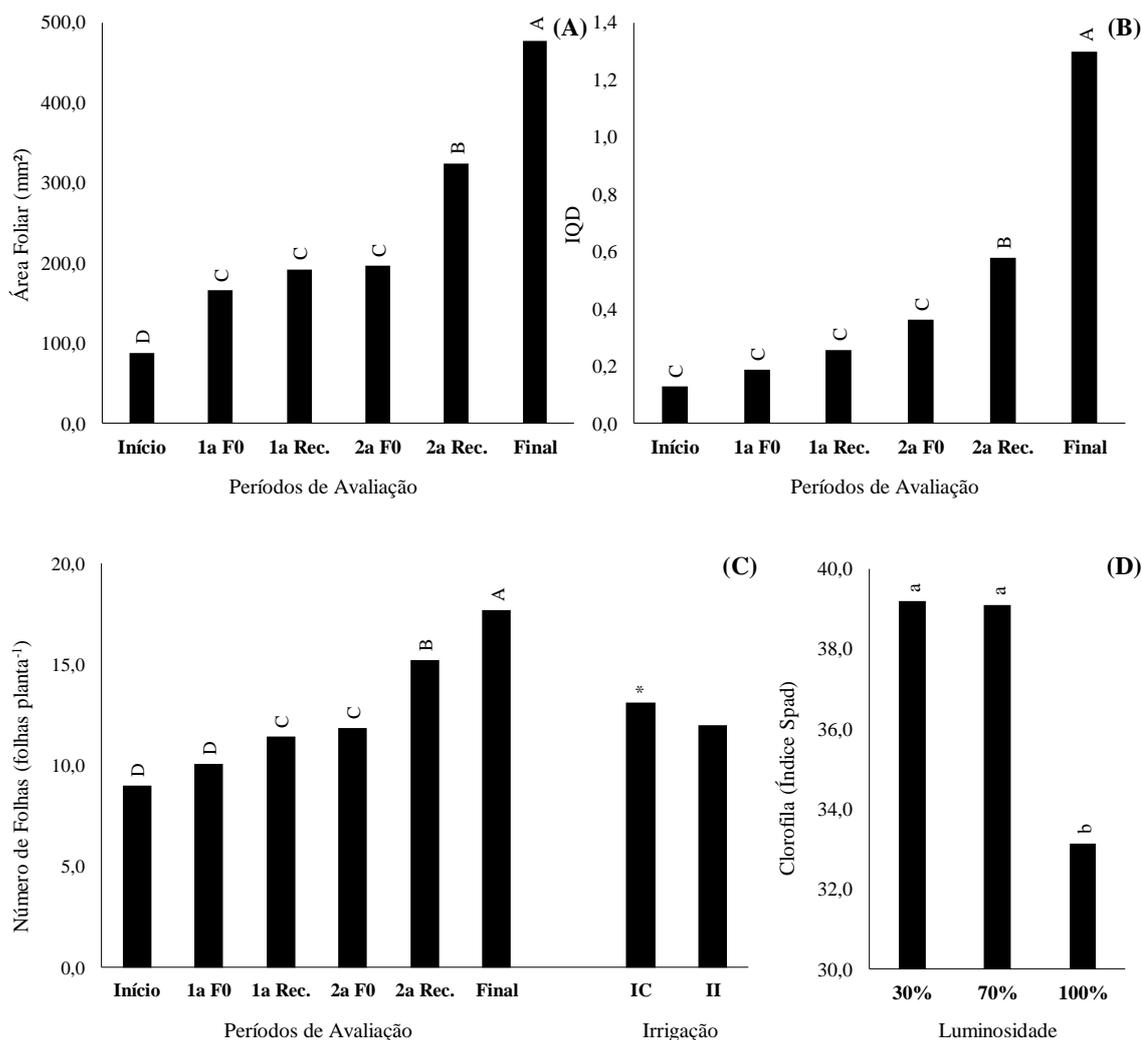


Figura 9. Área foliar – AF (A); índice de qualidade de Dickson – IQD (B); número de folhas (C) e clorofila (D) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade (30%, 70% e 100% de luz), da irrigação (IC = irrigação contínua; II = irrigação intermitente) e dos períodos de avaliação (Início; 1a F0 = 1ª Fotossíntese Zero; 1a Rec. = 1ª Recuperação; 2a F0 = 2ª Fotossíntese Zero; 2a Rec. = 2ª Recuperação; Final). Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação (Scott Knott, $p < 0,05$); letras minúsculas comparam as condições de luminosidade (Tukey, $p < 0,05$) e asteriscos comparam as condições de irrigação (T de Bonferroni, $p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Nas folhas das mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf., os menores valores para o potencial hídrico (Ψ_w) foram observados nas mudas de irrigação intermitente e submetidas a 100% de luminosidade (-2,83 MPa). Tais valores de Ψ_w são considerados críticos para o desenvolvimento de espécies lenhosas do Cerrado brasileiro, afetando diversos processos fisiológicos que vão desde a interrupção da expansão celular, a indução do fechamento estomático e a diminuição na fotossíntese, além de prejudicar

processos metabólicos básicos nas plantas, como a síntese e degradação de carboidratos e proteínas e a acumulação de solutos, o que pode comprometer o crescimento e a produtividade das espécies (KUMAR e SING; 1998; FRANCO et al., 2005).

Após os períodos de déficit hídrico aos quais as plantas foram submetidas, ou seja, os períodos de avaliação da 2ª Recuperação e do Final, observou-se que para mudas do tratamento de irrigação intermitente e expostas a 100% de luminosidade os valores do Ψ_w continuaram inferiores a -1,5 MPa, o que é considerado um limiar crítico para o desenvolvimento das plantas e que pode ter afetado negativamente a fotossíntese (Figura 3A) até o fim do período experimental (DA MATTA et al., 2007; BENTO et al., 2016).

Na medida em que os valores da condutância estomática decaíam nas mudas de *C. langsdorffii* irrigadas intermitentemente, também diminuía os valores da transpiração. Este tipo de resposta pode estar associado ao aumento na concentração de ácido abscísico (ABA) nos tecidos foliares, hormônio vegetal cuja síntese é aumentada em condições de déficit hídrico e é responsável pelo fechamento estomático e conseqüentemente a diminuição da perda de água por transpiração (TAIZ e ZEIGER, 2013). Essa resposta fica ainda mais evidente quando comparados os resultados de condutância estomática, transpiração e Ψ_w das folhas de *C. langsdorffii* irrigadas de modo intermitente e cultivadas a 100% de luminosidade. Nesta situação crítica, ficou visível a relação de causa e efeito que o déficit hídrico (comprovado pelo baixo potencial hídrico) ocasiona nas plantas ao desencadear a diminuição da condutância estomática e da transpiração (Figuras 2, 3B e 5A).

Por outro lado, o suprimento de água no sistema pode levar a diminuição dos valores de ABA, aumentando o seu catabolismo nos tecidos vasculares e nas células guarda dos estômatos, o que possibilita a retomada da transpiração, fato claramente observado quando as mudas de *C. langsdorffii* dos tratamentos de irrigação intermitente foram hidratadas após os períodos de 1ª e 2ª Fotossíntese Zero (Figuras 3B e 5A). Além disso, é interessante ressaltar que a recuperação do metabolismo fotossintético para as mudas de *C. langsdorffii* após a 1ª e a 2ª Fotossíntese Zero ocorreu somente após 13 e 16 dias, respectivamente, um período demorado quando comparado a outras espécies arbóreas submetidas a condições similares de estresse. Por exemplo, em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (JUNGLOS et al., 2016) e em *Hancornia speciosa* Gomes (SCALON et al., 2015) a recuperação do metabolismo fotossintético foi observada em aproximadamente 4 dias e para *Khaya ivorensis* A. Chev. (ALBUQUERQUE et al., 2013) e *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg

(BENTO et al., 2016) em 7 dias, ou seja, o tempo médio de recuperação dos parâmetros fotossintéticos da *C. langsdorffii* varia entre o dobro e o triplo do relatado para estas espécies.

Neste estudo, a redução nos valores da fotossíntese (Figura 3A) nas mudas irrigadas intermitentemente parece estar mais relacionada a condutância estomática e concentração interna de carbono (Figura 4A) do que aos possíveis danos no aparato fotossintético. Ao se analisar a eficiência na carboxilação da Rubisco (A/C_i) na 1ª e 2ª Fotossíntese Zero das mudas de irrigação intermitente e expostas a 100% de luminosidade, observa-se que os valores foram mínimos e estatisticamente diferentes dos demais tratamentos, indicando que o déficit hídrico comprometeu a atividade desta enzima, mas, com o aporte de água, este parâmetro se recuperou e não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos na 1ª e 2ª Recuperação (Figura 4B). Esta situação de recuperação dos valores de A/C_i contraria a teoria de que valores muito baixos desta relação decorrem dos danos ao aparato fotossintético (FLEXAS et al., 2006; XU et al., 2009), entretanto, quando conjugada esta informação com a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m – Figura 7A) das mudas sujeitas a este mesmo tratamento (de irrigação intermitente e com 100% de luminosidade), evidencia-se que houve dano fotoinibitório aos centros de reação do fotossistema II na 2ª Fotossíntese Zero.

Quando os centros de reação do fotossistema II estão intactos, os valores de referência para a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) variam de 0,75 a 0,85 (BAKER e ROSENQVST, 2004) e, valores muito abaixo desta margem, tal como o observado na 2ª Fotossíntese Zero para mudas de irrigação intermitente e expostas a 100% de luminosidade (0,50) indicam que os baixos valores de fotossíntese também estão relacionados aos danos causados no aparato fotossintético e não apenas ligados a condutância estomática e, conseqüentemente, a concentração interna de CO_2 .

Esta situação é reforçada quando observada a eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_o – Figura 7B). Tal relação é utilizada para amplificar as pequenas variações detectadas na relação F_v/F_m já que é um indicador mais preciso às mudanças de funcionalidade do fotossistema II e seus valores de referência estão situados entre 4 e 6 para a maioria das espécies vegetais (ROHÁCEK, 2002; REIS e CAMPOSTRINI, 2011). Neste estudo, quando avaliada a 2ª Fotossíntese Zero, o valor para esta característica foi de 2,26 nas mudas cultivadas a 100% de luminosidade e de 2,30 nas mudas irrigadas de modo intermitente, valores muito baixos que corroboram o fato de que as mudas de *C. langsdorffii* sofreram danos no aparato fotossintético, já que

a situação se manteve quando estas mudas foram avaliadas no período Final. Quanto a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_0/F_M – Figura 7C), os valores médios de referência compreendem entre 0,14 e 0,20 e, o aumento desta relação é considerado um indicativo de estresse (ROHÁCEK, 2002). Para as mudas de *C. langsdorffii*, aumentos desta relação foram também observadas na avaliação da 2ª Fotossíntese Zero em mudas cultivadas a 100% de luminosidade e naquelas que foram submetidas ao tratamento de irrigação intermitente. Esse mesmo comportamento foi observado quando avaliadas, nas mesmas condições, ao Final do período experimental, sugerindo mais uma vez a ocorrência de danos ao aparato fotossintético destas plantas.

Quanto a atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) nos tecidos foliares e radiculares das *C. langsdorffii* (Figuras 7A e 7B), observa-se primeiramente que os valores foram mais expressivos nas folhas do que nas raízes, indicando que a maior atividade naqueles órgãos destas plantas decorre, provavelmente, do fato desta enzima exercer em diferentes lugares das plantas funções distintas, implicando em maior proteção contra os estresses ambientais (OLIVEIRA et al., 2008; TAIZ e ZEIGER, 2013). Para a SOD das folhas (Figura 7A) nas mudas cultivadas a 70% de luminosidade e naquelas que foram irrigadas de modo intermitente, os valores foram maiores na 1ª Recuperação, diferindo estatisticamente do período de avaliação que o antecedeu (1ª Fotossíntese Zero). Já para as mudas cultivadas a 30% e a 100% de luminosidade, os valores foram máximos durante a 1ª Fotossíntese Zero e a 1ª Recuperação. Tal situação indica que as mudas de *C. langsdorffii*, ao serem submetidas por uma condição de intenso déficit hídrico, estimularam a produção desta enzima com o objetivo de combater as chamadas espécies reativas do oxigênio (ROS) oriundas do estresse oxidativo e seus efeitos foram prolongados ao longo do tempo, se estendendo para além do período crítico (1ª Fotossíntese Zero), atingindo a 1ª Recuperação.

Oposto ao ocorrido com os valores de superóxido dismutase, para a peroxidase (POD), os valores e consequentemente a atividade enzimática foi mais intensa nas raízes do que nas folhas de *C. langsdorffii* (Figuras 8A e 8B). Nas raízes, a elevação nos valores quando da 1ª Recuperação e da 2ª Fotossíntese Zero das mudas de irrigação intermitente e expostas a 100% de luminosidade é um indicativo de que, naquele momento a POD poderia mitigar os danos oxidativos causados pelo déficit hídrico, entretanto, tal situação não se manteve constante, para estas condições, até a avaliação Final (Figura 8B). Picos na atividade desta enzima também foram observados, durante a 2ª Recuperação, nas mudas irrigadas de modo intermitente e cultivadas a 30% e a 70%

de luminosidade, indicando também, para estas condições, aumento na atividade enzimática mitigando possíveis danos oxidativos após um período estresse hídrico (2ª Fotossíntese Zero).

Sabe-se que a superóxido dismutase e a peroxidase são enzimas que atuam como agentes antioxidativos no interior dos tecidos vegetais, com o objetivo de combater diversos radicais livres, as conhecidas espécies reativas ao oxigênio (ROS). As ROS, normalmente são produzidas em situações de estresse ambiental, como por exemplo o déficit hídrico. Provavelmente, neste estudo, o déficit hídrico associado a luminosidade foram responsáveis por causarem alguma desordem oxidativa nas mudas de *C. langsdorffii*, perturbando o redox celular, e conseqüentemente elevando a produção das espécies reativas de oxigênio, que são altamente citotóxicas e podem dar origem a danos nas proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, causando, por exemplo, a peroxidação das membranas e a perda de íons (SCHÜTZENDÜBEL e POLLE, 2002; GUO et al., 2007; OLIVEIRA et al. 2008; POMPELLI et al., 2010).

Tanto para a área foliar, quanto para o índice de qualidade de Dickson (IQD) e o número de folhas (Figuras 9A, 9B e 9C) observa-se que, somente após a 2ª Recuperação houve um aumento mais expressivo destas características. Apesar do comportamento linear de crescimento da área foliar, do IQD e do número de folhas ser um padrão esperado para as espécies arbóreas ao longo do tempo/período de avaliação, o seu aumento não foi tão pronunciado até a 2ª Recuperação justamente porque parte das mudas, até aquele momento, estavam limitadas pelo déficit hídrico. Esta limitação pelo déficit hídrico fica mais evidente entre a 1ª e a 2ª Fotossíntese Zero, principalmente para as variáveis área foliar e o IQD, que não diferiram estatisticamente durante estes períodos de avaliação (Figura 9A e 9B). Sabe-se que as plantas em condições de déficit hídrico, para garantirem a sobrevivência via manutenção dos processos metabólicos básicos, redistribuem os seus produtos da fotossíntese, deixando de destiná-los, por exemplo, para a formação e crescimento de folhas, brotos e até mesmo o aumento de área foliar (OLIVEIRA e JOLY, 2010; ARAÚJO et al., 2014).

Quanto aos teores de clorofila, observou-se que as mudas de *C. langsdorffii* expostas a 100% de luminosidade apresentaram, estatisticamente menores valores que as cultivadas a 30% e a 70% de luminosidade. Maiores valores de clorofila em ambientes mais sombreados podem decorrer de um efeito compensatório que a espécie apresenta quando cultivada sob menor disponibilidade luminosa. Resultados semelhantes a este, também foram observados em *Eugenia uniflora* L. (MARTINAZZO et al., 2007),

Cryptocarya aschersoniana Mez (ALMEIDA et al., 2004) e em *Bombacopsis glabra* (Pasq.) Robyns (SCALON et al., 2002), para estas três espécies, os valores de clorofila decaíram quando as plantas foram cultivadas a pleno sol, sugerindo que plantas cultivadas sob baixas intensidades de luz apresentam maiores teores de clorofila por unidade de peso.

CONCLUSÃO

Mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas ao déficit hídrico intermitente e cultivadas a 100% de luminosidade apresentam perda na capacidade de recuperação do metabolismo fotossintético.

Mudas cultivadas a 30% e a 70% de luminosidade e submetidas ao déficit hídrico apresentam, de um modo geral, melhor capacidade de recuperação de suas trocas gasosas, não sendo observadas, nestas condições, alterações e/ou danos significativos a eficiência do fotossistema II.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 à déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 9-6, 2013.

ALMEIDA, L. P.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; ZANELA, S. M.; VIEIRA, C. V. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 83-88, 2004.

ARAÚJO, E. C.; COSTA, R. S.; LOPES, E. C.; DAHER, R. F.; FERNANDES, M. E. B. Qualidade das mudas de espécies arbóreas de mangue cultivadas em viveiros e diferentes substratos. **Acta Ambiental Catarinense**, v. 11, n. 1, p. 21-32, 2014.

ASHARAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 1, p. 163-190, 2013.

AZEVEDO, G. T. O. S.; NOVAES, A. B.; AZEVEDO, G. B.; SILVA, H. F. Desenvolvimento de mudas de nim indiano sob diferentes níveis de sombreamento. **Floram – Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 2, p. 249-255, 2015.

