UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

CRESCIMENTO, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ENZIMÁTICO EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO E LUMINOSO

THAIS CREMON

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2018

CRESCIMENTO, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ENZIMÁTICO EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO E LUMINOSO

THAIS CREMON
Engenheira Agrônoma

Orientadora: PROFª. DRª. 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 Doutora

Dourados
Mato Grosso do Sul
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C915 Cremon, Thais.

Crescimento, metabolismo fotossintético e enzimático em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob condições de estresse hídrico e luminoso. / Thais Cremon. – Dourados, MS : UFGD, 2018.

66f.

Orientador: profª. Drª. Silvana de Paula Quintão Scalon

1. Copaíba – Fotossíntese. 2. Copaíba – Estresse por déficit hídrico. 3. Copaíba – Estresse por alagamento. 4 Plantas - Sombreamento. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.
Bibliotecária: Maria Isabel Soares Feitosa - CRB1-1571

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

CRESCIMENTO, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ENZIMÁTICO EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO E LUMINOSO

por

Thais Cremon

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

Aprovada em: 09 de março de 2018

Profa. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon
Orientadora – UFGD/FCA

Prof. Dr. Munir Mauad
UFGD/FCA

Prof. Dr. José Carlos Sorgato
UFGD/FCA

Profa. Dra. Camila Kissman
UNESP

Prof. Dr. Etenaldo Felipe Santiago
UEMS

SUMÁRIO

RESUMO 6

ABSTRACT 7

INTRODUÇÃO 8

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 12

CAPÍTULO I - TROCAS GASOSAS E ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE E APLICAÇÃO DE ABA 15

- **RESUMO** 15
- **ABSTRACT** 15
- **INTRODUÇÃO** 16
- **MATERIAL E MÉTODOS** 17
- **RESULTADOS** 19
- **DISCUSSÃO** 30
- **CONCLUSÃO** 33
- **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** 34

CAPÍTULO II - TROCAS GASOSAS E ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB ALAGAMENTO E SOMBREAMENTO 38

- **RESUMO** 38
- **ABSTRACT** 38
- **INTRODUÇÃO** 39
- **MATERIAL E MÉTODOS** 40
- **RESULTADOS** 42
- **DISCUSSÃO** 56
- **CONCLUSÃO** 60
- **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** 60

CONSIDERAÇÕES FINAIS 65

APÊNDICES 66

CRESCIMENTO, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ENZIMÁTICO EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO E LUMINOSO

RESUMO - A *Copaifera langsdorffii* Desf., popularmente conhecida como copaíba, é uma árvore com ampla distribuição no território brasileiro, surgindo desde a Amazônia até as regiões Centro-Oeste e Sudeste, o que a torna ocorrente nos mais diversos ambientes como florestas, terras alagadas, margens inundáveis dos rios até as matas de cerrado da região central do Brasil, sugerindo que a espécie tem uma ampla adaptação e capacidade de sobrevivência em condições de estresse. Diante disso, objetivou-se neste trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *C. langsdorffii* submetidas a diferentes condições de estresse hídrico e disponibilidade luminosa. Para isso, foram realizados dois experimentos. No primeiro, foram avaliadas as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade de enzimas antioxidantes de mudas submetidas a déficit hídrico intermitente com aplicação de 0, 10 e 100 µM de ABA, além do potencial de recuperação do status fisiológico após a suspensão da condição estressante. Ao final do período experimental, observou-se queda do desempenho em todos os aspectos fisiológicos de mudas durante os períodos de suspensão da irrigação, com piores valores encontrados nas mudas não irrigadas e que não receberam aplicação de ABA. A aplicação de ABA mostrou-se eficiente para a obtenção de melhores valores de trocas gasosas, da eficiência do fotossistema II e da atividade de enzimas antioxidantes. As mudas sobreviveram em todos os tratamentos aos quais foram submetidas. No segundo experimento foram avaliados o crescimento inicial, trocas gasosas, eficiência do aparato fotossintético e a atividade de enzimas antioxidantes de mudas alagadas por 0, 45 e 90 dias sob 30%, 70% e 100% de luminosidade, e o potencial de recuperação dessas características após a suspensão do alagamento. Ao final do experimento observou-se que durante os períodos que foram conduzidas sob alagamento, as mudas apresentaram menor crescimento, trocas gasosas, da eficiência do fotossistema II e maior atividade de enzimas antioxidantes em todas as disponibilidades de luz às quais foram submetidas. *C. langsdorffii* não recupera a maior parte das características avaliadas após a suspensão do alagamento, no entanto, a ausência de mortalidade indica potencial de recuperação, tornando necessária a avaliação da recuperação das plantas por um período maior. A capacidade de sobrevivência de *C. langsdorffii* em todas as condições estressantes às quais foi submetida, indica tolerância a períodos de seca, períodos de alagamento e a diferentes disponibilidades luminosa, o que justifica a ocorrência da espécie em ambientes heterogêneos.

PALAVRAS-CHAVE: Aparato fotossintético, alagamento, déficit hídrico, sombreamento.

GROWTH, PHOTOSYNTHETIC AND ENZYMATIC METABOLISM IN SEEDLINGS OF *Copaifera langsdorffii* Desf. UNDER CONDITIONS OF WATER AND LIGHT STRESS

ABSTRACT - *Copaifera langsdorffii* Desf., popularly known as copaíba, is a tree with wide distribution in the Brazilian territory, originating from the Amazon to the Midwest and Southeast regions, which makes it occurs in the most diverse environments such as forests, wetlands, flooded river banks and the cerrado forests of central Brazil, suggesting that the species has a broad adaptation and survival capacity under stress conditions. Therefore, the objective of this work was to evaluate the gas exchange, the efficiency of the photosynthetic apparatus and activity of antioxidante enzymes of *C. langsdorffii* seedlings submitted to different conditions of water stress and light availability. For this, two experiments were carried out. In the first one, gas exchanges, efficiency of the photosynthetic apparatus and activity of antioxidante enzymes of seedlings submitted to intermittent water deficit with application of 0, 10 and 100 µM of ABA were evaluated, besides the potential of recovery of the physiological status after the suspension of the condition stressful. At the end of the experimental period, low performance was observed in all physiological aspects of seedlings during the periods of suspension of irrigation, with worse values found in the non-irrigated seedlings that did not receive ABA application. The application of ABA proved to be efficient for obtaining better values of gas exchange, the efficiency of photosystem II and the activity of antioxidant enzymes. The seedlings presented survival capacity in all the treatments to which they were submitted. In the second experiment were evaluated initial growth, gas exchanges, photosynthetic efficiency and activity of antioxidante enzymes of 0, 45 and 90 days of flooded plants under 30%, 70% and 100% of luminosity and the potential of recovery after the suspension of flooding. At the end of the experiment it was observed that during the periods that were conducted under flooding, the seedlings showed lower growth, gas exchange, efficiency of photosystem II and greater activity of antioxidant enzymes in all the light availability to which they were submitted. *C. langsdorffii* does not recover most of the characteristics evaluated after the flooding suspension, however, the absence of mortality indicates recovery potential, making necessary to evaluate the recovery of the plants for a longer period. The survival capacity of *C. langsdorffii* in all the stressful conditions to which it was submitted indicates tolerance to periods of drought, periods of flooding and different light availability, which justifies the occurrence of the species in heterogeneous environments.