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

BENTO, L. F.; SCALON, S. P. Q.; DRESCH, D. M.; PEREIRA, Z. V. Potential of recovery of *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg seedlings from water deficit. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 30, p. 2775-2785, 2016.

BROETTO, F. **Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas**. São Paulo: UNESP, 2014.

CALDATO, S. L.; SCHUMACHER, M. V. O uso de água pelas plantações florestais – uma revisão. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 3, p. 507-516, 2013.

CAMPELLO, 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, p. 973-983, 2015.

DA MATTA, F. M.; RONCHI, C. P.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 4, p. 485-510, 2007.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; SANTANA, R. C. Parâmetros fisiológicos de mudas de copaíba sob diferentes substratos e condições de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1212-1218, 2012.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas** (Statistical Analysis Software) e planejamento de Experimentos – SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

FLEXAS, J.; BARBOUR, M. M.; BRENDEL, O.; CABRERA, H. M.; CARRIQUÍ, M.; DÍAZ-ESPEJO, A.; DOUTHE, C.; DREYER, E.; FERRIO, J. P.; GAGO, J. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. **Plant Science**, v. 193, n. 1, p. 70-84, 2012.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. **New Phytologist**, v. 172, n. 1, p. 73-82, 2006.

FRANCO, A. C.; BUSTAMANTE, M.; CALDAS, L. S.; GOLDSTEIN, G.; MEINZER, F. C.; KOZOVITS, A. R.; RUNDEL, P.; CORANDIN, V. T. R. Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. **Trees**, v. 19, n. 1, p. 326-335, 2005.

GUO, T. R.; ZHANG, G. P.; ZHANG, Y. H. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. **Colloids and Surfaces: Biointerfaces**, v. 57, n. 2, p. 182-188, 2007.

JUNGLOS, F. S.; JUNGLOS, M. S.; DRESCH, D. M.; PEREIRA, N. S.; KODAMA, F. M.; SCALON, S. P. Q. Recovery of the photosynthetic capacity of *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) after water deficit. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 541-546, 2016.

KUMAR, A.; SINGH, D. P. Use of physiological indices as a screening technique for drought to tolerance in oilseed *Brassica* species. **Annals of Botany**, v. 81, n. 3, p. 413-420, 1998.

MARTINAZZO, E. G.; ANESE, S.; WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. Efeito do sombreamento no crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn (Pitanga) – Família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 162-164, 2007.

OLIVEIRA, J. E. Z.; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. Caracterização isozimática e atividade de peroxidase em folhas de plantas hiperídrica, intermediária e normal de *Bidens pilosa* L. mantidas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 32-36, 2008.

OLIVEIRA, V. C.; JOLY, C. A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth responses. **Trees**, v. 24, n. 1, p. 185-193, 2010.

POMPELLI, M. F.; BARATA-LUÍS, R.; VITORINO, H. S.; GONÇALVES, E. R.; ROLIM, E. V.; SANTOS, M. G.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; FERREIRA, V. M.; LEMOS, E. E.; ENDRES, L. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, n. 8, p. 1207-1215, 2010.

REIS, F. O.; CAMPOSTRINI, E. Microaspersão de água sobre a copa: um estudo relacionado às trocas gasosas e à eficiência fotoquímica em plantas de mamoeiro. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 17, n. 1, p. 284-295, 2011.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, v. 40, n. 1, p. 13-29, 2002.

SANTANA, D. G.; LOBO, G. A.; SALOMÃO, A. N.; PEREIRA, V. J. Robustness of germination analysis methods for *Copaifera langsdorffii* Desf. (*Fabaceae*) seeds. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 1, p. 160-171, 2016.

SAPETA, H.; COSTA, J. M.; LOURENCO, T.; MAROCO, J.; VAN DER LINDE, P.; OLIVEIRA, M. M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, n. 1, p. 76-84, 2013.

SCALON, S. P. Q.; KODAMA, F. M.; DRESCH, D. M.; MUSSURY, R. M.; PEREIRA, Z. V. Gas exchange and photosynthetic activity in *Hancornia speciosa* Gomes seedlings under water deficit conditions and during rehydration. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 1, p. 1124-1132, 2015.

SCALON, S. P. Q; FILHO, H. S.; RIGONI, M. R.; VERALDO, F. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2002.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 52, n. 1, p. 119-125, 1964.

SCHÜTZENDÜBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 1, p. 1351- 1365, 2002.

SOBANSKI, N.; MARQUES, C. M. M. Effects of soil characteristics and exotic grass cover on the forest restoration of the Atlantic Forest. **Journal for Nature Conservation**, v. 22, n. 1, p. 217–222, 2014.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; AMORIM NETO, M. S. Recuperação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by predrought following rewatering in grass? **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 13, p. 37-49, 2009.

CAPÍTULO II

TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. APÓS ALAGAMENTO

RESUMO – Poucas são as informações acerca da capacidade de recuperação ao alagamento de arbóreas nativas, principalmente quando o foco é a sua utilização em programas de restauração de áreas degradadas próximas aos cursos de água, sujeitas a inundações. Objetivou-se avaliar a recuperação da eficiência funcional do aparato fotossintético e a atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. alagadas por diferentes períodos. As mudas foram alagadas por 0, 21, 42, 63 e 84 dias e depois de retiradas da condição de alagamento, foram avaliados a cada trinta dias (0, 30, 60, 90 e 120 dias). Observou-se que as mudas de *C. langsdorffii* suportam o alagamento por até 42 dias, recuperando, após a suspensão do alagamento, todas as características avaliadas, alcançando valores similares ou superiores aos das mudas não alagadas. Mudas alagadas por 63 e 84 dias apresentaram menor capacidade de recuperação após o alagamento e, nestas condições, foram observados menor eficiência do aparato fotossintético, de trocas gasosas, de produção de fotoassimilados e de qualidade das mudas.

Palavras-chave: Estresse hídrico, fotossíntese, fluorescência da clorofila *a*, enzimas antioxidantes.

ABSTRACT – There is little information about the ability of native trees to recover from flooding, especially when the focus is on recovery programs for degraded areas close to flooded watercourses. It was aimed evaluate the recovery of functional efficiency of the photosynthetic apparatus and the antioxidant activity of *Copaifera langsdorffii* Desf. flooded for different periods. The seedlings were flooded at 0, 21, 42, 63 and 84 days and after removal from the flooding condition they were evaluated every 30 days (0, 30, 60, 90 and 120 days). It was observed that the seedlings of *C. langsdorffii* support flooding for up 42 days, recovering, after suspension of flooding, all characteristics evaluated, reaching values similar or superior to those of non-flooded seedlings. Seedlings flooded for 63 and 84 days showed lower recovery capacity after flooding and, under these conditions, were observed less efficiency of the photosynthetic apparatus, gas exchange, photoassimilates production and seedling quality.

Keywords: Water stress, photosynthesis, chlorophyll *a* fluorescence, antioxidant enzymes.

INTRODUÇÃO

As matas ciliares compreendem as áreas cobertas por florestas que estão situadas nas beiras dos rios ou córregos e cuja preservação é de suma importância para a manutenção da integridade ecológica e hidrológica dos cursos de água. Além disso, estas formações florestais exercem grande influência na qualidade da água e na estabilização da fauna e flora associadas a este tipo de ecossistema. Entretanto, por serem largamente exploradas e degradadas pela ação antrópica, dada a sua facilidade de acesso, tornam-se cada vez mais necessários a implementação de ações que visem a sua preservação ou recuperação (LOPES e SCHIAVINI, 2007; FONTES e WALTER, 2011).

Quando dos procedimentos de recuperação e revegetação de matas ciliares, uma das informações mais relevantes que se deve ter em mente é a capacidade das mudas suportarem o alagamento e qual o seu potencial de recuperação pós-estresse. Portanto, a utilização de espécies tolerantes as inundações sazonais, provocadas pelo aumento do nível do lençol freático nos períodos mais chuvosos do ano, é fator determinante para o sucesso das ações de recuperação deste tipo de ecossistema. Apesar de diversas variáveis serem utilizadas para mensurar a capacidade da planta suportar e/ou tolerar uma condição de estresse por alagamento, a maioria dos trabalhos de revegetação em áreas passíveis de inundação são pautados nos levantamentos botânicos, sendo ainda na atualidade, pouco exploradas as correlações existentes entre o estresse e as respostas fisiológicas e metabólicas que as plantas apresentam (FERREIRA et al., 2009; LACERDA et al., 2010; LIRA et al., 2013).

As plantas quando submetidas ao alagamento podem responder de modo diverso a esta situação, a depender da sua intensidade e duração, porém algumas estratégias de adaptação são conhecidas, como é o caso das alterações nas relações das trocas gasosas, tais como o aumento da condutância estomática, a redução na fotossíntese, as mudanças na taxa de transpiração e as alterações na eficiência do uso da água que podem permanecer mesmo com o fim da condição estressante. Além disso, destacam-se também as alterações no aparato fotossintético e nos mecanismos de proteção associados a atividade das enzimas antioxidantes (PAREEK et al., 2010; POMPELLI et al., 2010; CAMPELO et al., 2015; OLIVEIRA e GUALTIERI, 2016).

Mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf., popularmente conhecida por copaíba ou pau-óleo, foram objeto de estudo neste trabalho e, mesmo esta espécie possuindo ocorrência natural nas matas de galeria do Cerrado brasileiro, pouco se sabe sobre a sua capacidade de recuperação ao alagamento principalmente quando o foco é o seu estabelecimento e utilização em programas de recuperação de áreas degradadas próximas aos cursos de água, logo, sujeitas a inundações. Portanto, objetivou-se nesta pesquisa avaliar ao longo do tempo a recuperação da eficiência do aparato fotossintético e da atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. alagadas por diferentes períodos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no viveiro de plantas da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no município de Dourados – MS, durante os meses de novembro de 2015 a maio de 2016. Foram utilizadas mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. com 90 dias após a emergência. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 5 x 5, sendo 5 períodos de alagamento (0, 21, 42, 63 e 84 dias) e 5 tempos de recuperação (0, 30, 60, 90 e 120 dias) com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso com duas mudas cada.

Para simular o alagamento, os vasos com as mudas foram acomodados em tanque plástico e submersos com lâmina d'água a uma altura de 2,0 cm do nível do substrato durante 0, 21, 42, 63 e 84 dias. Após cada período, as mudas foram retiradas da condição de alagamento e avaliados a cada trinta dias (0, 30, 60, 90 e 120 dias). Durante o tempo de recuperação, o controle da irrigação foi individualizado utilizando o método gravimétrico, de modo que a cada dois dias as mudas eram irrigadas com a quantidade de água suficiente para atingir 75% da capacidade de retenção de água do sistema (SOUZA et al., 2000).

O substrato utilizado para o preenchimento dos vasos com capacidade para 6 litros consistiu em uma mistura, em volumes iguais de Bioplant[®], vermiculita e Latossolo Vermelho distroférico (1:1:1 v/v). O experimento de alagamento e recuperação foram conduzidos em viveiro sob sombreamento de 30%.

As mudas foram avaliadas quanto ao potencial hídrico das folhas (Ψ_w) obtido a partir de leituras realizadas em folhas individuais pertencentes ao segundo par de folhas

totalmente expandidas do ápice para a base, entre 10 e 11 horas da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander modelo 3115 Portable PWSC (ICT-International, Armindale, NSW), imediatamente após a coleta das folhas (SCHOLANDER et al., 1964); o índice de clorofila com auxílio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Konica-Minolta, Tokyo, Japan); a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m), eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_o) e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_o/F_m) obtidas a partir de dados de fluorescência da clorofila *a* mensurados com o auxílio do fluorímetro portátil modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA); as taxas fotossintética (A) e transpiratória (E); condutância estomática (gs); concentração interna de CO₂ (C_i); e as relações como eficiência do uso da água – EUA (A/E); eficiência da carboxilação da rubisco (A/C_i) e eficiência intrínseca do uso da água – EIUA (A/gs) utilizando-se o analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca

ADC, modelo LCi PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK). As avaliações foram realizadas em quatro mudas por tratamento no período da manhã, entre 8 e 11 horas da manhã, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas, de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas.

Foram avaliados também o número de folhas; a área foliar com o integrador de área foliar LI-COR[®] modelo LI 3100; o índice de qualidade de Dickson (IQD) (DICKSON et al., 1960) e, por fim, a atividade das enzimas antioxidativas superóxido dismutase e peroxidase nos tecidos vegetais das folhas e raízes, segundo a metodologia descrita por Broetto (2014).

Dados de temperatura e umidade relativa durante o período experimental foram obtidos da Estação Meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados – MS (Figura 1). Para análise dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos a 5% pelo teste F, foram ajustados por equações de regressão.

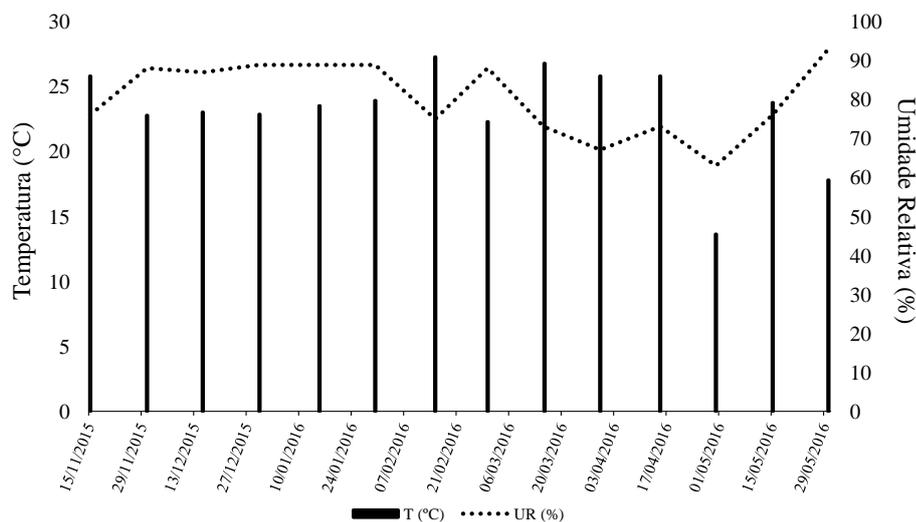


Figura 1. Temperatura e umidade relativa médias durante o período de condução experimental. Dourados-MS, UFGD, 2017.

RESULTADOS

Houve interação significativa ($p < 0,05$) do período de alagamento e do tempo de recuperação para todas as características, exceto para o potencial hídrico das folhas (Ψ_w) que apresentou efeito isolado ($p < 0,05$) para o período de alagamento e o tempo de recuperação. O potencial hídrico das folhas apresentou valor mínimo de $-1,68$ MPa aos 39,4 dias de alagamento e de $-2,00$ MPa aos 67,2 dias de recuperação (Figura 2A e 2B).

A taxa fotossintética (A) (Figura 3A) manteve-se crescente para as mudas submetidas ao alagamento por até 42 dias apresentando valor máximo aos 120 dias de recuperação ($4,23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Por outro lado, mudas submetidas ao alagamento por 63 e 84 dias, apresentaram taxas fotossintéticas decrescentes ao longo das avaliações. Comportamento similar também foi observado para a transpiração (Figura 3B), sendo que as mudas submetidas ao alagamento por 63 e 84 dias tiveram valores decrescentes e aquelas cuja permanência nas condições de alagamento foram de 0, 21 e 42 dias apresentaram valores crescentes para esta variável.

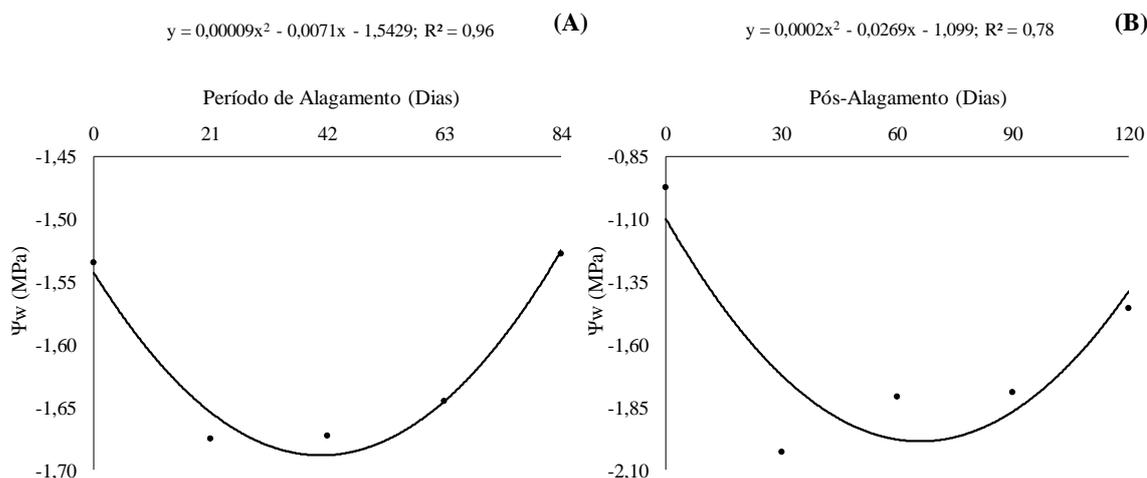


Figura 2. Potencial hídrico (Ψ_w) das folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do período de alagamento (A) e do tempo de recuperação (B). Dourados-MS, UFGD, 2017.

Quanto a eficiência do uso da água (EUA), as mudas submetidas a 42 dias de alagamento também apresentaram valores crescentes, com maior valor aos 120 dias de recuperação ($2,10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) (Figura 3C). Mudas submetidas a 63 dias de alagamento apresentaram os piores valores de EUA a partir dos 30 dias de recuperação quando comparadas às mudas submetidas aos demais períodos de alagamento.

Os valores de concentração interna de CO_2 (C_i) das mudas submetidas ao alagamento por 63 e 84 dias foram superiores aos das mudas alagadas por menor período quando avaliadas aos 120 dias e, de um modo geral, os menores valores foram observados na condição de 42 dias de alagamento durante todas as avaliações (Figura 4A). A eficiência de carboxilação da rubisco – A/C_i (Figura 4B) foi crescente, durante todo o período de recuperação, para as mudas alagadas por 42 dias e o maior valor foi observado aos 120 dias ($0,014 \mu\text{mol m}^{-1}\text{s}^{-1} \mu\text{mol mol}^{-1}$). Por outro lado, nas mudas expostas ao alagamento por 63 e 84 dias os valores foram decrescentes durante todo o tempo de recuperação.

Valores crescentes de condutância estomática (gs) (Figura 4C) foram observados durante todo o período de recuperação nas mudas não alagadas (0 dias) e nas alagadas por 42 dias e para as demais condições, os valores foram decrescentes a partir dos 60 dias de recuperação. De um modo geral, os valores da eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) foram superiores, durante todo o tempo de recuperação, para as mudas submetidas ao alagamento por 42 dias. Mudas alagadas por 63 dias apresentaram os menores valores para esta variável a partir dos 90 dias de recuperação (Figura 4D).

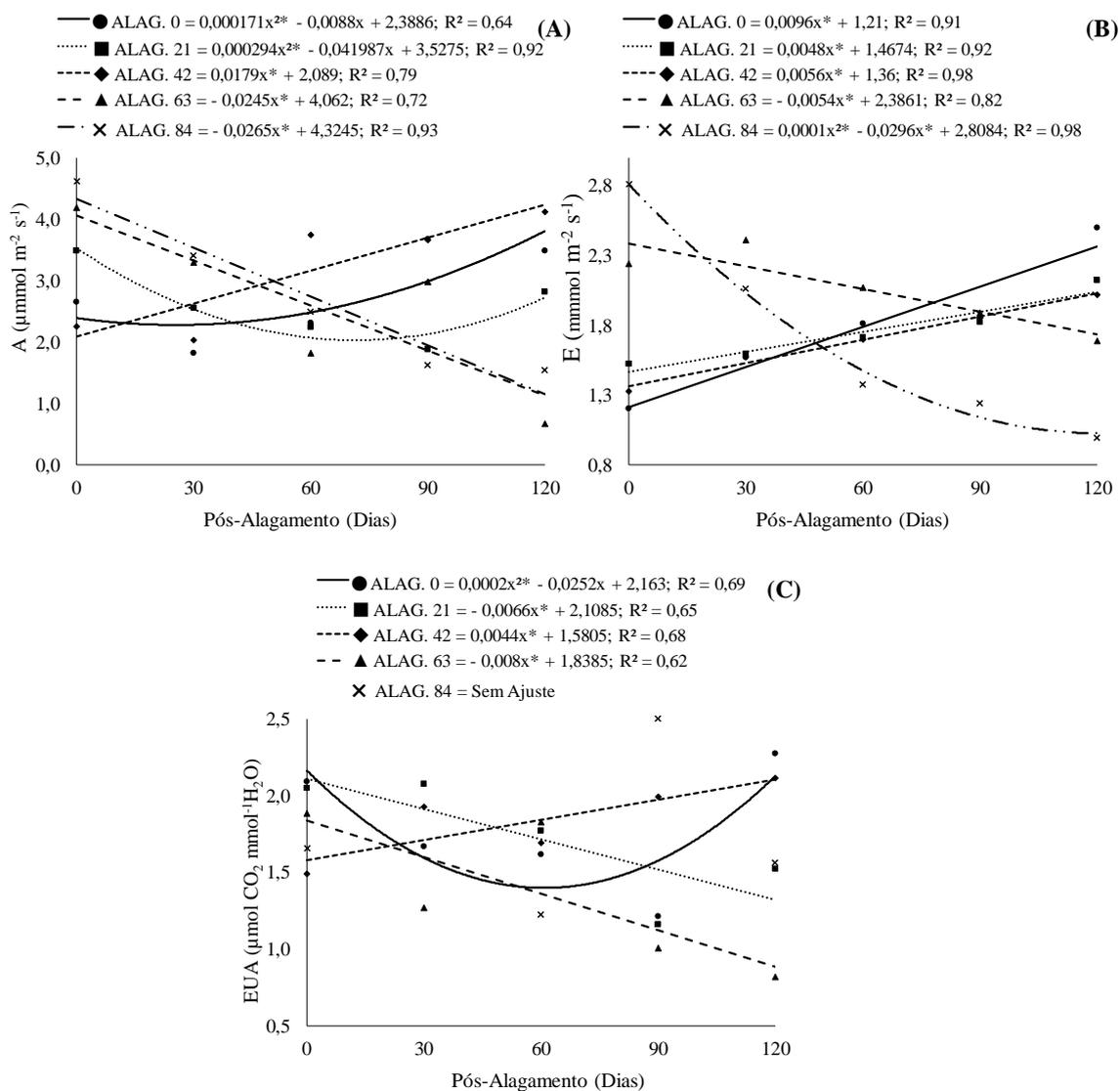


Figura 3. Taxa fotossintética – A (A); transpiração – E (B) e eficiência do uso da água – EUA (C) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do período de alagamento e do tempo de recuperação. Dourados-MS, UFGD, 2017.

Para as características relacionadas a fluorescência da clorofila *a* (Figura 5), observa-se um comportamento muito similar entre as mudas submetidas a condição de alagamento por 42 dias e aquelas que não foram alagadas e, entre aquelas mudas submetidas ao alagamento por 63 e 84 dias, sendo que, tanto para F_v/F_M (Figura 5A), quanto para F_v/F_0 (Figura 5B) e F_0/F_M (Figura 5C) a diferença entre os dois grupos (alagadas por 0 e 42 dias e alagadas por 63 e 84 dias) aumentou gradativamente após 60 dias de recuperação ao alagamento. Aos 120 dias de recuperação, os valores calculados de F_v/F_M , F_v/F_0 e F_0/F_M para as mudas de *C. langsdorffii* alagadas por 42 dias foram de 0,71; 2,47 e 0,32, respectivamente; muito próximos dos calculados para as mudas que não foram alagadas (0,71; 2,41 e 0,29, respectivamente).

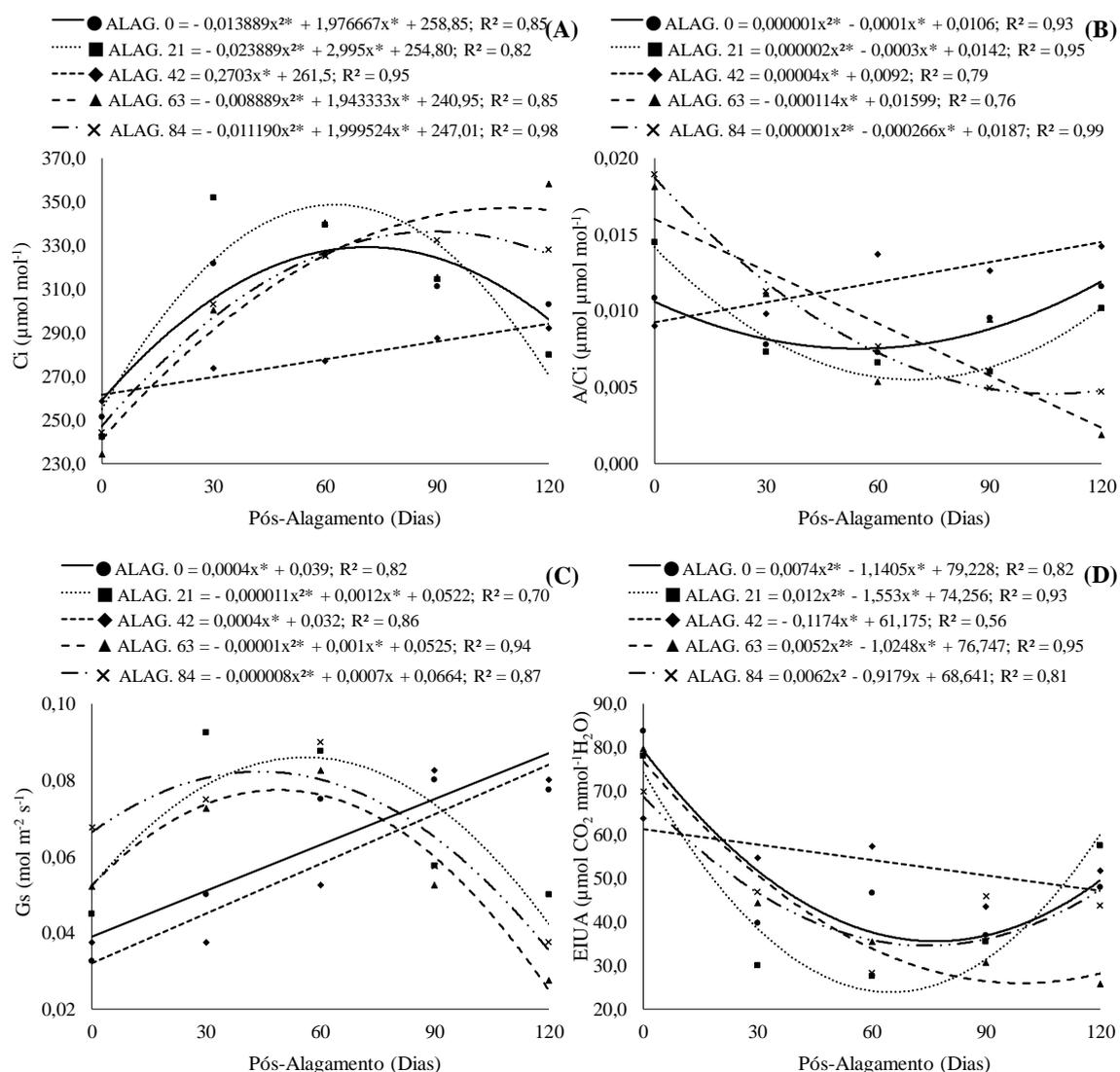


Figura 4. Concentração interna de CO_2 – C_i (A); eficiência da carboxilação da rubisco – A/C_i (B); condutância estomática – g_s (C) e eficiência intrínseca do uso da água – EIU (D) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do período de alagamento e do tempo de recuperação. Dourados-MS, UFGD, 2017.

Quanto a atividade da enzima superóxido dismutase nas folhas de *C. langsdorffii* (SOD folhas), observa-se que os valores foram superiores nas mudas alagadas por 42 e 63 dias após a retirada do alagamento e aos 30 dias de recuperação, e posteriormente decaíram ao longo dos 120 dias. Por outro lado, para as mudas submetidas a condição de 84 dias de alagamento, a atividade da SOD nas folhas manteve-se inalterada com o decorrer das avaliações após o alagamento (Figura 6A). Comportamento similar, com menor magnitude, foi registrado na atividade de superóxido dismutase nas raízes (SOD raízes). Mudas alagadas por 42 dias também mantiveram elevados os valores desta enzima nas raízes até, aproximadamente 30 dias de recuperação, enquanto que para

aquelas submetidas ao alagamento por 63 e 84 dias, os valores pouco se alteraram ao longo das avaliações de recuperação (Figura 6B).

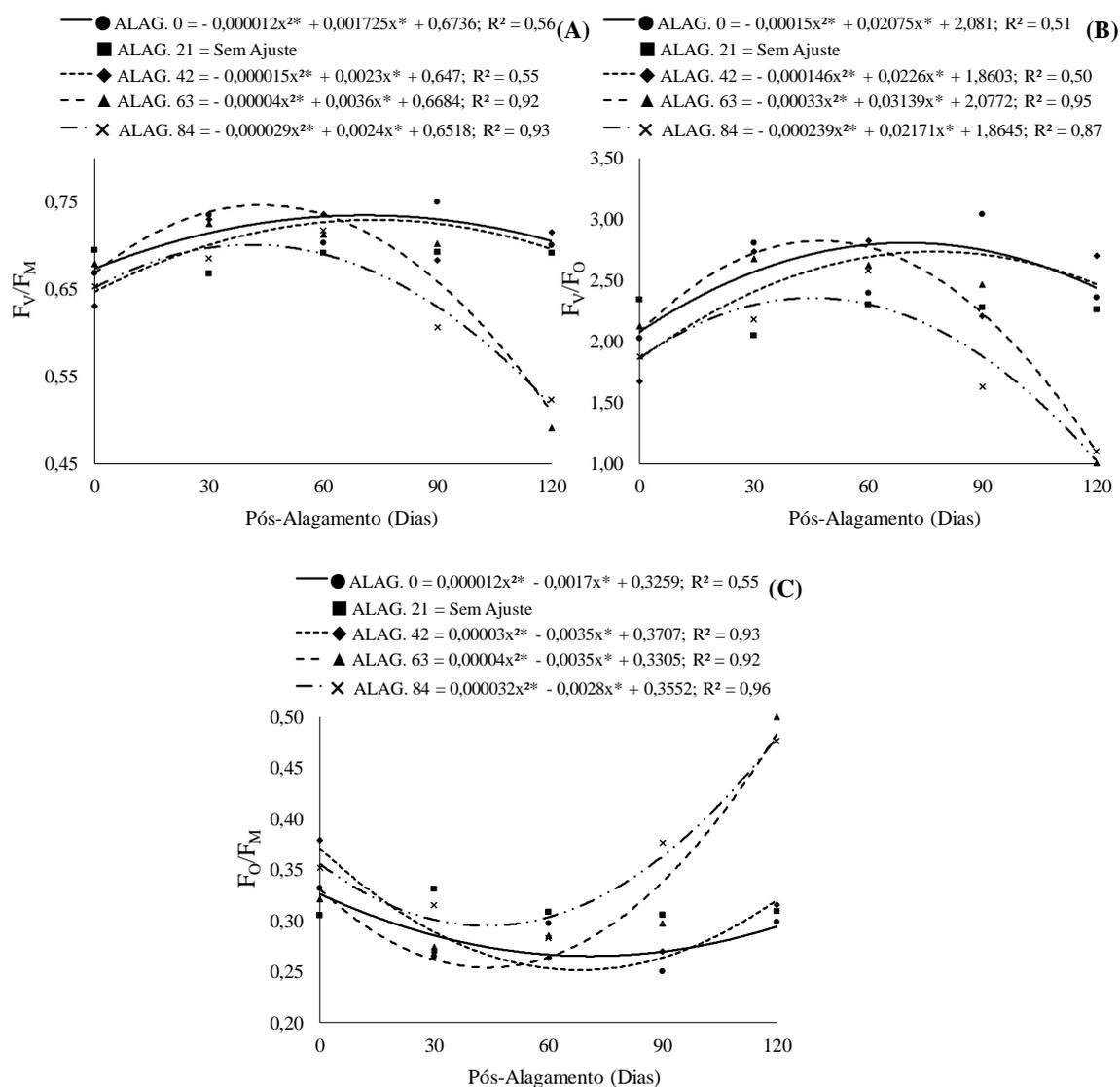


Figura 5. Eficiência quântica potencial do fotossistema II – F_v/F_M , (A); eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II – F_v/F_0 (B) e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II – F_0/F_M (C) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do período de alagamento e do tempo de recuperação. Dourados-MS, UFGD, 2017.

Com relação a atividade enzimática de peroxidase (POD) os efeitos dos tratamentos foram mais intensos nas raízes (Figura 6D) do que nas folhas (Figura 6C). Este fato é comprovado pela amplitude da atividade enzimática, já que nas raízes o valor foi de aproximadamente $1,86 \mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$, enquanto que nas folhas, a variação foi de aproximadamente $0,23 \mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$, independentemente dos tratamentos avaliados. Nas mudas alagadas por 42 dias, os valores de peroxidase nas raízes (POD raízes) foram

superiores durante o período de recuperação, especialmente aos 0, 30 e 120 dias de recuperação (Figura 6D).