KEY WORDS: Photosynthetic apparatus, flooding, water deficit, shading.

INTRODUÇÃO

O aquecimento global tem sido, há alguns anos, uma das maiores preocupações de pesquisadores de todo o mundo. A irregularidade da ocorrência e quantidade de chuvas, assim como o aumento das temperaturas, tornou-se um dos maiores desafios para a sobrevivência e produção vegetal em todo o planeta. Por influência desse evento as características clássicas das estações, como seca no inverno e chuva em todo o verão, estão a cada ano menos definidas e inundações ocasionais ou secas prolongadas passam a ser recorrentes em áreas antes não habituadas a tais situações (GARCIA et al., 2014)

Os efeitos das alterações climáticas sobre as populações naturais têm consequências importantes para o funcionamento a longo prazo do ecossistema e a distribuição da biodiversidade (CARDINALE et al., 2012; LÁZARO-NOGAL et al., 2015). A plasticidade fenotípica é um mecanismo importante pelo qual os organismos podem lidar com a heterogeneidade ambiental em populações naturais, sendo essencial para aumentar a sobrevivência e evitar extinções devido às mudanças climáticas (HOLLOWAY, 2002; HOFFMANN e SGRÒ, 2011; LÁZARO-NOGAL et al., 2015).

Ao longo das suas vidas, as plantas estão expostas a vários fatores de estresse e as características mais importantes para sua sobrevivência são adaptação ao estresse e tolerância à heterogeneidade ambiental (CERVERA e PARRA-TABLA, 2009; LUNA-FLORES et al., 2015). O estresse é uma alteração da condição fisiológica causada por fatores que tendem a perturbar o equilíbrio. A flexibilidade no metabolismo das plantas permite resposta à fatores ambientais adversos, no entanto, nem todo desvio às condições ótimas ambientais resulta em estresse. Restrições ambientais ou flutuações altamente imprevisíveis impostas aos padrões metabólicos regulares poderão causar lesões, injúrias ou desvios fisiológicos, configurando estresse (JALEEL et al., 2009).

Em condições naturais, a intensidade luminosa é um fator versátil e variações na qualidade e quantidade, presença ou ausência de luz irão influenciar no desenvolvimento da planta (DUTRA et al., 2015; FANTI e PEREZ, 2003). Somado a isso, os extremos na disponibilidade de água (secas e inundações) aumentaram em freqüência e intensidade nos últimos 50 anos em todo o mundo (BAILEY-SERRES et al., 2012) e essas mudanças climáticas incrementam a importância do estudo das adaptações que garantem a manutenção dos ecossistemas e da biodiversidade (GARCIA et al., 2014; HOOPER et al., 2012).

A luz é um fator ambiental altamente heterogêneo que influencia o crescimento e a sobrevivência de plantas. Como o sombreamento em comunidades naturais resulta principalmente do dossel de plantas, a composição e a dinâmica das comunidades vegetais são causa e também consequência da heterogeneidade luminosa. Os gradientes de luz ocorrem tanto dentro das próprias copas das plantas individualmente, quanto dentro do dossel, o que faz com que todas as plantas estejam expostas a pelo menos algum grau de sombra ao longo da vida (VALLADARES e NIINEMETES, 2008).

A tolerância à sombra é um conceito ecológico que se refere à capacidade de uma dada planta de tolerar baixos níveis de luz. Do ponto de vista fisiológico, a tolerância à sombra é definida como a luz mínima sob a qual uma planta pode sobreviver. Uma medida simples da tolerância à sombra é, de fato, o ponto de compensação de luz. A "hipótese de ganho de carbono" define a tolerância à sombra como a maximização da captura e uso da luz na fotossíntese juntamente com a minimização dos custos respiratórios para a sobrevivência. A nível foliar, a hipótese de ganho de carbono sugere que as espécies tolerantes quando submetidas à sombra têm aumento nos teores de clorofila foliar, maior capacidade fotossintética e maior área foliar (VALLADARES e NIINEMETES, 2008).

O estresse hídrico ocorre sob duas condições, quando há uma falta ou saturação de água no solo. No primeiro caso chama-se estresse por déficit hídrico (LUNA-FLORES et al., 2015) e o segundo é conhecido como estresse por alagamento, inundação, anoxia ou hipoxia (ASHRAF, 2012) e os mecanismos de adaptação das plantas para cada caso são específicos.

As condições de saturação de água (isto é, inundação ou alagamento) reduzem drasticamente a troca de gases, tais como O_2 e CO_2, entre as plantas e o seu ambiente (BAILEY-SERRES e VOESENEK, 2008; ASHRAF, 2012), o que prejudica o crescimento e pode causar a morte prematura das plantas (LUNA-FLORES et al., 2015). As condições de déficit hídrico causam estresse nas plantas quando a taxa de transpiração excede a absorção de água (LUNA-FLORES et al., 2015). O conhecimento das respostas das plantas à tais condições é essencial para uma percepção dos mecanismos de resistência ou tolerância à limitação hídrica em plantas superiores.

O estresse por déficit hídrico gera uma situação em que o potencial de água da planta e seu turgor são reduzidos o suficiente para atrapalhar a execução de suas funções normais (CHAVES et al., 2002; CHAVES et al., 2003; SHAO et al., 2008),

podendo causar redução da condutância estomática, diminuição da expansão e divisão celular, redução da fotossíntese, distúrbios de metabolismo, murcha e, por fim, morte (SHAO et al., 2008; JALEEL et al., 2009).