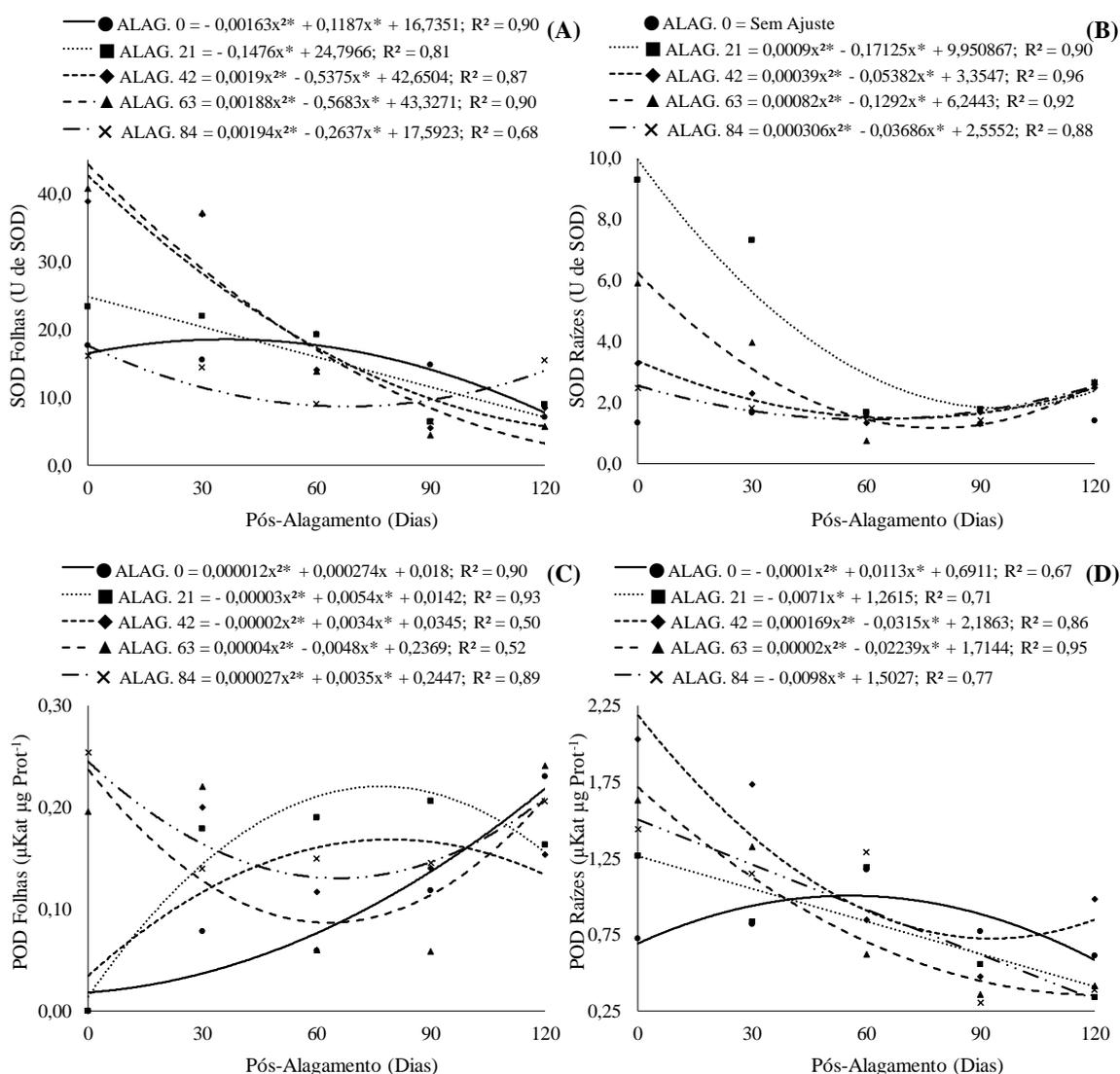


Figura 6. Atividade enzimática de superóxido dismutase nas folhas (SOD folhas) (A) e raízes (SOD raízes) (B); de peroxidase nas folhas (POD folhas) (C) e raízes (POD raízes) (D) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do período de alagamento e do tempo de recuperação. Dourados-MS, UFGD, 2017.

As mudas de *C. langsdorffii* apresentaram aumento gradativo da área foliar ao longo do período de recuperação, exceto para as mudas que foram alagadas por 84 dias. Os valores foram mais expressivos nas mudas alagadas por 42 e 63 dias, especialmente após os 90 dias de recuperação (Figura 7A). Quanto ao número de folhas (Figura 7B), o menor valor foi de 6,01 folhas planta⁻¹ para as mudas alagadas por 84 dias logo após a retirada da condição de alagamento, entretanto, foram crescentes ao longo do tempo mas não se mantiveram ao final do período de avaliação. O número de folhas das mudas não

alagadas foi de aproximadamente 6,84 folhas planta⁻¹ ao longo de todo o período de avaliação. Para as mudas alagadas por 42 e 63 dias, o número de folhas foi superior a 8,26 folhas planta⁻¹ logo após a retirada do alagamento e, comportamento similar ao das mudas alagadas por 84 dias também foi observado com as alagadas por 63 dias. Nas mudas alagadas por 42 dias os valores máximos foram observados aos 93 dias de recuperação (12,6 folhas planta⁻¹).

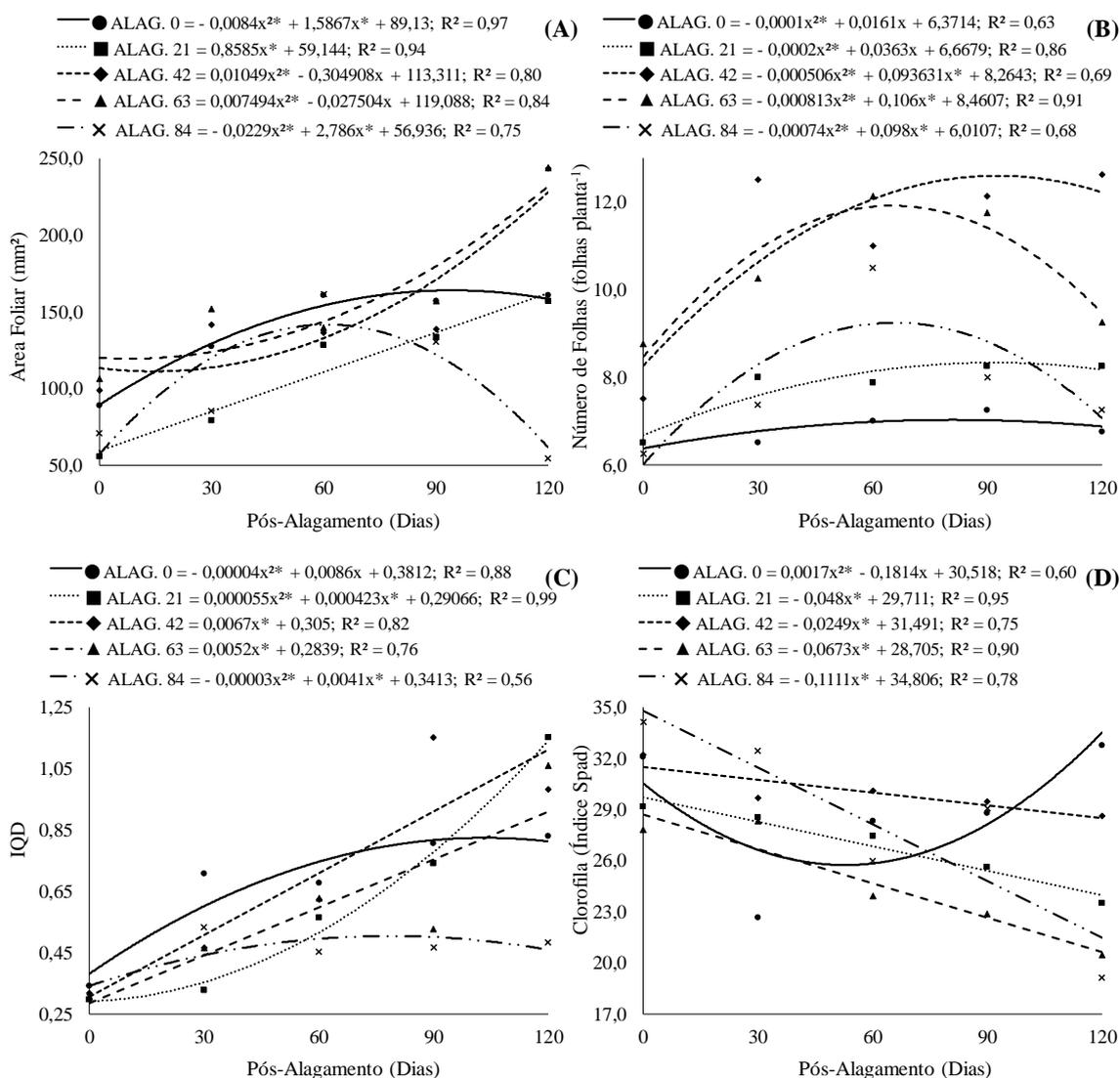


Figura 7. Área foliar – AF (A); número de folhas (B); índice de qualidade de Dickson - IQD (C) e clorofila (D) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do período de alagamento e do tempo de recuperação. Dourados-MS, UFGD, 2017.

Quanto ao Índice de Qualidade de Dickson (IQD), os valores foram crescentes durante todo o período de recuperação para as mudas alagadas por 42 dias e os resultados menos expressivos foram observados nas mudas alagadas por 84 dias, sobretudo a partir dos 60 dias de recuperação (Figura 7C). Os valores de clorofila (Figura

7D) foram, de um modo geral, superiores para as mudas alagadas por 42 dias e decréscimos nestes valores foram observados nas mudas alagadas por 63 e 84 dias durante todo o período de recuperação em que as mudas foram avaliadas.

DISCUSSÃO

Considerando que, a taxa fotossintética (A) foi decrescente ao longo das avaliações para as mudas submetidas ao alagamento por períodos de 63 e 84 dias (Figura 3A), sugere-se que períodos de alagamento superiores a estes são prejudiciais para a manutenção de uma taxa fotossintética regular para esta espécie, o que fica claro com a queda abrupta dos valores desta característica nos primeiros 30 dias de recuperação. Comportamento semelhante também foi observado para a transpiração (E) (Figura 3B), sendo que, após a retirada destas plantas da condição alagamento, os valores ainda estavam mais elevados que dos demais tratamentos, os quais não se mantiveram estáveis ao longo do tempo de pós-alagamento. Reflexo disso pode ser observado na Figura 3C, quando avaliado o decréscimo constante na eficiência do uso da água (EUA) das mudas submetidas ao alagamento por 63 dias. Os valores foram também, conseqüentemente, decrescentes ao longo do pós-alagamento.

Por outro lado, as mudas submetidas ao alagamento por 42 dias apresentaram valores crescentes ao longo de todo o tempo de pós-alagamento para a fotossíntese, transpiração e EUA demonstrando que, se expostas a condições de excesso de água por aproximadamente 40 dias, a espécie consegue, quando cessada a condição de estresse se recuperar e apresentar resultados para estas três variáveis muito próximos e até mesmo superiores aos das mudas que não foram alagadas. Além disso, sabe-se que maiores valores de EUA indicam maior plasticidade fisiológica das espécies diante das adversidades bióticas e abióticas as quais são expostas (LI et al., 2008; SILVA et al., 2008).

Os valores de concentração interna de CO₂ inferiores nas mudas após exposição ao alagamento por 42 dias associado à maior eficiência de carboxilação da Rubisco e conseqüentemente maior fotossíntese sugerem maior eficiência de recuperação após a retirada do alagamento, ao contrário das mudas alagadas por 63 e 84 dias, cujos valores de carbono interno foram de um modo geral superiores durante todo o tempo de pós-alagamento das mudas (Figura 4A). Maiores concentrações de carbono interno confirmam a menor produção de fotossíntese e o padrão decrescente da eficiência da

carboxilação da Rubisco (A/C_i) das mudas alagadas por maior período de tempo (Figura 4B). Menores valores de A/C_i podem ser decorrentes dos danos que condições prolongadas de falta de oxigênio no substrato ocasionam ao aparato fotossintético das mudas expostas ao alagamento por maior período de tempo, o que pode comprometer e reduzir a atividade da Rubisco (FLEXAS et al., 2006; XU et al., 2009). A queda da fotossíntese pode ser atribuída ao fechamento estomático e a fatores da etapa fotoquímica da fotossíntese, como por exemplo, o aumento na concentração de carbono interno (HERRERA et al., 2008; CHEN et al., 2010).

Quanto a condutância estomática (gs), os valores foram crescentes durante todo o tempo de recuperação para as mudas alagadas por 42 dias e comportamento diverso foi observado nas mudas expostas ao alagamento por 63 e 84 dias. Nestas, a manutenção das elevadas taxas de condutância estomática decaiu a partir dos 60 dias de recuperação, sugerindo que as mudas não atingiram um nível ideal de recuperação para esta variável (Figura 4C) e, além disso, tal situação também justifica as menores taxas fotossintéticas durante a mesma época. Sabe-se que algumas plantas submetidas ao alagamento tendem a apresentar respostas semelhantes às observadas para as mudas de *C. langsdorffii*, como por exemplo a *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth ex DC. submetida ao alagamento por 60 e 90 dias, que apresentou redução na condutância estomática e aumento na concentração de carbono interno, e conseqüentemente queda da taxa de fotossíntese (LIRA et al., 2013).

Os valores para eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) também foram superiores nas mudas de *C. langsdorffii* alagadas por 42 dias, indicando que esta condição foi a mais favorável para a manutenção das trocas gasosas destas plantas, pois manteve-se elevada a taxa fotossintética mesmo com redução da condutância estomática (Figura 4D). A manutenção de valores elevados de EIUA durante a recuperação das mudas após o alagamento, reforça o fato de que as mudas suportam o alagamento por aproximadamente 40 dias, uma vez que, aumentos neste parâmetro se traduzem na maior capacidade que as plantas possuem de se estabelecerem/sobreviverem em ambientes de estresse (CERNUSAK et al., 2007; FERREIRA et al., 2012).

Quanto as variáveis relacionadas a fluorescência da clorofila *a* (Figura 5), observa-se que, independentemente de qual delas seja analisada, houve uma diferença muito acentuada, principalmente após os 60 dias de pós-alagamento, nas mudas alagadas por até 42 dias e mudas alagadas por mais de 63 dias. Sabe-se que os valores de referência para a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) oscilam entre 0,75 e 0,85

(BAKER e ROSENQVST, 2004) quando os centros de reação do fotossistema II estão intactos, entretanto, tais valores estão sujeitos a uma margem de variação que dependem, dentre outros fatores, da espécie em estudo, de seus mecanismos fisiológicos e do seu local de crescimento (LI et al., 2004; ZANANDREA et al., 2006). Por outro lado, valores muito inferiores, tais como os observados para as mudas de *C. langsdorffii* alagadas por maior período de tempo (Figura 5A), são sugestivos da ocorrência de dano fotoinibitório aos centros de reação do fotossistema II, o que acaba implicando, como observado anteriormente, em decréscimos acentuados da fotossíntese. Resultados semelhantes foram observados em *Populus deltoides* W. Bartram ex Marshall, sendo encontrados declínios significativos na F_v/F_M e na taxa fotossintética em condições severas de alagamento (140 dias) no período de inverno (MIAO et al., 2017).

De maneira semelhante, reduções muito acentuadas dos valores da eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_0) também confirmam prejuízos ao aparato fotossintético das plantas. Esta relação, por ser um indicador mais sensível às mudanças de funcionalidade do fotossistema II, é utilizada para amplificar as pequenas variações detectadas na relação F_v/F_M (REIS e CAMPOSTRINI, 2011). Os valores de referência para F_v/F_0 que refletem a manutenção do bom estado de funcionalidade dos centros de reação do fotossistema II estão entre 4 e 6 (ROHÁCEK, 2002). Neste trabalho, os valores médios observados para as plantas não alagadas (e, teoricamente, não estressadas) ficaram situados em uma zona inferior aos de referência, sugerindo, primeiramente, que a espécie possui uma margem de referência distinta da convencionalmente adotada. Em uma segunda análise, observa-se que as mudas de *C. langsdorffii* alagadas por 42 dias também tiveram seus valores de F_v/F_0 muito próximos, durante todo o período de recuperação, daquelas que não foram alagadas e gradativamente aumentados ao longo do tempo, um indicativo de recuperação ao estresse por alagamento.

Efeito contrário foi observado nas mudas alagadas por 63 e 84 dias, que tiveram, especialmente aos 60 dias de pós-alagamento, decréscimos expressivos desta característica, indicando que as mudas sofreram danos possivelmente irrecuperáveis ao aparato fotossintético (Figura 5B).

Para a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_0/F_M), assim como observado para F_v/F_M e F_v/F_0 , os valores de F_0/F_M para as plantas não alagadas e alagadas por 42 dias também se distanciaram da faixa de referência, entretanto, tal diferença foi sensivelmente maior nas plantas alagadas por mais de 63 dias, cujos resultados ficaram próximos de 0,50 aos 120 dias de recuperação (Figura

5C), indicando danos no fotossistema II, o que refletiu nos baixos índices de fotossíntese para estas condições ao longo das avaliações. Segundo Roháček (2002), os valores médios de referência dessa característica se situam entre 0,14 e 0,20 sugerindo que o aumento desta relação é um indicativo de estresse.

Com relação a atividade da superóxido dismutase nos tecidos foliares e radiculares das mudas de *C. langsdorffii* (Figuras 6A e 6B), observa-se que, apesar de apresentarem comportamento similar, principalmente naquelas mudas alagadas por 42 e 84 dias ao longo de todo o período de pós-alagamento, as diferenças foram mais expressivas nas folhas do que nas raízes, este fato permite inferir que esta enzima exerce em diferentes órgãos ou compartimentos celulares das plantas funções distintas, com vias à melhor ajuste ao ambiente (OLIVEIRA et al., 2008a; TAIZ e ZEIGER, 2013). Nas mudas alagadas por 42 dias observa-se que a atividade enzimática foi mais intensa logo após a saída da condição de alagamento, sugerindo melhor ajuste a este tipo de estresse o que se confirma, com o passar do tempo, com a diminuição destes valores, aproximando-se dos valores das mudas não alagadas e, teoricamente não estressadas.

Quando alagadas por 84 dias, as mudas mantiveram valores de SOD inferiores em relação aos demais tratamentos, sugerindo um possível colapso na estrutura de proteção às espécies reativas ao oxigênio (ROS) indicando que estas mudas tiveram prejudicados seus mecanismos protetivos.

Contrariamente ao ocorrido com a atividade da SOD, os valores para a atividade da peroxidase foram mais expressivos nas raízes de *C. langsdorffii* do que em suas folhas (Figuras 6C e 6D). Além disso, foram superiores nas raízes das mudas alagadas por 42 dias quando comparadas as demais, aproximando-se dos valores obtidos para aquelas mudas não alagadas após os 60 dias de recuperação. Observou-se também, que mudas alagadas por 63 e 84 dias apresentaram valores superiores para esta característica logo após a retirada da condição de estresse por alagamento e que estes tornaram-se inferiores aos das mudas não alagadas após os 60 dias de recuperação, indicando, tal como observado para a atividade da SOD uma possível desestabilização desta rota de proteção ao estresse nestas mudas. Sabe-se que as respostas aos diversos tipos de estressores podem estar ligadas a capacidade que as plantas adaptadas possuem de produzir e ativar agentes antioxidativos no interior de seus tecidos associados ao combate às ROS. Dentre estes agentes antioxidativos merecem destaque as enzimas superóxido dismutase e a peroxidase, portanto, o aumento de suas atividades enzimáticas constitui um importante parâmetro para se quantificar a resposta de proteção das plantas

ao estresse causado pelo alagamento (OLIVEIRA et al. 2008a; POMPELLI et al., 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013). Em particular, algumas peroxidases, que estão envolvidos em várias funções fisiológicas são induzidas nas plantas após exposição ao alagamento (KAUSAR et al., 2012; KHAN et al., 2014) ou à seca (KAUSAR et al., 2012).

Com relação a área foliar (Figura 7A), observou-se que ela foi crescente para todos os tratamentos ao longo do tempo de recuperação, exceto para as mudas alagadas por 84 dias, que não conseguiram manter constante o valor para esta característica. Isto tornou-se mais evidente quando comparados com o número de folhas (Figura 7B) destas plantas após os 60 dias de recuperação, a partir deste período os valores reduziram em função de um processo de abscisão foliar. Sabe-se que, muitas espécies em condições severas de estresse por alagamento, para compensarem a baixa disponibilidade de energia e suprimentos, realocam seus fotoassimilados e deixam de destiná-los, por exemplo, para a formação de novos brotos, folhas e também para a expansão da área foliar (OLIVEIRA e JOLY, 2010), fato que provavelmente ocorreu com as mudas de *C. langsdorffii* que foram expostas ao alagamento por maior período de tempo e que, durante a recuperação, não recuperaram sua área foliar quando comparadas com as mudas não alagadas.

Os valores de clorofila das mudas alagadas por 63 e 84 dias também foram decrescentes durante todo o período de recuperação (Figura 7C), um reflexo direto dos prejuízos causados pelo alagamento, já que condições de estresse hídrico podem propiciar a redução dos teores dos pigmentos fotossintéticos devido aos danos oxidativos que causam (EGERT e TEVINI, 2002). Entretanto, é importante ressaltar que não foi constatado o amarelecimento foliar (clorose), sinal característico de degradação da clorofila, portanto, a diminuição dos conteúdos de clorofila nas mudas alagadas por maior período de tempo foi resposta direta a diminuição do metabolismo destas plantas que conseqüentemente, sintetizaram menor quantidade destes pigmentos.

Quanto ao índice de qualidade de Dickson (IQD) observa-se, de modo geral, que as mudas alagadas por 84 dias apresentaram os menores valores para esta característica ao longo de todo o período de recuperação e, nas demais condições, os valores foram crescentes ao longo do tempo (Figura 7D). Apesar dos valores observados para todos os tratamentos serem superiores ao mínimo preconizado de 0,20 (DICKSON et al., 1960), sabe-se que maiores valores de IQD indicam a melhor qualidade das mudas, permitindo inferir maior robustez e adequada distribuição da biomassa na muda, fatores que auxiliam na determinação da recuperação destas plantas após o estresse provocado pelo alagamento (OLIVEIRA et al., 2008b; ARAÚJO et al., 2014). Tais informações,

somadas as demais já discutidas neste trabalho, corroboram com a ideia de que as mudas de *C. langsdorffii* alagadas por períodos superiores a 42 dias têm prejudicados seu metabolismo e conseqüentemente o seu crescimento, não conseguindo se recuperar quando comparadas as não alagadas, ou aquelas alagadas por menor período de tempo.

CONCLUSÃO

As mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. suportam o alagamento por até 42 dias, recuperando, após a suspensão do alagamento, todas as características avaliadas, alcançando valores similares ou superiores aos das mudas não alagadas.

A qualidade das mudas, as trocas gasosas e a capacidade de recuperação foram prejudicadas pelo alagamento superior a 42 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, E. C.; COSTA, R. S.; LOPES, E. C.; DAHER, R. F.; FERNANDES, M. E. B. Qualidade das mudas de espécies arbóreas de mangue cultivadas em viveiros e diferentes substrates. **Acta Ambiental Catarinense**, v. 11, n. 1, p. 21-32, 2014.

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

BROETTO, F. **Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas**. São Paulo: UNESP, 2014.

CAMPELLO, 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.

CERNUSAK, L. A.; ARANDA, J.; MARSHALL, J. D.; WINTER, K. Large variation in whole-plant water-use efficiency among tropical tree species. **New Phytologist**, v. 173, n. 2, p. 294-305, 2007.

CHEN, H.; ZAMORANO, M. F.; IVANOFF, D. Effect of flooding depth on growth, biomass, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of *Typha domingensis*. **Wetlands**, v. 30, n. 1, p. 957-965, 2010.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

EGERT, M.; TEVINI, M. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, n. 1, p. 43-49, 2002.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas** (Statistical Analysis Software) e planejamento de Experimentos – SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

FERREIRA, M. J.; GONÇALVES, J. F. C.; FERRAZ, J. B. S. Crescimento e eficiência do uso da água de plantas jovens de castanheira-da-Amazônia em área degradada e submetidas à adubação. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 2, p. 393-401, 2012.

FERREIRA, W. C.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R. Estabelecimento de mata ciliar às margens do reservatório da usina hidroeétrica de Camargos, MG. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 1, p. 69-81, 2009.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. **New Phytologist**, v. 172, n. 1, p. 73-82, 2006.

FONTES, C. G.; WALTER, B. M. T. Dinâmica do componente arbóreo de uma mata de galeria inundável (Brasília, Distrito Federal) em um período de oito anos. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 2, p. 145-158, 2011.

HERRERA, A.; TEZARA, W.; MARÍN, O.; RENGIFO, E. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis in trees of a tropical seasonally flooded forest. **Physiologia Plantarum**, v. 134, n. 1, p. 41-48, 2008.

KAUSAR, R.; HOSSAIN, Z.; MAKINO, T.; KOMATSU, S. Characterization of ascorbate peroxidase in soybean under flooding and drought stresses. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 1, p. 10573-10579, 2012.

KHAN, M.N.; SAKATA, K.; HIRAGA, S.; KOMATSU, S. Quantitative proteomics reveals that peroxidases play key roles in postflooding recovery in soybean roots. **Journal of Proteome Research**, v. 13, n. 1, p. 5812-5828, 2014.

LACERDA, V. A.; BARBOSA, F. M.; SOARES, J. J.; BARBOSA, M. R. V. Flora arbustiva-arbórea de três áreas ribeirinhas no semiárido paraibano, Brasil. **Biota Neotropical**, v. 10, n. 4, p. 275-284, 2010.

LI, F.; BAO, W.; WU, N.; YOU, C. Growth, biomass partitioning, and water-use efficiency of a leguminous shrub (*Bauhinia faberi* var. *microphylla*) in response to various water availabilities. **New Forests**, v.36, n.1, p.53-65, 2008.

LI, Y. G.; LI, L. H.; JIANG, G. M.; NIU, S. L.; LIU, M. Z.; GAO, L. M.; PENG, Y.; JIANG, C. D. Traits of chlorophyll fluorescence in 99 species from the sparse-elm grassland in Hunshandak Sandland. **Photosynthetica**, v. 42, n. 2, p. 243-249, 2004.

LIRA, J. M. S.; FERREIRA, R. A.; SILVA JUNIOR, C. D.; SANTOS NETO, E. M.; SANTANA, W. S. Análise de crescimento e trocas gasosas de plantas de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) D.C. sob alagamento para uso na recuperação de matas de ciliares. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 4, p. 655-665, 2013.

LOPES, S. F.; SCHIAVINI, I. Dinâmica da comunidade arbórea de mata de galeria da Estação Ecológica do Panga, Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 2, p. 249-261, 2007.

MIAO, L. F.; YANG, F.; HAN, C. Y.; PU, Y. J.; DING, Y.; ZHANG, L. J. Sex-specific responses to winter flooding, spring waterlogging and post-flooding recovery in *Populus deltoides*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 25-34, 2017.

OLIVEIRA, A. K. M.; GUALTIERI, S. C. J. Gas exchange in young plants of *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae Juss.) subjected to flooding stress. **Revista Árvore**, v. 40, n. 1, p. 39-49, 2016.

OLIVEIRA, J. E. Z.; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. Caracterização isozimática e atividade de peroxidase em folhas de plantas hiperídrica, intermediária e normal de *Bidens pilosa* L. mantidas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 32-36, 2008a.

OLIVEIRA, R. B.; LIMA, J. S.; SOUZA, C. A. M.; FILHO, S. M. Produção de mudas de essências florestais em diferentes substratos e acompanhamento do desenvolvimento em campo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 122-128, 2008b.

OLIVEIRA, V. C.; JOLY, C. A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth responses. **Trees**, v. 24, n. 1, p. 185-193, 2010.

PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE. **Abiotic stress adaptation in plants: physiological, molecular and genomic foundation**. Dordrecht: Springer. 2010. 526 p.

POMPELLI, M. F.; BARATA-LUÍS, R.; VITORINO, H. S.; GONÇALVES, E. R.; ROLIM, E. V.; SANTOS, M. G.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; FERREIRA, V. M.; LEMOS, E. E.; ENDRES, L. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, n. 8, p. 1207-1215, 2010.

REIS, F. O.; CAMPOSTRINI, E. Microaspersão de água sobre a copa: um estudo relacionado às trocas gasosas e à eficiência fotoquímica em plantas de mamoeiro. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 17, n. 1, p. 284-295, 2011.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, v. 40, n. 1, p. 13-29, 2002.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 52, n. 1, p. 119-125, 1964.

SILVA, C. E. M.; GONÇALVES, J. F. C.; FELDPAUSCH, T. R. Water-use efficiency of tree species following calcium and phosphorus application on an abandoned pasture, central Amazonia, Brazil. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 2, p. 189-195, 2008.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; AMORIM NETO, M. S. Recuperação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

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 Agrocência**, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by predrought following rewatering in grass? **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 13, p. 37-49, 2009.

CAPÍTULO III

TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. EM DIFERENTES DISPONIBILIDADES HÍDRICAS¹

RESUMO – Com vistas ao melhor aproveitamento dos recursos hídricos disponíveis, objetivou-se neste trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. cultivadas sob diferentes disponibilidades hídricas. As mudas foram cultivadas sob 4 capacidade de retenção de água do substrato (CRA - 25%, 50%, 75% e 100%) e avaliadas em 4 tempos (T - 30, 60, 90 e 120 dias). Durante o período avaliado as mudas mantiveram maior eficiência de carboxilação da Rubisco (A/Ci), eficiência intrínseca do uso da água-EUIA (A/g_s), índice de clorofila e abertura estomática quando cultivadas em substrato com 75% da CRA, mas o índice estomático foi menor a 25% da CRA. A eficiência do fotossistema II não foi alterada significativamente pelos tratamentos. As disponibilidades hídricas extremas representadas por 25% e 100% da CRA são sugestivas de estresse para a espécie nas condições estudadas e desencadeiam elevada atividade das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, peroxidase e catalase) na planta.

Palavras-chave: Estresse hídrico, fotossíntese, fluorescência da clorofila a.

ABSTRACT – The aim of this study was to evaluate gas exchange, efficiency of the photosynthetic apparatus, and antioxidant activity in *Copaifera langsdorffii* Desf. Seedlings cultivated under different conditions of water availability, in order to improve the utilization efficiency of available water resources. Seedlings were cultivated in four different water retention capacities (WRC- 25%, 50%, 75%, and 100%), and evaluated at four different time (T- 30, 60, 90, and 120 days). During the experimental period, seedlings presented the highest values for carboxylation efficiency of Rubisco (A/Ci), intrinsic water use efficiency (IWUE = A/g_s), chlorophyll index, and stomatal opening, when grown in the substrate with 75% WRC, whereas the lowest stomatal index (SI) was observed in the substrate with 25% WRC. The efficiency of photosystem II was not significantly altered by the treatments. Comparison between the extreme treatments in

¹ Artigo aceito para publicação no periódico Anais da Academia Brasileira de Ciências em 15 de agosto de 2017.

terms of water availability, represented by 25% and 100% WRC, suggest the importance of water stress for this species. Water availability causes a high activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, peroxidase, and catalase) in the plant.

Keywords: Water stress, photosynthesis, chlorophyll a fluorescence

INTRODUÇÃO

As espécies vegetais estão constantemente expostas aos mais diversos fatores causadores de estresse que limitam sua produtividade e/ou expressão máxima de seu potencial genético. Dentre estes fatores, destaca-se a disponibilidade de água cuja deficiência afeta o potencial hídrico foliar, o estado nutricional e as trocas gasosas foliares, podendo alterar diversos processos metabólicos e fisiológicos comprometendo o crescimento das espécies (GONÇALVES et al., 2009; CUNHA et al., 2013; CAMPELO et al., 2015) além de determinar a sua ocorrência e distribuição (SAKAMOTO e MURATA, 2002).

Dentre os processos que podem ser afetados pelas condições de estresse hídrico, merecem destaque o fechamento estomático e a redução na condutância do mesófilo, o que leva à redução da taxa fotossintética, além de danos às membranas dos tecidos e comprometimento das atividades enzimáticas, em especial de enzimas responsáveis pelos processos de fixação e assimilação do gás carbônico e síntese do ATP e enzimas antioxidantes (LORETO et al., 2003; SHAO et al., 2007; POMPELLI et al., 2010; FLEXAS et al., 2012, CAMPELO et al., 2015).

Nativa no cerrado e de florestas semi-decíduas, a *Copaifera langsdorffii* Desf., popularmente conhecida por pau-óleo ou copaíba, é uma espécie com uma ampla distribuição geográfica no território brasileiro e, devido as propriedades medicinais de seu óleo, está entre as espécies que sofrem extrativismo de modo predatório, sendo de fundamental importância a obtenção de informações agronômicas e de aclimatização para assegurar o seu cultivo *ex situ*. Somado a isso a demanda por informações sobre espécies com potencial para serem implantadas em ambientes degradados vem crescendo com o aumento das variações climáticas, as quais afetam, sobretudo, as relações hídricas (NASCIMENTO et al., 2014; SANTANA et al., 2016).

A quantidade de água disponível no solo é considerada o fator de maior impacto na produtividade das espécies, sejam elas agrícolas ou florestais, regulando inclusive sua distribuição espacial. O manejo sustentável dos recursos hídricos e a

transferência dos resultados das pesquisas a diferentes países e regiões, bem como às diferentes espécies e regimes de manejo florestal continua apresentando dificuldades (PORTES et al., 2006; CALDATO e SCHUMACHER, 2013). Portanto, o conhecimento da espécie e suas respostas sob a influência de diferentes condições hídricas é de fundamental importância desde os primeiros meses de crescimento, período em que as mudas se encontram mais susceptíveis às variações ambientais.

Com vistas ao melhor aproveitamento dos recursos hídricos disponíveis, objetivou-se neste trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. cultivadas sob diferentes disponibilidades hídricas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no viveiro de plantas da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no município de Dourados – MS, durante os meses de junho a outubro de 2015. Foram utilizadas mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. com 60 dias de idade.

O experimento foi conduzido por 120 dias em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, no esquema fatorial 4 x 4, sendo 4 disponibilidades hídricas representadas pela capacidade de retenção de água (CRA - 25%, 50%, 75% e 100%) e 4 tempos de avaliação (T - 30, 60, 90 e 120 dias). A unidade experimental foi constituída por um vaso com duas mudas cada.

Para calcular as CRA foi utilizada a metodologia proposta por Souza et al. (2000), sendo que a de 100% foi determinada baseada na quantidade de água retida após a drenagem do excesso de água e as de 25%, 50% e 75%, calculadas por meio de regra de três em função da massa. O controle da irrigação foi individualizado, em dias alternados, através do método gravimétrico, com água em quantidade suficiente para atingir a massa pré-estabelecida para cada CRA.

O substrato utilizado para o preenchimento dos vasos com capacidade para 6 litros consistiu em uma mistura, em volumes iguais de Bioplant[®], vermiculita e Latossolo Vermelho distroférrico (1:1:1 v/v). Em seguida, as unidades experimentais foram transferidas para a área de crescimento em viveiro sob sombreamento de 30% e coberto com plástico transparente para evitar a incidência de chuvas.