A eficiência no uso da água (EUA) mantém o estado metabólico da planta e, assim, seu potencial de crescimento é melhorado. Ela é definida como a proporção entre a acumulação de matéria seca e o consumo de água ao longo de uma estação, assim, aumentar a EUA teoricamente pode afetar o crescimento das plantas (SHAO et al., 2008).

A plasticidade da área foliar é importante para manter a EUA nas culturas. Em diversas espécies já foi constatado que, em situação de déficit hídrico, as plantas tendem a reduzir sua área foliar total (SHAO et al., 2008; FAROOQ et al., 2009). A diminuição da área foliar pode estar diretamente relacionada à diminuição do crescimento celular e à regulação osmótica (SHAO et al., 2008).

Níveis elevados de água no solo criam condições hipóxicas dentro de um curto período de tempo. Como resultado, as raízes das plantas sofrem de anoxia, completa ausência de oxigênio, iniciando uma situação de estresse por alagamento (ASHRAF, 2012). Uma das primeiras respostas da planta ao alagamento é a redução da condutância estomática (FOLZER et al., 2006). As plantas expostas à inundação exibem limitação da captação de água por conta do aumento da resistência estomática, levando a déficit de água interno (PARENT et al., 2008). Além disso, baixos níveis de O_2 podem diminuir a condutividade hidráulica devido à menor permeabilidade das raízes, gerando um declínio substancial da taxa fotossintética líquida (ASHRAF et al., 2011). O fechamento estomático pode ser o responsável por essa diminuição na transpiração e fotossíntese, o que pode ser atribuído também a outros fatores como a redução do teor de clorofila, senescência foliar, redução da área foliar (MALIK et al., 2001) e redução da capacidade de carboxilação da RUBISCO (YORDANOVA e POPOVA, 2001) e diminuição da eficiência do fotosistema II (ASHRAF, 2012).

As árvores do gênero *Copaifera* podem ser naturalmente encontradas por toda a América Latina e também pela África Ocidental (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002). No Brasil, as copaibeiras são distribuídas desde a Amazônia até as regiões Centro-Oeste e Sudeste (PIERI et al., 2009) com ocorrência de 16 espécies dentre as 72 catalogadas no gênero (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002; LORENZI, 2009).

A *Copaifera langsdorffii* Desf. pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Caesalpinoideae*, gênero *Copaifera* (PIERRI et al., 2009; MARTINS-DA-SILVA, et al.

2008; LORENZI, 2009), é popularmente conhecida como copaíba, copaibeira, pau-de-óleo e bálsamo dos jesuítas (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002; PIERI et al., 2009; LONGUI et al., 2014). Seu óleo é chamado de óleo de copaíba ou bálsamo (LORENZI, 2009) porém, designação correta para o óleo da copaíba é a de óleo-resina (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002).

O óleo-resina extraído das copaibeiras é, há séculos, utilizado pela população indígena das Américas como cicatrizante e anti-inflamatório, chamando a atenção dos colonizadores europeus. A escassez de produtos farmacêuticos na colônia e os bons resultados da utilização do óleo pelos indígenas, popularizou-o como medicamento, tendo hoje uma comercialização extensiva pelos laboratórios farmacêuticos (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002), o que confere grande importância econômica a estas árvores.

Além do óleo, a madeira de copaíba também é bastante visada, não só para marcenaria, como também para fabricação de carvão, construção civil e naval (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002; PIERRI et al., 2009).

As árvores de *C. langsdorffii* são longevas, chegando a viver por até 400 anos, de grande porte, podendo atingir entre 25 e 40 metros de altura (LORENZI, 2009). Expressam plasticidade fenotípica, variando seu tamanho de acordo com a área de ocorrência (MARCATI et al., 2001; LONGUI et al., 2014). Podem ser encontradas nos mais diversos ambientes, desde florestas de terra firme, terras alagadas, margens inundáveis dos rios e igarapés, margens arenosas de lagos, até as matas de cerrado da região central do Brasil (HECK et al., 2012).

Considerando a ocorrência de *C. langsdorffii* acredita-se que essa espécie apresenta mecanismo metabólicos e morfológicos que garantem sua sobrevivência em diferentes ambientes. Diante disso, o objetivo deste trabalho é avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante de mudas de *C. langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes condições de estresse hídrico e disponibilidade luminosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHRAF, M. A.; AHMAD, M. S. A.; ASHRAF, M.; AL-QURAINY, F.; ASHRAF, M. Y. Alleviation of waterlogging stress in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by exogenous application of potassium in soil and as a foliar spray. **Crop Pasture Science**, v. 62, n.1, p. 25-38, 2011.

ASHRAF, M. A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.

BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 313-339, 2008.

BAILEY-SERRES, J.; LEE, S. C.; BRINTON, E. Waterproofing crops: effective flooding survival strategies**. Plant Physiology**, v. 160, n. 1, p. 1698–1709, 2012.

CARDINALE, B. J.; DUFFY, J. E.; GONZALEZ, A.; HOOPER, D. U.; PERRINGS, C.; VENAIL, P.; NARWANI, A.; MACE, G. M.; TILMAN, D.; WARDLE, D. A.; KINZIG, A. P.; DAILY, G. C.; LOREAU, M.; GRACE, J. B.; LARIGAUDERIE, A.; SRIVASTAVA, D. S.; NAEEM, S. Biodiversity loss and its impact on humanity. **Nature**, v. 486, p. 59-67, 2012.

CERVERA, C.; PARRA, V. Seed germination and seedling survival traits of invasive and non-invasive congeneric *Ruellia species* (Acanthaceae) in Yucatan, Mexico. **Plant Ecology**, v. 205, n. 2, p. 285–293, 2009.

CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSÓRIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, v. 89, p. 907-916, 2002.

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239–264, 2003.

DUTRA, T. R.; GRAZZIOTTI, P. H.; SANTANA, R. C.; MASSAD, M. D. Qualidade de mudas de copaíba produzidas em diferentes substratos e níveis de sombreamento. **Floresta**, v. 45, n. 3, p. 635 - 644, 2015.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. de A. Influência do sombreamento artificial e da adubação química na produção de mudas de *Adenanthera pavonina* L. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 1, p. 49-56, 2003.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, p. 185–212, 2009.

FOLZER, H.; DAT, J.; CAPELLI, N.; RIEFFEL, D.; BADOT, P. M. Response to flooding of sessile oak: An integrative study. **Tree Physiology**, v. 26, p. 759-766, 2006.

GARCIA, R. A.; CABEZA, M.; RAHBEK, C.; ARAÚJO, M. B. Multiple Dimensions of Climate Change and Their Implications for Biodiversity. **Science**, v. 344, p. 486-496, 2014.

HECK, M. C.; VIANA, L. A.; VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (Copaíba). **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, 82-90, 2012.

HOFFMANN, A. A.; SGRÒ, C. M. Climate change and evolutionary adaptation. **Nature**, v. 470, p. 479-485, 2011.

HOLLOWAY, G. J. Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture. **Heredity**, v. 89, p. 410, 2002.

HOOPER, D. U.; ADAIR, E. C.; CARDINALE, B. J.; BYRNES, J. E. K.; HUNGATE, B. A.; MATULICH, K. L.; GONZALEZ, A.; DUFFY, J. E.; GAMFELDT, L.; O'CONNOR, M. I. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. **Nature**, v. 000, p. 1-5, 2012.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; VAM, R. P. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. **International journal of agriculture & biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

LÁZARO-NOGAL, A.; MATESANZ, S.; GODOY, A.; PÉREZ-TRAUTMAN, F.; GIANOLI, E.; VALLADARES, F. Environmental heterogeneity leads to higher plasticity in dry-edge populations of a semiarid Chilean shrub: insights into climate change responses. **Journal of Ecology**, v. 103, p. 338–350, 2015.

LONGUI, E. L.; COSTA, N. O.; CIELO-FILHO, R.; MARCATI, C. R.; ROMEIRO, D.; RAJPUT, K. S.; LIMA, I. L.; FLORSHEIM, S. M. B. wood and leaf anatomy of *Copaifera langsdorffii* dwarf trees. **IAWA Journal**, v. 35, n. 2, p. 170–185, 2014.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2009, 384 p.

LUNA-FLORES, W.; ESTRADA-MEDINA, H.; MORALES-MALDONADO, E.; ÁLVAREZ-RIVERA. Estrés por déficit hídrico en plantas: una revisión. **Chilean Journal Of Agricultural & Animal Sciences**, v. 30, n. 1, p. 61-69, 2015.

MALIK, A. I.; COLMER, T. D.; LAMBER, H.; SCHORTEMEYER, M. Changes in physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 1121-1131, 2001.

MARCATI, C. R.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V.; BENETATI, L. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae) de floresta e cerradão. **Revista brasileira de Botânica**, v. 24, n. 3, p. 311-320, 2001.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREIRA, J. F.; LIMA, H. C. de. O gênero *Copaifera* (Leguminosae – Caesalpinioideae) na Amazônia brasileira. **Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 455-476, 2008.

PARENT, C.; BERGER, A.; FOLZER, H.; DAT, J.; CREVECOEUR, M.; BADOT, P-M.; CAPELLI, N. A novel nonsymbiotic hemoglobin from oak: Cellular and tissue specificity of gene expression. **New phytologist**, v. 177, n.1, p. 142-154, 2008.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 4, p. 465-472, 2009.

SHAO, H-B.; CHU, L-Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C-Z. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 215-225, 2008.

VALLADARES, F.; NIINEMETS, Ü. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 39, p. 237–57, 2008.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

YORDANOVA, R. Y.; POPOVA, L. P. Photosynthetic response of barley plants to soil flooding. **Photosynthetica**, v. 39, n. 1, p. 515-520, 2001.

CAPÍTULO I

TROCAS GASOSAS E ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB DÉFICIT HÍDRICO INTERMITENTE E APLICAÇÃO DE ABA

RESUMO – Objetivou-se com esse trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade de enzimas antioxidantes de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas ao déficit hídrico e à aplicação exógena de ABA e seu potencial de recuperação dessas características após a suspensão da condição estressante. As mudas foram submetidas a dois regimes de irrigação (sem restrição hídrica - *SR*; e com restrição hídrica - *CR*), três tratamentos com ácido abscísico (0, 10 e 100 μM) e avaliadas em seis períodos (Início, 1ª Fotossíntese Zero, 1ª Recuperação, 2ª Fotossíntese Zero, 2ª Recuperação e Final). Ao final do período experimental, observou-se queda do desempenho em todos os aspectos fisiológicos das mudas durante os períodos de suspensão da irrigação, sendo que os menores resultados foram encontrados nas mudas *CR* e que não receberam ABA. A aplicação de ABA proporcionou melhores índices de trocas gasosas, da eficiência do fotossistema *II* e da atividade de enzimas antioxidantes. As mudas de *C. langsdorffii* apresentaram capacidade de sobrevivência em todos os tratamentos aos quais foram submetidas.
Palavras-chave: Estresse fisiológico, fotossíntese, fitormônio.

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the gas exchange, efficiency of the photosynthetic apparatus and activity of antioxidant enzymes of *Copaifera langsdorffii* Desf. submitted to the water deficit and the exogenous application of ABA and its potential for recovery of these characteristics after the suspension of the stressful condition. The seedlings were submitted to two irrigation regimes (no water restriction - *NR* and with water restriction - *WR*), three treatments with abscisic acid (0, 10 and 100 μM) and evaluated in six periods (Start, 1st Zero Photosynthesis, 1st Recovery, 2nd Photosynthesis Zero, 2nd Recovery and Final). At the end of the experimental period, it was observed a decrease in the performance of all the physiological aspects of the seedlings during the periods of suspension of irrigation, and the lowest results were found in the *WR* seedlings that did not receive ABA. The application of ABA provided better gas exchange rates, efficiency of photosystem II and the activity of antioxidant enzymes. The *C. langsdorffii* seedlings presented survival capacity in all the treatments to which they were submitted.
Key words: Physiological stress, photosynthesis, phitormonium.

INTRODUÇÃO

A *Copaifera langsdorffii* Desf. é uma árvore pertencente à família *Leguminosae*, subfamília *Caesalpinoideae* com ampla ocorrência geográfica, sendo que sua distribuição vai desde a Amazônia até as regiões Centro-Oeste e Sudeste (LORENZI, 2009; PIERI et al., 2009). Apesar de existir utilização comercial de sua madeira, essa espécie é popular por suas propriedades medicinais, especialmente de seu óleo-resina, conhecido e utilizado há séculos pela população indígena e que hoje apresenta uma comercialização extensiva pelos laboratórios farmacêuticos (VEIGA JÚNIOR e PINTO, 2002). A ampla distribuição geográfica das árvores do gênero *Copaifera* faz com que as árvores ocorram em ambientes diversos que vão desde florestas e campos do cerrado, até áreas de mata ciliar com inundação sazonal (ALENCAR, 1982; HECK et al., 2012), o que as expõe às condições ambientais mais diversas, podendo sujeitá-las a agentes de estresse, especialmente hídrico.