Aos 30, 60, 90 e 120 dias, as mudas foram avaliadas quanto ao potencial hídrico das folhas (Ψ_w) obtido a partir de leituras realizadas em folhas individuais pertencentes ao segundo par de folhas totalmente expandidas do ápice para a base, entre 10 e 11h da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander modelo 3115 Portable PWSC (ICT-International, Armindale, NSW), imediatamente após a coleta das folhas (SCHOLANDER et al., 1964); o índice de clorofila com auxílio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Konica-Minolta, Tokyo, Japan); a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) e eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_v/F_o), obtidas a partir de dados de fluorescência da clorofila *a* mensurados com o auxílio do fluorímetro portátil modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA); as taxas fotossintética (*A*) e transpiratória (*E*); condutância estomática (*g*_s); concentração interna de CO₂ (*C*_i); e as relações como eficiência do uso da água-EUA (*A/E*); eficiência da carboxilação da rubisco (*A/C*_i) e eficiência intrínseca do uso da água-EIUA (*A/g*_s) utilizando-se o analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCi PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK). As avaliações foram realizadas em quatro mudas por tratamento no período da manhã, entre 8 e 11 horas, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas, de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas.

Foram avaliados também a abertura ostiolar e o índice estomático (IE %) que foi calculado por meio da fórmula proposta por Salisbury (1927): $IE = [NE / (CE + NE)] \times 100$, sendo (NE) o número de estômatos e (CE) o número de células da epiderme, além da atividade das enzimas antioxidativas superóxido dismutase, peroxidase e catalase nos tecidos vegetais das folhas e raízes, segundo a metodologia descrita por Broetto (2014).

Dados de temperatura e umidade relativa durante o período experimental foram obtidos da Estação Meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados – MS (Figura 1). Para análise dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010) e os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos a 5% pelo teste F, foram ajustados por equações de regressão.

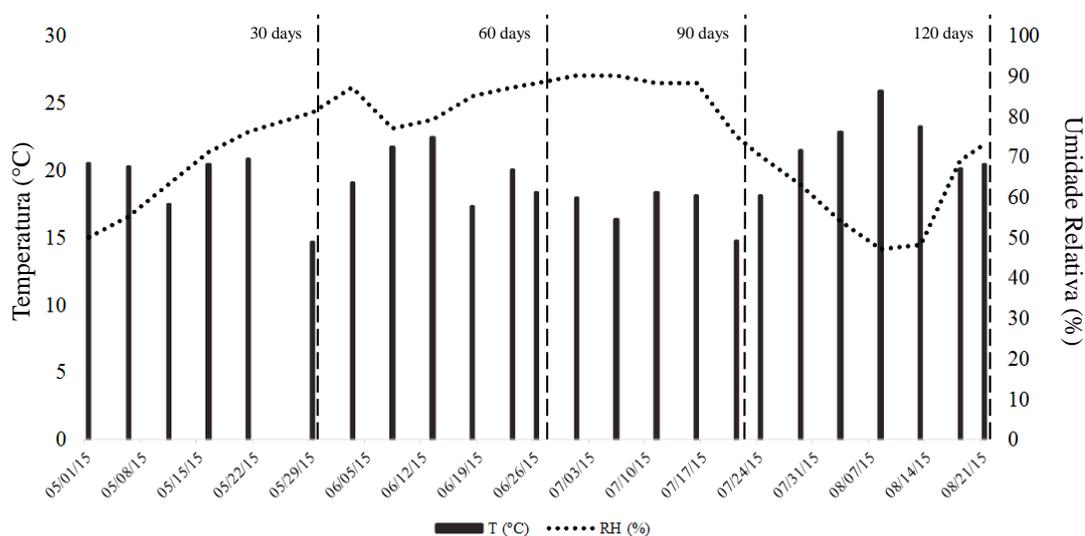


Figura 1. Temperatura e umidade relativa durante o período de condução experimental. Dourados-MS, UFGD, 2017.

RESULTADOS

Houve interação significativa ($p < 0,05$) da capacidade de retenção de água e do tempo de avaliação para taxa fotossintética (A), transpiração (E), condutância estomática (G_s), concentração interna de CO_2 (C_i), eficiência do uso da água (EUA), eficiência intrínseca do uso da água ($EIUA$), eficiência da carboxilação da rubisco (A/C_i), clorofila, abertura ostiolar e índice estomático, atividade enzimática de peroxidase nas folhas e de catalase nas raízes. O efeito isolado da capacidade de retenção de água ($p < 0,01$) foi observado para a atividade enzimática de superóxido dismutase nas folhas e raízes e de peroxidase nas raízes. O efeito isolado do tempo com $p < 0,01$ foi observado apenas para o potencial hídrico das folhas (Ψ_w). Tanto a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M) quanto a eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_V/F_0) não foram influenciados ($p > 0,05$) pelos fatores estudados, apresentando valores médios de 0,70 e 3,90 respectivamente.

O potencial hídrico das folhas (Figura 2) máximo calculado foi observado aos 85,5 dias, com valor de -1,23 MPa, entretanto, não houve diferença significativa quando comparado com as diferentes capacidades de retenção de água, apresentando valor médio de -1,4 MPa.

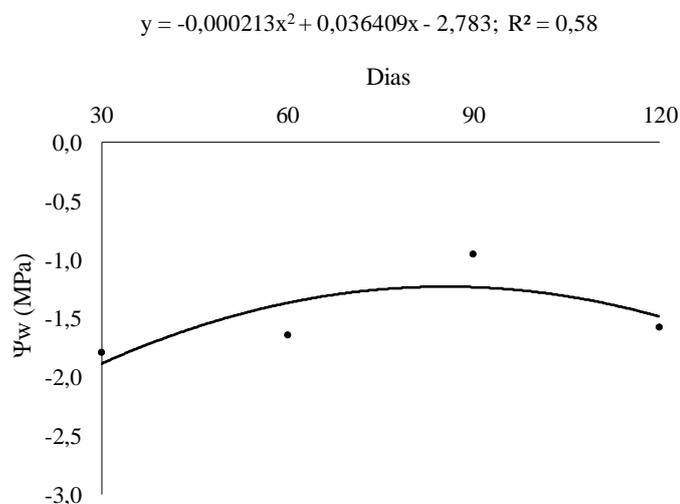


Figura 2. Potencial hídrico (Ψ_w) das folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função do tempo. Dourados-MS, UFGD, 2017.

A taxa fotossintética (Figura 3A) reduziu durante as avaliações das mudas cultivadas a 100%, 25% e 50% da CRA e para o cultivo a 75% da CRA o valor mínimo calculado foi de $3,28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aos 96 dias, mas em média observa-se tendência das mudas cultivadas a 75% CRA apresentarem maior taxa fotossintética. A transpiração (Figura 3B), independentemente do tempo em que foi avaliada, foi menor na condição de 25% da CRA e maior a 100% da CRA, valores intermediários foram observados para as demais condições.

A eficiência do uso da água (EUA) na condição de 25% da CRA apresentou valor máximo de $5,26 \mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ aos 69 dias (Figura 3C). Para os demais cultivos, a EUA foi menor e divergente entre os cultivos de 100 e 75% CRA, mantendo-se menor no cultivo a 100% de CRA. Os dados de 50% não se ajustaram às equações testadas.

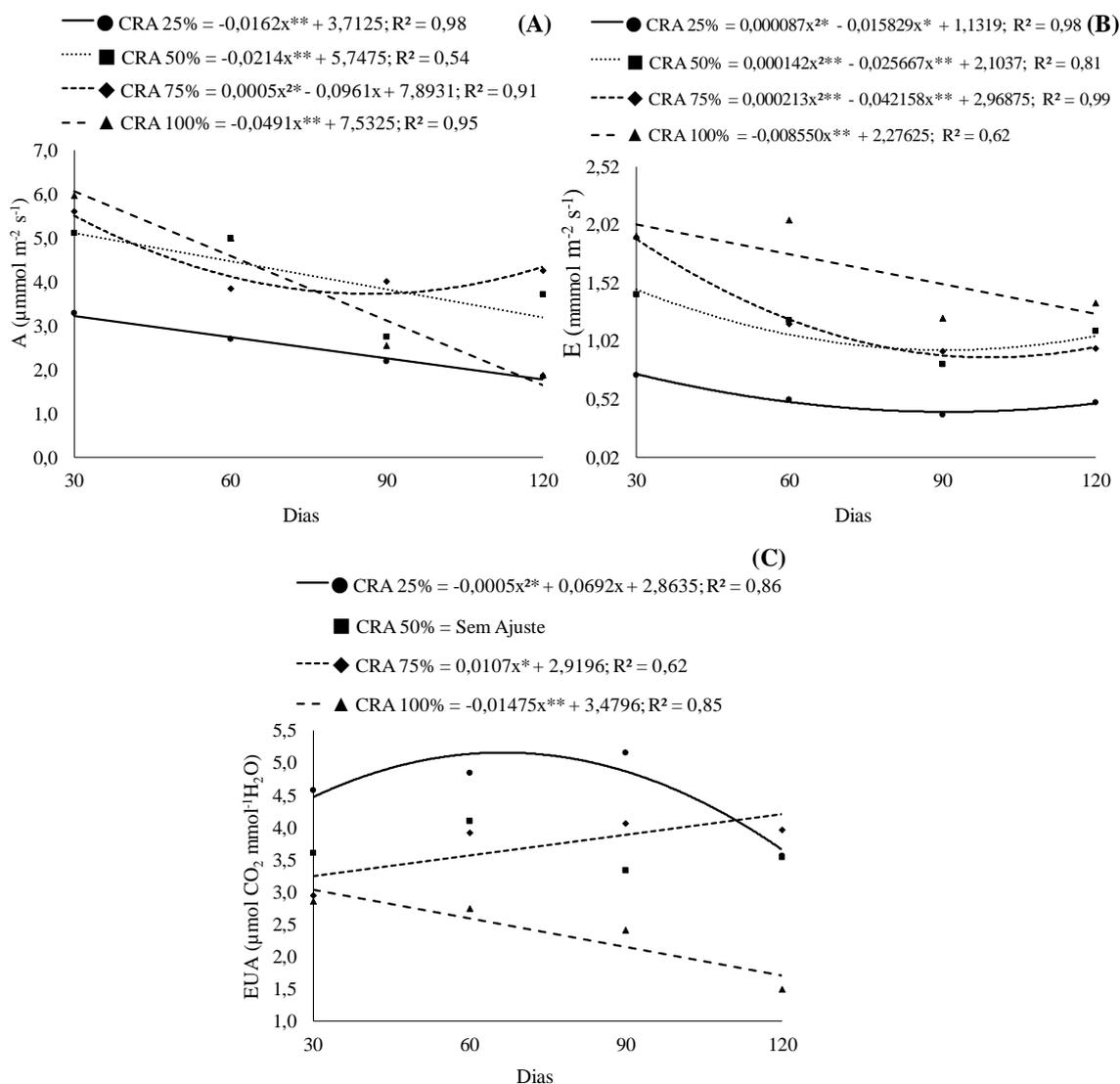


Figura 3. Fotossíntese líquida – A (A); transpiração – E (B) e eficiência do uso da água – EUA de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função de diferentes capacidades de retenção de água e do tempo. Dourados-MS, UFGD, 2017.

A mínima concentração interna de CO_2 (C_i) foi observada na condição de 75% da CRA, aos 60 dias com o valor de $218,26 \mu\text{mol mol}^{-1}$; deste ponto em diante os valores observados foram crescentes. Para a condição de 100% da CRA, o comportamento foi decrescente ao longo do tempo, apresentando valores de 296,95 e $252,55 \mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente, aos 30 e aos 120 dias (Figura 4A). Para as demais CRA os dados não apresentaram um padrão de comportamento, não se ajustando às equações testadas, mas ao final das avaliações encontravam-se entre os valores obtidos para as condições de 75% e 100% CRA.

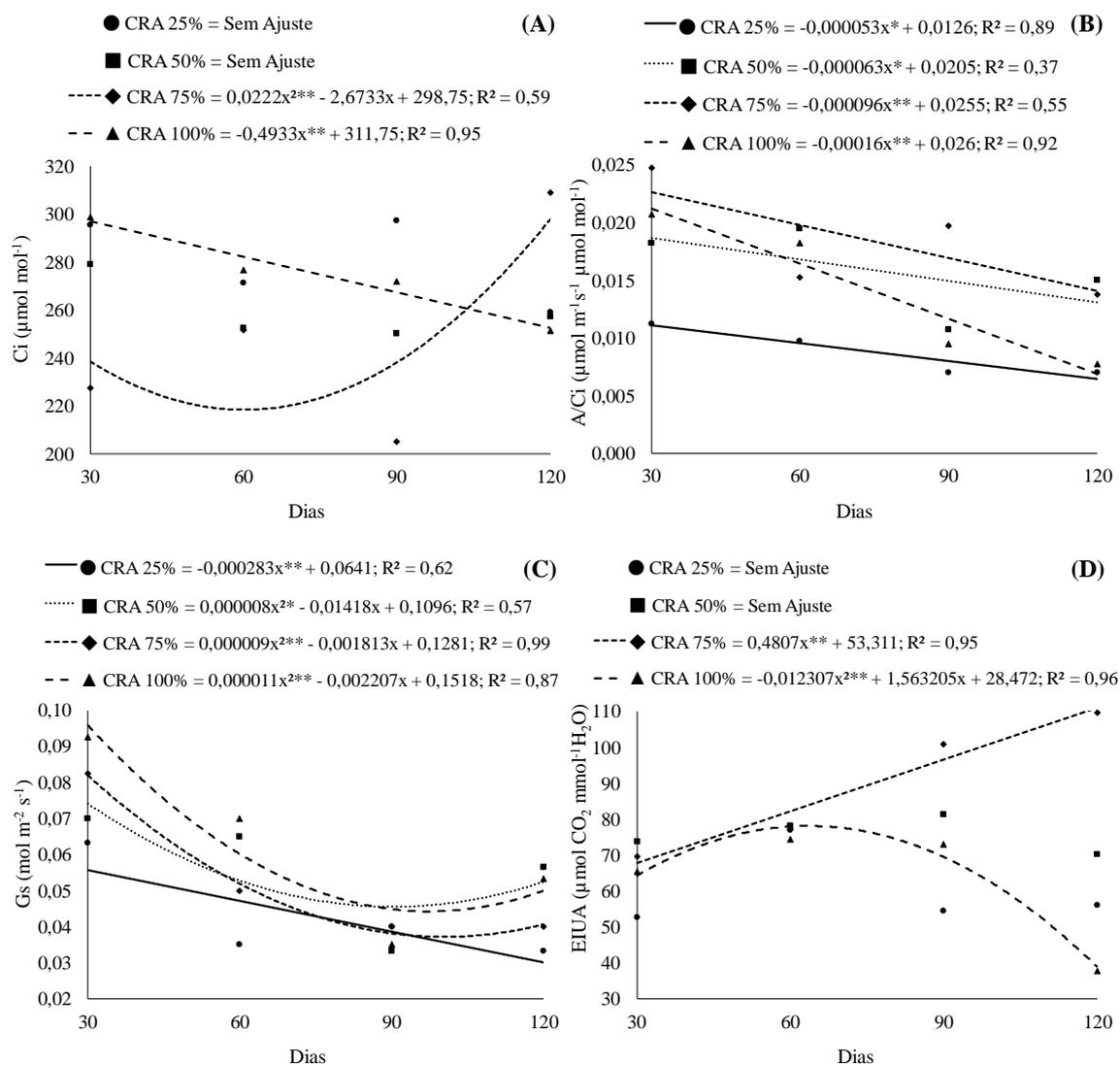


Figura 4. Concentração interna de CO₂ – Ci (A); eficiência da carboxilação da rubisco – A/Ci (B); condutância estomática – gs (C) e eficiência intrínseca do uso da água - EIUA (D) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função de diferentes capacidades de retenção de água e do tempo. Dourados-MS, UFGD, 2017.

A eficiência da carboxilação da rubisco (A/Ci) foi decrescente ao longo do tempo em todas as disponibilidades hídricas avaliadas, mantendo-se maior nas mudas cultivadas a 75% e menor a 25% da CRA. Observa-se, que houve uma maior variação quanto a eficiência de carboxilação da rubisco na condição de 100% da CRA ao longo do tempo ($\Delta = 0,014 \mu\text{mol m}^{-1}\text{s}^{-1}\mu\text{mol mol}^{-1}$) em relação as demais condições avaliadas (Figura 4B).

Para a condutância estomática das mudas cultivadas a 25% da CRA, os valores decresceram ao longo das avaliações. Para a condição de 50% da CRA o valor mínimo foi de $0,046 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, aos 88 dias. Para as condições de 75% e 100% da CRA,

os valores mínimos ($0,037$ e $0,041 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente) foram obtidos aos 100 dias (Figura 4C). Quanto a eficiência intrínseca do uso da água (EIUA), foram observados na condição de 75% da CRA, valores crescentes ao longo do período experimental com maior valor ($110,99 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) aos 120 dias. Para a condição de 100% da CRA o valor máximo ($63,51 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) foi observado aos 78 dias (Figura 4D).

De modo geral, o índice SPAD manteve-se maior ao longo das avaliações nas mudas cultivadas a 75% da CRA. As mudas apresentaram índice de clorofila máximo de 45,62; 51,33 e 7,12 aos 67, 77 e 57 dias nas condições de 25%, 75% e 100% da CRA respectivamente. Para o cultivo a 50% da CRA o valor mínimo foi de 43,62 os 88 dias e ao final das avaliações o índice de clorofila superou o das mudas cultivadas sob 100 e 25% da CRA alcançando valores próximos ao das mudas cultivadas sob 75% CRA (Figura 5).

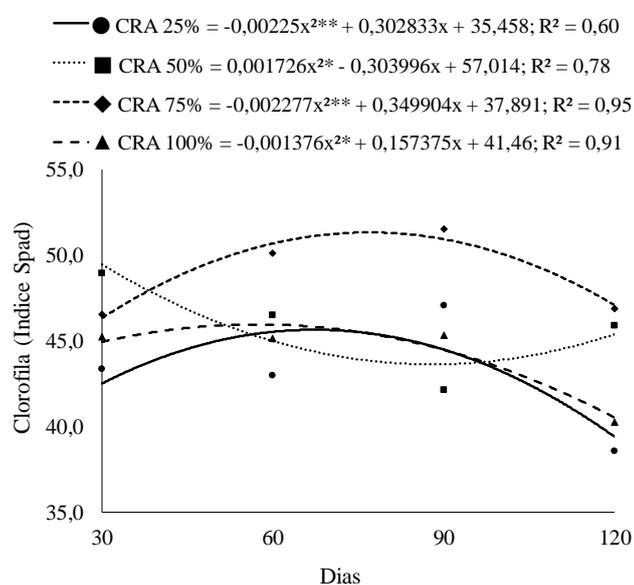


Figura 5. Clorofila em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função de diferentes capacidades de retenção de água e do tempo. Dourados-MS, UFGD, 2017.

Quanto a abertura ostiolar (Figura 6A), na condição de 75%, os resultados obtidos foram, de modo geral, superiores às demais condições de cultivo, sendo que o valor mínimo ($0,54 \text{ } \mu\text{m}$) observado aos 54 dias. Com relação ao índice estomático (Figura 6B) os valores foram crescentes ao longo do tempo para as condições de 25% e 75% da CRA, sendo que, em média o maior valor foi observado para as mudas cultivadas a 25% da CRA. Para mudas sob 100% da CRA, o índice estomático apresentou comportamento

diverso, decrescente ao longo do tempo e apresentando o menor valor (9,96%) aos 120 dias.

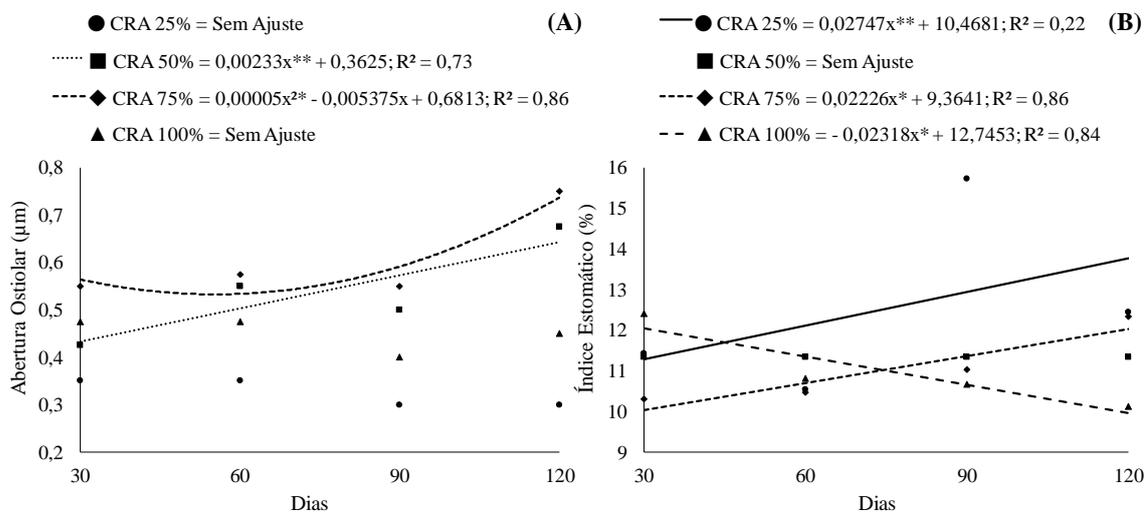


Figura 6. Abertura ostiolar (A) e índice estomático (B) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função de diferentes capacidades de retenção de água e do tempo. Dourados-MS, UFGD, 2017.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) nas folhas (Figura 7A) foi maior sob cultivo a 25% CRA e 100% e nas raízes a 25% CRA (Figura 7B). Quanto a peroxidase (POD), nas folhas (Figura 7C), manteve-se maior sob 25% da CRA ao longo das avaliações porém com tendências a decrescer alcançando valor mínimo de $0,65 \mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$ aos 86,78 dias. Nas mudas cultivadas a 75% CRA foi crescente e alcançou maior valor ao final das avaliações quando os valores foram semelhantes ao das mudas cultivadas com 25% CRA. A atividade da POD das raízes (Figura 7D) foi crescente a medida que se aumentava a disponibilidade de água, sendo maior ($1,85 \mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) na condição de 100% da CRA. Para a catalase (CAT) das raízes (Figura 7E), o maior valor foi observado nas mudas após 30 dias de cultivo a 100% CRA alcançando valor mínimo ($1,20 \mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) para o cultivo a 50% da CRA foi obtido aos 55,26 dias. Entretanto nas demais avaliações os valores se mantiveram maiores e crescentes no cultivo a 50% CRA para a condição de 100% da CRA.

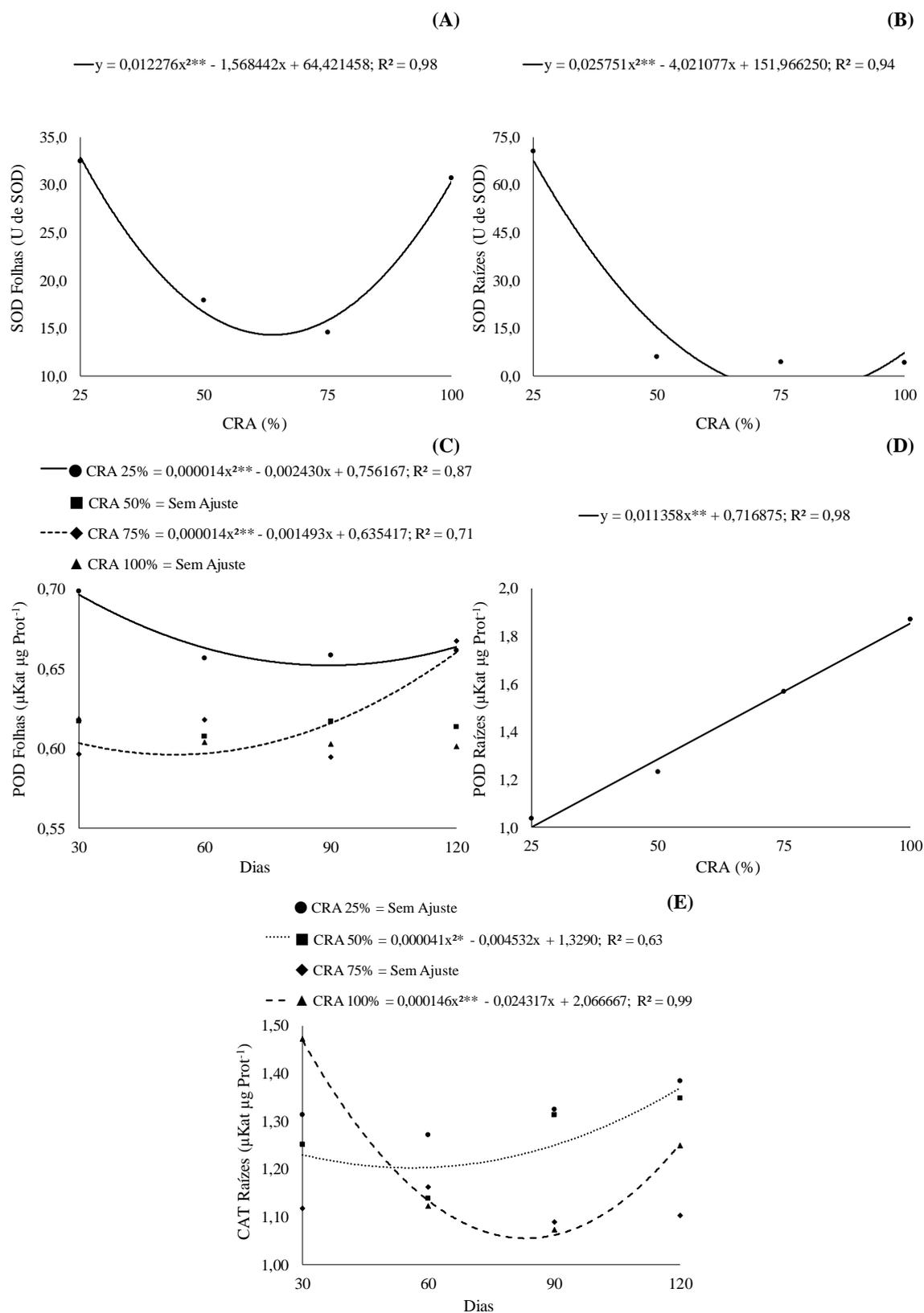


Figura 7. Atividade enzimática de superóxido dismutase nas folhas (SOD folhas) (A) e raízes (SOD raízes) (B); de peroxidase nas folhas (POD folhas) (C) e raízes (POD raízes) (D) e de catalase nas raízes (CAT raízes) (E) em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função de diferentes capacidades de retenção de água e do tempo. Dourados-MS, UFGD, 2017.

DISCUSSÃO

Interessante notar que sob diferentes disponibilidades hídricas as folhas de *Copaifera langsdorffii* não apresentaram alterações significativas no seu potencial hídrico (Ψ_w), provavelmente porque, em se tratando de mudas tão jovens, a espécie é adaptada, ajustando-se às modificações do ambiente, neste trabalho representado pelas diferentes capacidades de retenção de água. Trovão et al. (2007) avaliaram o potencial hídrico de onze espécies arbóreas da Caatinga nas estações seca e chuvosa, e observaram que do total das espécies estudadas, sete não apresentaram diferenças significativas quanto ao potencial hídrico nas duas estações. As explicações mais interessantes se concentram no fato de que as plantas, a fim de minimizar as perdas de água e manter a turgescência por algum período de tempo, apresentam modificações fisiológicas.

O padrão de resposta do Ψ_w nas mudas de *C. langsdorffii* pode ser também uma resposta à condição ambiental durante o período. Nos dias que antecederam as avaliações de 30 e 120 dias, a umidade relativa do ambiente (Figura 1) estava menor, o que pode ter contribuído para que a água presente nos tecidos das mudas ficasse mais indisponível quando comparado aos demais períodos de avaliações. Entretanto, nem todas as relações fisiológicas avaliadas nas diferentes CRA foram negativamente afetadas por esta condição ambiental.

Apesar do valor médio do Ψ_w observado nas plantas de *C. langsdorffii* ser considerado pela literatura como limitante ao desenvolvimento de diversas espécies, o valor obtido para a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m), independentemente dos tratamentos avaliados, foi de 0,70. Esse resultado indica que as plantas apresentaram uma redução mínima ao limite crítico, sugerindo mais uma vez, que elas possuem alguma característica evolutiva para suportar a restrição de água. Segundo a literatura, a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) reduz em condições de baixa disponibilidade hídrica, levando a um aumento nos processos de fotoinibição (LAGE-PINTO et al., 2012), sendo esta relação indicadora de estresse cujo limite crítico é de 0,75 e abaixo deste valor, é possível a ocorrência de danos ao aparato fotossintético (MAXWELL e JONHSON, 2000, TAIZ e ZEIGER, 2013).

Resultados similares aos observados para as mudas de *C. langsdorffii* também foram observados por Trovão et al. (2007) em seu trabalho com as arbóreas da Caatinga; sendo que das sete espécies que não apresentaram diferenças significativas quanto ao Ψ_w , quatro espécies (*Myracrodruon urundeuva* Allem., *Amburana cearenses* Allem.,

Commiphora leptophloeos Mart. e *Maytenus rigida* Mart.) não apresentaram alterações da F_v/F_M . Campelo et al. (2015) observaram diminuições nesta característica em apenas três das espécies arbóreas avaliadas por eles (*Calophyllum brasiliense* Cambess., *Swietenia macrophylla* King. e *Handroanthus serratifolius* Vahl) e somente quando as mudas foram submetidas a condição de estresse hídrico severo com valores da F_v/F_M variando de 0,55 a 0,62.

A taxa fotossintética (A) foi decrescente para a maioria das disponibilidades hídricas avaliadas. O maior decréscimo ocorreu na condição de 100% da CRA conforme observado na Figura 3A, o que pode sugerir que a manutenção constante de 100% da CRA levou a diminuição efetiva da quantidade de ar ao redor das raízes, prejudicando a absorção de água, o que conseqüentemente afetou o processo fotossintético de modo mais acentuado que na condição de 25% da CRA, cujos valores se mantiveram baixos durante todo o período experimental sugerindo que as mudas de copaíba passaram, nesta condição, por uma situação de déficit hídrico.

Ao final dos 120 dias do período experimental é possível observar que as mudas cultivadas com 75% da CRA apresentaram maiores taxa fotossintética (A) e eficiência do uso da água (EUA) (Figura 3C), única situação em que se manteve crescente, situação que também se justifica quando se observa o aumento da abertura estomática (Figura 6A), o que possibilita melhor aporte de carbono interno e liberação de vapor d'água. Valores muito baixos de transpiração e/ou muito elevados da taxa fotossintética contribuem para a elevação da EUA. Neste experimento, na condição de 25% da CRA a baixa transpiração foi determinante para a obtenção dos maiores valores de EUA, mas, por outro lado, foi a elevada taxa fotossintética observada na condição de 75% da CRA que propiciou valores crescentes de EUA ao longo do tempo.

Maiores valores de EUA são característicos de plantas tolerantes a menor disponibilidade de recursos hídricos (MA et al., 2004); além disso, servem de parâmetro indicador de plasticidade fisiológica dos vegetais em relação aos fatores abióticos, ou seja, os valores de EUA se traduzem na capacidade que as espécies têm ou não de se adaptar às adversidades impostas pelo ambiente (LI et al., 2008; SILVA et al., 2008). No caso das mudas de *C. langsdorffii*, tal fato fica evidente entre os 30 e 90 dias de condução experimental, quando, na condição de 25% CRA foi registrado o maior valor de EUA, mas que decresceu ao longo do tempo, demonstrando que a espécie fica vulnerável com a manutenção de baixas quantidades de água por longos períodos de tempo (Figura 3C).

A eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) foi maior na condição de 75% da CRA, demonstrando que esta condição de capacidade de retenção de água, quando comparada com as demais avaliadas, foi a mais propícia para as trocas gasosas das mudas de *C. langsdorffii*. A EIUA é a razão entre a fotossíntese (A) e a condutância estomática (g_s) e assim como a EUA, normalmente, maiores valores de EIUA estão relacionados a características de plantas tolerantes a menor disponibilidade de água no solo (FERREIRA et al., 2012) sendo a condição mais propícia para o cultivo das mudas de *C. langsdorffii*.

Como observado na Figura 4C, a condutância estomática (g_s), até os 60 dias de avaliação apresentou comportamento coerente com as diferentes capacidades de retenção de água, pois quanto menor a disponibilidade de água, menores os valores de g_s , o que foi uma resposta imediata e estratégica das plantas para reduzir a perda de água pela transpiração, evitando a desidratação dos tecidos (ALBUQUERQUE et al., 2013). Tal fato fica evidente ao se comparar a semelhança no comportamento das curvas de transpiração (Figura 3B) com as curvas de condutância estomática (Figura 4C) nas condições de 50% e 75% da CRA, confirmando a relação existente.

Na condição de 75% da CRA foi observado menor concentração interna de CO_2 (C_i) e redução nos valores até 60 dias de cultivo seguidos de elevação desses valores, o que explicaria o padrão de resposta decrescente tanto da taxa fotossintética quanto da eficiência de carboxilação da Rubisco (A/C_i), ao longo do tempo (Figuras 4A e 4B).

Os valores decrescentes para eficiência da carboxilação da rubisco ao longo do tempo observados sob 25% e 100% da CRA, podem ter sido consequência de déficit hídrico e da diminuição efetiva da quantidade de ar existente no substrato, respectivamente, pois ambas as situações podem causar danos ao aparato fotossintético, o que pode levar ao comprometimento e redução da atividade da rubisco (FLEXAS et al., 2006; XU et al., 2009).

Comportamento similar foi observado para o índice de clorofila das mudas (Figura 5), sendo que os maiores valores foram observados a 75% da CRA e os menores, muito próximos entre si, foram observados nas condições de 25% e 100% da CRA. Este resultado indica que o estresse hídrico acelerou a degradação dos conteúdos de clorofila (MAFAKHERI et al., 2010), fato que pode ter afetado as condições fotossintéticas das plantas, uma vez que pode causar redução na quantidade de energia absorvida pelo complexo antena dos cloroplastos (BAKER, 2008). Entretanto, durante o período avaliado, não foram observadas cloroses típicas resultantes da menor quantidade deste pigmento.

Embora a abertura ostiolar (Figura 6A) tenha sido maior no cultivo a 75 e 50% da CRA, o mesmo comportamento não foi apresentado pela condutância estomática que foi maior a 100% da CRA. Esses resultados comprovam que essas características não são diretamente relacionadas e dependentes e que a manutenção da abertura ostiolar não representa maior difusão da água e do CO₂, conforme observado nas plantas cultivadas a 75% da CRA, nas quais houve redução da transpiração antes da taxa fotossintética, o que levou a um influxo de CO₂ com menor perda de água pela transpiração.