O estresse caracteriza-se por ser uma alteração da condição fisiológica causada por fatores que tendem a perturbar o equilíbrio. Restrições ambientais ou flutuações altamente imprevisíveis, impostas aos padrões metabólicos regulares, poderão causar lesões, injúrias ou desvios fisiológicos, configurando estresse (JALEEL et al., 2009). As respostas das plantas, quanto tolerantes ao estresse hídrico, dependem de vias de transdução de sinal altamente reguladas com interações múltiplas que podem levar a um resultado fisiológico da prevenção do estado de estresse ou algum nível de tolerância. O hormônio ácido Abscísico (ABA) é o principal mediador dessas respostas, pois interfere na regulação do fechamento estomático, o que pode determinar a sobrevivência das plantas em baixa disponibilidade de água, além de participar de outras estratégias de resistência ao déficit hídrico, como o ajuste osmótico (OLLAS e DODD, 2016). A concentração endógena de ABA aumenta sob déficit hídrico (BLUM, 2015) e estudos com diversas espécies já demonstraram uma contribuição da aplicação exógena de ABA para a tolerância de plantas à baixa disponibilidade de água (SANSBERRO et al., 2004; TRAVAGLIA et al., 2007; TRAVAGLIA et al.; 2010, LI et al., 2011).

O estresse por déficit hídrico pode gerar uma série de respostas fisiológicas, morfológicas e bioquímicas nas plantas, como perda de turgor, redução do potencial hídrico das folhas, da condutância estomática, da concentração interna de CO_2, declínio da fotossíntese e das taxas de crescimento, diminuição da eficiência da Rubisco e

aumento da atividade de enzimas antioxidativas como Catalase, Superóxido dismutase e Peroxidase, entre outras (SHAO et al., 2008).

Considerando a ocorrência dessa espécie em ambientes sujeitos a contínuos períodos de déficit hídrico, surge a hipótese de que a espécie apresenta mecanismos fisiológicos e metabólicos que garantam sua sobrevivência e a repetição dos períodos estressantes leva à manifestação mais rápida dessas respostas. Diante do exposto, objetivou-se nesse trabalho avaliar as trocas gasosas, a eficiência do aparato fotossintético e atividade antioxidante em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas ao déficit hídrico e à aplicação exógena de ABA e seu potencial de recuperação 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 fevereiro a julho de 2017. Foram utilizadas mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. produzidas em tubetes e em viveiro telado com 30% de sombreamento (Apêndice 1). Aos 30 dias da emergência das plântulas (*DAE*), as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade para 6 litros preenchidos com substrato cuja mistura consistiu em volumes iguais de Bioplant®, areia fina e Latossolo Vermelho distroférrico (LVd) (1:1:1 v/v). Em cada vaso foram transplantadas duas mudas. Trinta dias após aclimatação (*DAA*) quando as mudas atingiram, aproximadamente, 15 cm, os vasos foram transportados para estufa tipo túnel alto, com cobertura plástica transparente e laterais com tela e o experimento foi iniciado.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 3 x 6, sendo duas condições de irrigação (sem restrição hídrica – *SR* e com restrição hídrica – *CR*), três doses de Ácido abscísico (ABA 0, 10 e 100 μM) e seis períodos de avaliação (Início, 1ª Fotossíntese Zero, 1ª Recuperação, 2ª Fotossíntese Zero, 2ª Recuperação e Final).

A irrigação das mudas foi feita individualmente a cada dois dias utilizando-se do método gravimétrico, de modo que cada vaso recebeu irrigação suficiente para atingir 75% da capacidade de retenção de água do sistema (SOUZA et al., 2000). Esse mesmo procedimento de irrigação foi adotado para as mudas sob*CR*que, após atingirem

a fotossíntese zero (1ª F0), tiveram a irrigação reestabelecida até a recuperação dos valores de fotossíntese próximos ao da planta controle. Após a 1ª Recuperação (1ª Rec), as mudas tiveram a irrigação suspendida novamente até atingir a 2ª Fotossíntese Zero (2ª F0) quando, então, tiveram o fornecimento de água reestabelecido até o final do experimento.

O ABA foi aplicado via pulverização na planta toda até o ponto de gotejamento, no mesmo dia do início dos tratamentos de suspensão da irrigação. As soluções foram preparadas a partir de uma solução- estoque com concentração de 1 mM de ABA (Apêndice 2).

As avaliações foram realizadas no começo do período experimental (Início – 0 dias) e sequencialmente quando observada, em algum dos tratamentos, uma condição de fotossíntese próxima a zero (1ª e 2ª F0 – 28 e 82 dias) e de recuperação dessa condição de fotossíntese zero (1ª e 2ª Rec – 46 e 104 dias) e uma ao fim do experimento (Final – 165 dias).

A cada dois dias foram avaliadas as taxas fotossintética (*A*) e transpiratória (*E*); condutância estomática (*gs*); concentração interna de gás carbônico (*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/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, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas, de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas, sendo considerados apenas os dados medidos sob fluxo fotossintético de fótons (*FFF*) maior que 700 Mmol m^{-2} s^{-1}.

Em todos os períodos, as mudas foram avaliadas quanto ao potencial hídrico das folhas (Ψw) 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 11horas da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander (PortablePlantWater Status Console - modelo 3115), imediatamente após a coleta das folhas. O índice de clorofila (*SPAD*) foi mensurado com o medidor de clorofila Konica-Minolta 502; 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 fluorímetro portátil modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA).

Também foram avaliados: a atividade das enzimas antioxidativas Superóxido dismutase (*SOD*), Peroxidase (*POD*) e Catalase (*CAT*) nos tecidos das folhas e raízes, segundo a metodologia descrita por Broetto (2014); a área foliar com o integrador de área foliar LI-COR® modelo LI 3100; o número de folhas (contadas por planta, a campo) e, por fim, 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).

Os resultados foram analisados utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2010). Os dados foram submetidos à análise de variância e os efeitos significativos para as médias de condição de irrigação, de cada dosagem de ABA, e de tempo de avaliação foram submetidas, respectivamente, aos testes T de Bonferroni, Tukey, 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 as condições de irrigação, doses de ABA e os períodos de avaliação para potencial hídrico das folhas (Ψw), eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema *II* (F_V/F_O), atividade enzimática de *SOD* nas folhas e raízes, de *POD* nas raízes e de *CAT* nas folhas, área foliar, *IQD*, número de folhas e clorofila das mudas de *C. langsdorffii*. Interações duplas ($p<0,05$) entre as doses de ABA e os períodos de avaliação e entre as condições de irrigação e os períodos de avaliação foram observadas para eficiência quântica potencial do fotossistema *II* (F_V/F_M) e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema *II* (F_O/F_M). Também foram observadas interações duplas entre as condições de irrigação e os períodos de avaliação para atividade enzimática de *POD* nas folhas e de *CAT* nas raízes.

O *Ψw* foi menor nas mudas *CR* sendo o período mais crítico observado quando as mudas atingiram a 1ª e 2ª F0 (respectivamente aos 27 e 82 dias) e, nestes

períodos de avaliação, as mudas sob *CR* que não receberam a aplicação de ABA apresentaram o menor valor (Figura 1).

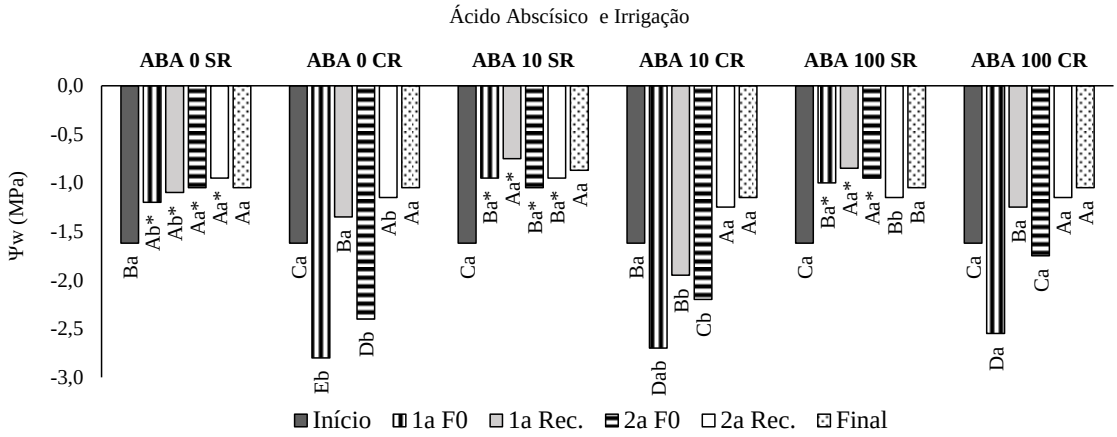

Figura 1. Potencial hídrico das folhas (*Ψw*) de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição de ABA e irrigação (Scott Knott, p<0,05); letras minúsculas comparam as condições de ABA 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 dose de ABA (T de Bonferroni, p<0,05).

A fotossíntese (*A*) foi menor nas mudas sob os tratamentos *CR* durante os períodos de 1ª e 2ª F0. Ao longo do período experimental, as mudas *CR* que não receberam ABA apresentaram as menores *A*. Após a 2ª Rec até a avaliação Final, todos os tratamentos apresentaram *A* que não variam significativamente entre si (Figura 2A).

Durante todo o período experimental, as maiores *E* foram observados nas mudas *SR*. As mudas *CR* e que não receberam ABA apresentaram as menores médias, especialmente nos períodos de 1ª e 2ª F0 (Figura 2B).

Para a eficiência intrínseca do uso da água (*EUA*), observou-se diferença estatísica apenas na 1ª F0, sendo menor nas mudas *CR* e sem ABA e próximo a 2ª F0, com menor *EUA* nas mudas *CR* com 10µM de ABA (Figura 2C).