Entretanto, o déficit hídrico promoveu alterações que refletiram na redução da abertura dos estômatos. Na literatura, modificações estomáticas (densidade, índice, abertura, tamanho, diâmetros) estão relacionadas com a regulação das trocas gasosas sob situações de estresse no qual, folhas que apresentam menor abertura dos estômatos em condições de restrição hídrica, possuem maior eficiência no uso da água, por apresentarem um menor tamanho dos poros estomáticos, condicionando assim, uma menor perda de água por transpiração (BOEGER e WISNIEWSKI, 2003; SOUZA et al. 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013). No caso das mudas de *C. langsdorffii*, a redução na abertura dos estômatos foi uma resposta rápida ao déficit hídrico, estratégia adotada para evitar a perda de água diante do estresse, levando, entretanto, à redução da taxa transpiratória além da fotossintética.

As plantas exibem grande variedade de respostas moleculares, celulares, fisiológicas e metabólicas que podem garantir sua sobrevivência sendo que para a maioria das espécies vegetais, o estresse hídrico promove diminuição no número de estômatos, espessamento das paredes celulares e espessura da cutícula (LISAR et al., 2012) porém, as repostas são ainda controversas. Sob déficit hídrico, cultivares de *Zea mays* L. apresentaram maior número de estômatos (SOUZA, 2012) enquanto que genótipos de *Spondias tuberosa* A. apresentaram reduções no índice estomático e na abertura dos estômatos (SILVA et al., 2009).

A atividade da superóxido dismutase (SOD), independentemente de ser avaliadas nas folhas ou nas raízes (Figuras 7A e 7B), foi maior nos extremos de CRA avaliados, sugerindo que tais condições (25% e 100% da CRA) representam, de fato, uma situação limitante às mudas de *C. langsdorffii*. Quanto a peroxidase (POD) (Figuras 7C e 7D), observa-se que nas raízes sua atividade foi mais intensa na condição de 25% da CRA quando comparada as demais, contudo, nas folhas, o comportamento foi inverso, pois à medida que se aumentava a disponibilidade de água, maior a sua atividade. Tal fato sugere que diferentes partes da planta respondem de modo distinto aos mecanismos de proteção

ao estresse, e no caso específico da POD isso pode ser decorrência do seu polimorfismo. Deste modo, essa enzima exerce em cada local (órgão ou compartimento celular) funções diversas, o que contribui para a melhor adaptação do vegetal no meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2008; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Quanto a atividade da catalase (CAT) nas raízes (Figura 7E), apesar dos dados não se ajustarem às equações testadas, percebe-se que os maiores valores foram, de um modo geral, registrados na condição de 25% da CRA. As mudas cultivadas sob 75% e 100% da CRA apresentaram menor atividade da CAT ao longo do período experimental, exceto aos 30 dias de cultivo sob 100% CRA, o que pode ser atribuído ao fato das mudas serem ainda muito pequenas para suportar uma grande quantidade de água no substrato, o que elevou a produção de CAT como resposta a um estresse oxidativo momentâneo.

Condições abióticas estressoras podem estar relacionadas à produção das espécies reativas do oxigênio (ROS) que alteraram o metabolismo celular causando danos aos carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos e a peroxidação de lipídeos e de membranas, danificando inclusive componentes celulares como, por exemplo, o complexo do PS II, além de acarretar a perda de íons, hidrólise de proteínas e comprometimento ao DNA (SMIRNOFF, 1993; ZHANG et al., 2007; AZEVEDO NETO et al., 2008; GONDIM et al., 2010). Sabe-se, contudo, que a adaptação ao estresse hídrico pode estar relacionada à capacidade que os vegetais têm de manter elevados os níveis de antioxidantes em seus tecidos, tais como as enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX) e catalase (CAT), deste modo, tal atividade enzimática constitui-se num importante parâmetro para se quantificar as respostas das plantas aos estresses ambientais (LONGGINI et al., 1999, SHAO et al., 2007; OLIVEIRA et al. 2008; POMPELLI et al., 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Observa-se na literatura que o estresse hídrico pode promover nas plantas a redução dos teores de pigmentos fotossintéticos devido aos danos oxidativos e assim, as plantas se protegem sintetizando carotenóides e também aumentando o teor de enzimas, como as peroxidases (EGERT e TEVINI, 2002). Ressalta-se que esse comportamento foi observado na presente pesquisa nas mudas de *C. langsdorffii*.

Interessante notar que, dentre as enzimas quantificadas nas mudas de *C. langsdorffii*, a SOD foi a que se apresentou como o parâmetro mais sensível para a detecção e proteção ao estresse nas mudas de *C. langsdorffii*. Comportamento semelhante foi observado em *Jatropha curcas* L. submetida ao déficit hídrico por Pompelli et al. (2010), entretanto, dos onze genótipos diferentes de *Triticum aestivum* L. avaliados por

Shao et al. (2007) as diferenças na expressão das enzimas antioxidantes em uma situação de estresse podem-se dar por diversos fatores, dentre eles, a expressão gênica, o local de cultivo, a pressão e a seleção natural e artificial.

CONCLUSÃO

As mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. apresentam maior eficiência de trocas gasosas, de produção de fotoassimilados, de uso da água e manutenção do aparato fotossintético quando cultivadas em substrato com 75% da capacidade de retenção de água (CRA).

Durante o período avaliado a eficiência do fotossistema II não foi alterada significativamente pelos tratamentos. As disponibilidades hídricas extremas representadas por 25% e 100% da CRA são sugestivas de estresse para a espécie nas condições estudadas e desencadeiam elevada atividade de enzimas antioxidantes na planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

AZEVEDO NETO, A. D.; GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T. Salinity and oxidative stress. **Abiotic Stress and Plant Responses**, v. 42, n. 4, p. 58-82, 2008.

BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, n.1, p.89-113, 2008.

BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 61-72, 2003.

BROETTO, F. **Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas**. São Paulo: UNESP, 2014.

CALDATO, S. L.; SCHUMACHER, M.V. O uso de água pelas plantações florestais – uma revisão. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 3, p. 507-516, 2013.

CAMPELLO, 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.

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 Pará state, Brazil. **Revista Ciências Agrárias**, v. 56, n. 3, p. 255-260, 2013.

EGERT, M.; TEVINI, M. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, n. 1, p. 43-49, 2002.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas** (Statistical Analysis Software) e planejamento de Experimentos – SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2010.

FERREIRA, M. J.; GONÇALVES, J. F. C.; FERRAZ, J. B. S. Crescimento e eficiência do uso da água de plantas jovens de castanheira-da-Amazônia em área degradada e submetidas à adubação. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 2, p. 393-401, 2012.

FLEXAS, J.; BARBOUR, M. M.; BRENDDEL, O.; CABRERA, H. M.; CARRIQUÍ, M.; DÍAZ-ESPEJO, A.; DOUTHE, C.; DREYER, E.; FERRIO, J. P.; GAGO, J. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. **Plant Science**, v. 193, n. 1, p. 70-84, 2012.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. **New Phytologist**, v. 172, n. 1, p. 73-82, 2006.

GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; 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, F. A.; GOMES-FILHO, E.; LACERDA, C. F.; PRISCO, J. T.; AZEVEDO NETO, A. D.; MARQUES, E. C. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 22, n. 2, p. 103-102, 2010.

LAGE-PINTO, F.; BERNINI, E.; OLIVEIRA, J. G.; VITÓRIA, A. P. Photosynthetic analyses of two native Atlantic Forest species in regenerative understory of eucalyptus plantation. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 24, n. 2, p. 95-106, 2012.

LI, F.; BAO, W.; WU, N.; YOU, C. Growth, biomass partitioning, and water-use efficiency of a leguminous shrub (*Bauhinia faberi* var. *microphylla*) in response to various water availabilities. **New Forests**, v. 36, n. 1, p. 53-65, 2008.

LISAR, S. T.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. In: RAHMAN, I. M. M. **Water stress**. Rijeka: InTech, 2012. p. 1-14.

LOGGINI, B.; SCARTAZZA, A.; BRUGNOLI, E.; NAVARI-IZZO, F. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected todrought. **Plant Physiology**, v. 119, n. 1, p. 1091-1099, 1999.

LORETO, F.; CENTRITTO, M.; CHARTZOULAKIS, K. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. **Plant Cell and Environment**, v. 26, n. 1, p. 595-601, 2003.

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.

MAFAKHERI, A.; SIOSEMARDEH, A.; BAHRAMNEJAD, B.; STRUIK, P.; SOHRABI, Y. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. **Australian Journal of Crop Science**, v. 4, n. 1, p. 580-585, 2010.

MAXWELL, C.; JOHNSON, G. M. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 354, p. 659-668, 2000.

NASCIMENTO, M. E. I.; BERTOLUCCI, S. K. V.; SANTOS, F. M.; SANTOS JÚNIOR, J. M.; CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação morfológica de plantas jovens de *Copaifera langsdorffii* Desf. desenvolvidas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 931-937, 2014.

OLIVEIRA, J. E. Z.; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. Caracterização isozimática e atividade de peroxidase em folhas de plantas hiperídrica, intermediária e normal de *Bidens pilosa* L. mantidas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 32-36, 2008.

POMPELLI, M. F.; BARATA-LUÍS, R.; VITORINO, H. S.; GONÇALVES, E. R.; ROLIM, E. V.; SANTOS, M. G.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; FERREIRA, V. M.; LEMOS, E. E.; ENDRES, L. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, n. 8, p. 1207-1215, 2010.

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.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant Cell Environment**, v. 25, n. 1, p. 163-171, 2002.

SALISBURY, E. J. On the causes and ecological significance of stomatal frequency with special reference to the woodland flora. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Biological Sciences**, v. 216, n. 1, p. 1-65, 1927.

SANTANA, D. G; LOBO, G. A; SALOMÃO, A. N; PEREIRA, V. J. Robustness of germination analysis methods for *Copaifera langsdorffii* Desf. (*fabaceae*) seeds. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 1, p. 160-171, 2016.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 52, n. 1, p. 119-125, 1964.

SHAO, H.; CHU, L.; WU, G.; ZHANG, J.; LU, Z.; HU, Y. Changes of some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) enotypes at tillering stage. **Colloids Surf B: Biointerfaces**, v. 54, n. 1, p. 143-149, 2007.

SILVA, C. E. M.; GONÇALVES, J. F. C.; FELDPAUSCH, T. R. Water-use efficiency of tree species following calcium and phosphorus application on an abandoned pasture, central Amazonia, Brazil. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 2, p. 189-195, 2008.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. VALE, F. H. A.; ARAÚJO, F. P. PIMENTA, M. A. Stomatal changes induced by intermittent drought in four umbu tree genotypes. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.21, n.1, p.33-42, 2009.

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

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; AMORIM NETO, M. S. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342, 2000.

SOUZA, T. C. **Aplicação de ácido abscísico (ABA) e caracterização fisiológica e anatômica em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca**. 2012. 133 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.

SOUZA, T. C.; MAGALHÃES, P. C.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M.; DA SILVA JUNIOR, J. M.; PARENTONI, S. N. Leaf plasticity in successive selection cycles of ‘Saracura’ maize in response to periodo soil flooding. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 16-24, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDES, P. D.; ANDRADE L. A.; NETO J. D. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 3, p. 307-311, 2007.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by predrought following rewatering in grass? **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 13, p. 37-49, 2009.

ZHANG, A.; JIANG, M.; ZHANG, J.; DING, H.; XU, S.; HU, X. TAN, M. Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. **The New Phytologist**, v. 175, n. 1, p. 36-50, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as respostas esperadas das diversas espécies arbóreas diante de condições de estresse hídrico, as mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. apresentam menor qualidade, trocas gasosas e perda na capacidade de recuperação do seu metabolismo fotossintético quando submetidas ao déficit hídrico e cultivadas a 100% de luminosidade bem como quando alagadas por períodos superiores a 42 dias ou quando expostas a disponibilidades hídricas extremas – 25% e 100% da capacidade de retenção de água (CRA) do substrato.

Quando submetida ao déficit hídrico, a espécie apresenta capacidade de recuperação de suas trocas gasosas se suas mudas são cultivadas em ambientes com menor luminosidade (30% e 70% de luz). Além disso, suportam o alagamento por até 42 dias, recuperando-se e atingindo valores para trocas gasosas similares ou superiores aos das mudas não alagadas. Apresentam maior eficiência de trocas gasosas e de produção de fotoassimilados, bem como melhor eficiência no uso da água e manutenção do aparato fotossintético quando cultivadas em substrato com 75% da CRA.

ANEXO



Figura 1. Emergência de *Copaifera langsdorffii* Desf. em tubetes (A e B); detalhe das folhas com coloração rosada quando novas (C) e detalhe da germinação epígea (D). Dourados-MS, UFGD, 2017.



Figura 2. Detalhe do experimento com mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da luminosidade, da irrigação e dos períodos de avaliação (Capítulo I). Disposição dos vasos e estruturas com tela para sombreamento (A); mudas cultivadas a 30% (B); 70% (C) e 100% (D) de luminosidade. Dourados-MS, UFGD, 2017.



Figura 3. Detalhe do experimento com mudas de *Copaifera langsdorffi* Desf. em função do período de alagamento e do tempo de recuperação (Capítulo II). Mudas alagadas em tanques plásticos (A e B); mudas em recuperação (C e D). Dourados-MS, UFGD, 2017.

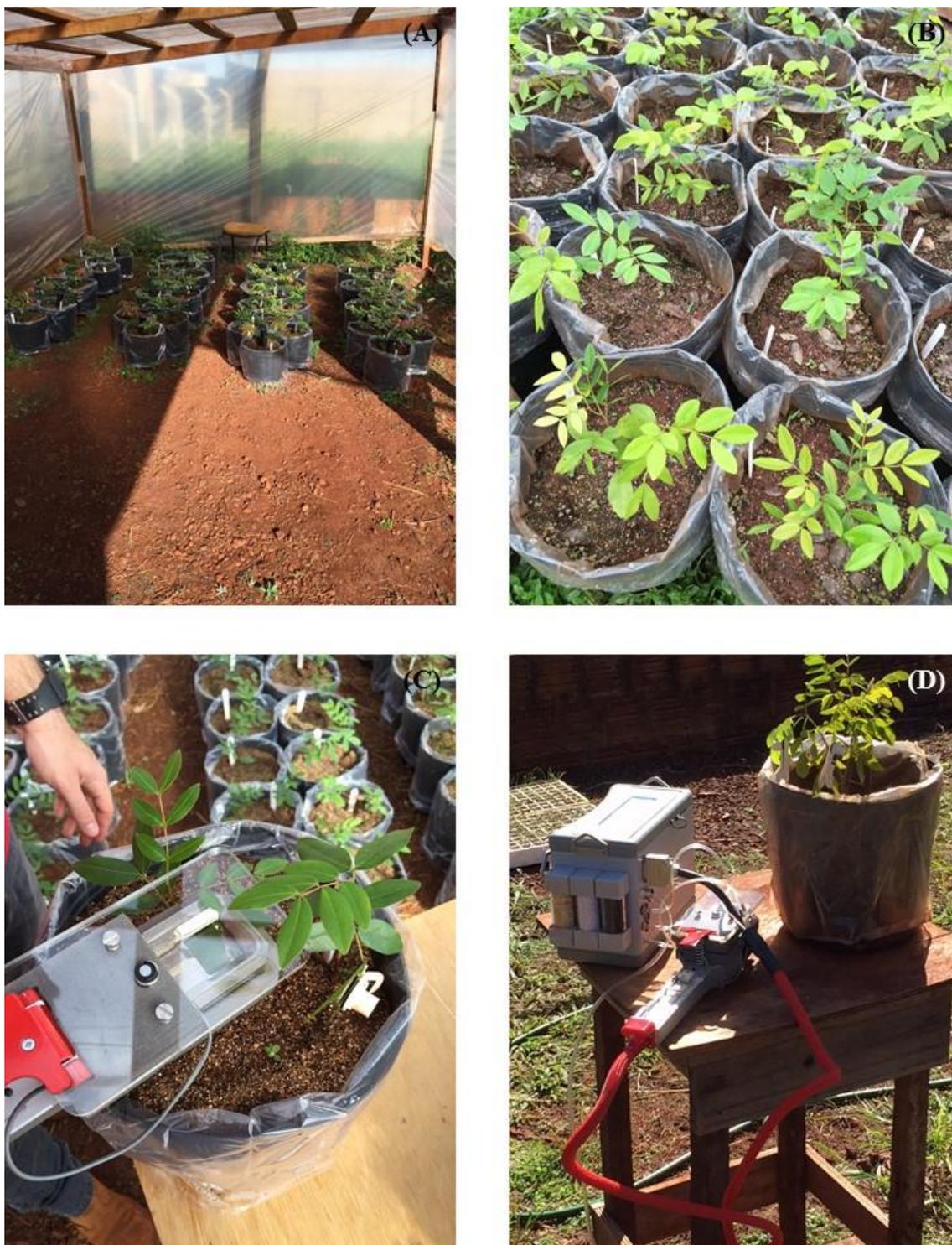


Figura 4. Detalhe do experimento com mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função de diferentes capacidades de retenção de água e do tempo (Capítulo III). Disposição dos vasos e detalhe da cobertura plástica (A); detalhe das mudas (B) e uso do IRGA para proceder leituras de trocas gasosas (C e D). Dourados-MS, UFGD, 2017.