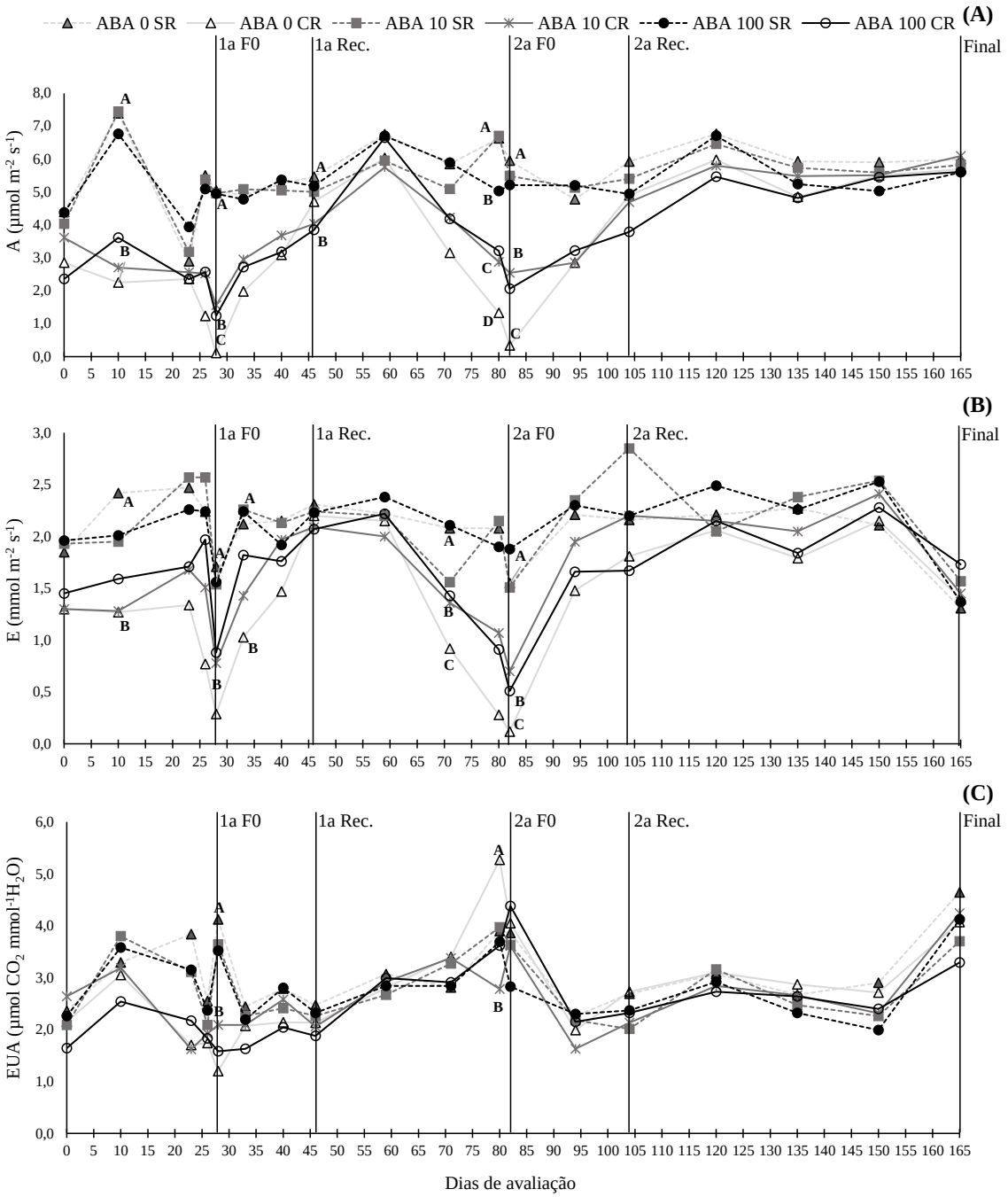

Figura 2. Fotossíntese líquida – *A* **(A)**; transpiração – *E* **(B)** e eficiência do uso da água – *EUA* **(C)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas diferentes entre si no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos avaliados (Scott Knott, p<0,05).

As mudas *CR* apresentaram as menores *Ci*, especialmente nos períodos da 1ª e 2ª F0, destacando-se aquelas que não receberam aplicação de ABA (Figura 3A). Observa-se o mesmo comportamento para eficiência na carboxilação da Rubisco (*A/Ci*),

com as menores *A/Ci* em mudas *CR* e sem aplicação de ABA, durante os períodos da 1ª e 2ª F0 (Figura 3B).

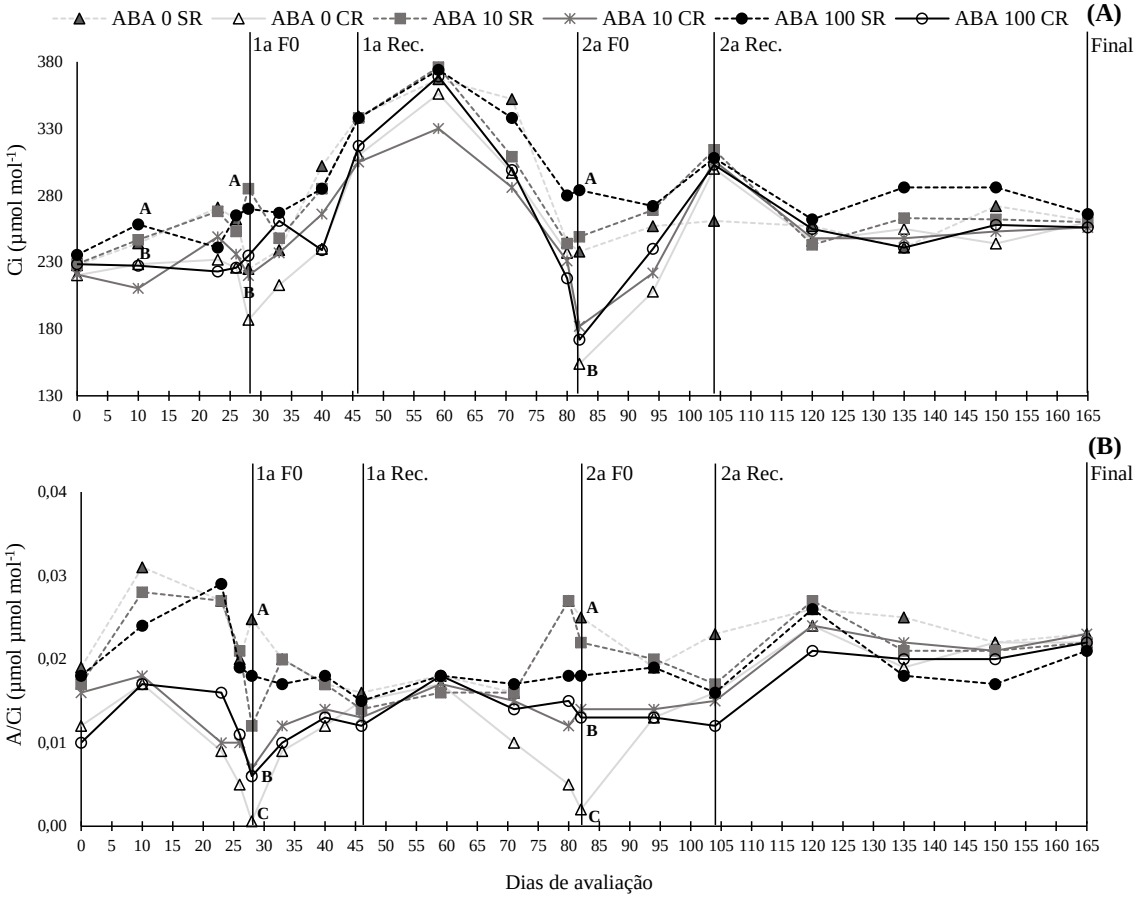

Figura 3. Concentração interna de CO_2 – *Ci* **(A)**; eficiência da carboxilação da rubisco – *A/Ci* **(B)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas diferentes entre si no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos avaliados (Scott Knott, p<0,05).

Para a condutância estomática (*gs*) houve diferença entre *SR* e *CR*, especialmente nos períodos de 1ª e 2ª F0, com destaque para as menores *gs* encontradas em *CR* sem aplicação exógena de ABA (Figura 4A). No entanto, no período de avaliação Final, não houve diferença entre os tratamentos.

As menores *EIUA* foram encontradas nas mudas sob *CR* e sem ABA, tendo seu menor valor na 1ª F0 (Figura 4B). As mudas *CR* com ABA (10 e 100µM) apresentaram as maiores *EIUA* na 2ª F0, no entanto, ao final do período experimental não foi observada diferença entre nenhum dos tratamentos avaliados.

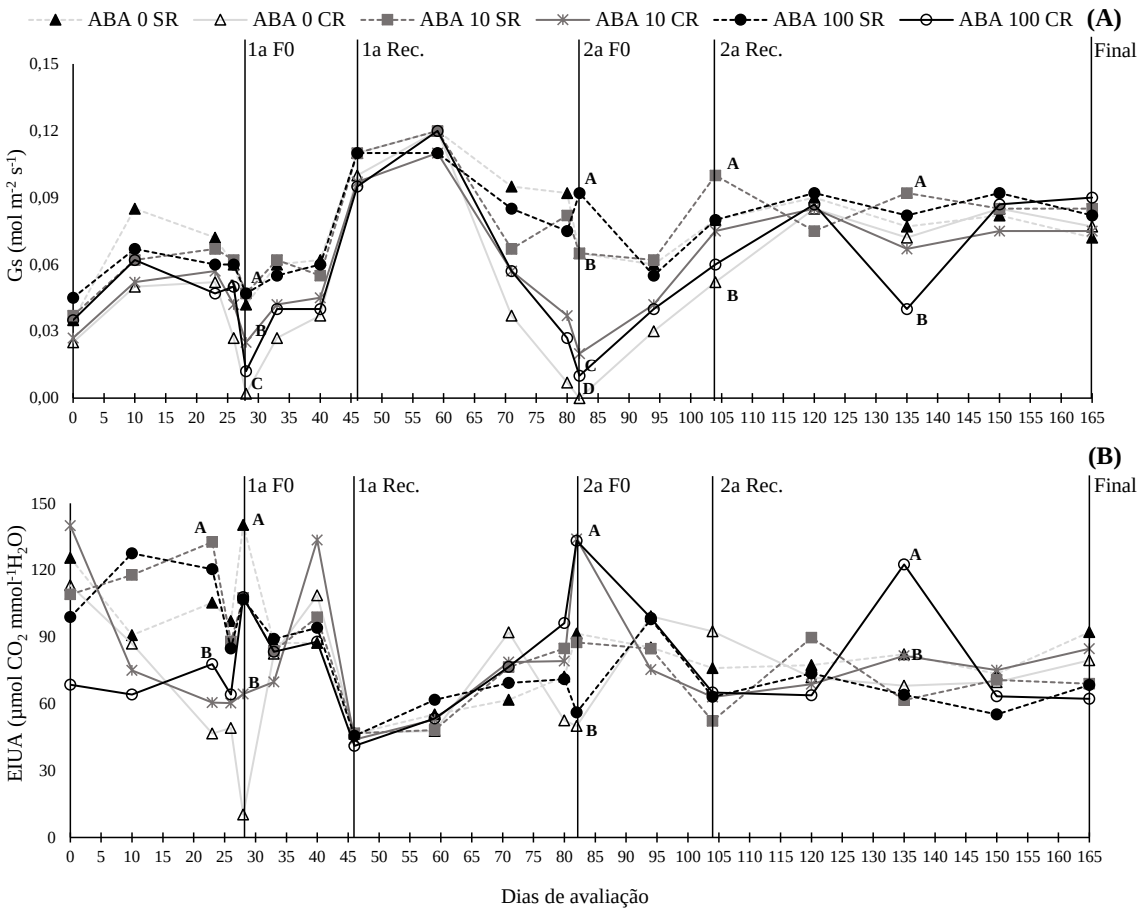

Figura 4. Condutância estomática –*gs* **(A)** e eficiência intrínseca do uso da água – *EIUA* **(B)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas diferentes entre si no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos avaliados (Scott Knott, p<0,05).

Quanto a eficiência quântica potencial do fotossistema *II* (F_V/F_M), plantas com aplicação de 10µM de ABA apresentaram os menores valores nos períodos de 1ª e 2ª F0 e 1ª Rec. Para todas as doses de ABA, os períodos de 1ª e 2ª F0 apresentaram médias menores que as demais. As mudas *CR* apresentaram médias estatisticamente menores do que as *SR* em todos os períodos, com exceção apenas do Início e do Final. Dentre as plantas *CR*, os períodos que apresentaram as menores médias foram os da 1ª e 2ª F0 (Figura 5A).

Com relação a eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_V/F_O), de modo geral as plantas *CR* apresentaram as menores F_V/F_O, independente da dose de ABA a que foram submetidas. Para essas mudas, os períodos mais críticos foram os de 1ª e 2ª F0. As plantas *CR* com aplicação de 100 µM de ABA apresentaram menores F_V/F_O na 2ª Rec e na avaliação Final quando comparadas às *SR*. Dentre as

plantas *SR*, as que receberam aplicação de 100 µM de ABA apresentaram maiores valores na maioria dos períodos avaliados (Figura 5B).

Para a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_O/F_M), as maiores médias foram encontradas nas plantas com aplicação de 10µM de ABA durante a 1ª e a 2ª F0. Ressalta-se que em todos os tratamentos com ABA as maiores F_O/F_M foram encontrados nesses mesmos períodos. As mudas *CR* apresentaram as maiores F_O/F_M em todos os períodos avaliados, com exceção apenas do Início e do Final. Dentre as plantas *CR*, os períodos de 1ª e 2ª F0 apresentaram as maiores médias (Figura 5C).

A atividade da Superóxido dismutase (*SOD*) nas folhas de *C. langsdorffii* (Figura 8A), foi maior nas mudas *CR* e com aplicação de 100µM de ABA durante os períodos de 1ª e 2ª F0. As mudas *CR* sem aplicação de ABA, quando comparadas às outras *CR*, apresentaram menor atividade de *SOD* na maior parte dos períodos avaliados, excluindo-se apenas a 2ª Rec. Na dose de 100µM de ABA, as mudas *SR* diferiram-se das *CR* apenas nos períodos de 1ª e 2ª F0. Dentre as mudas *SR*, a maior atividade de *SOD* foi encontrada nas que receberam aplicação de 100µM de ABA (Figura 6A).

Com relação a atividade de *SOD* nas raízes, todas as *CR* apresentaram médias significativamente maiores do que as *SR* em todos os períodos de avaliação, exceto no Início. Dentre as *SR*, maior *SOD* foi encontrada naquelas com aplicação de 100µM de ABA em todos os períodos, com exceção do início (Figura 6B).

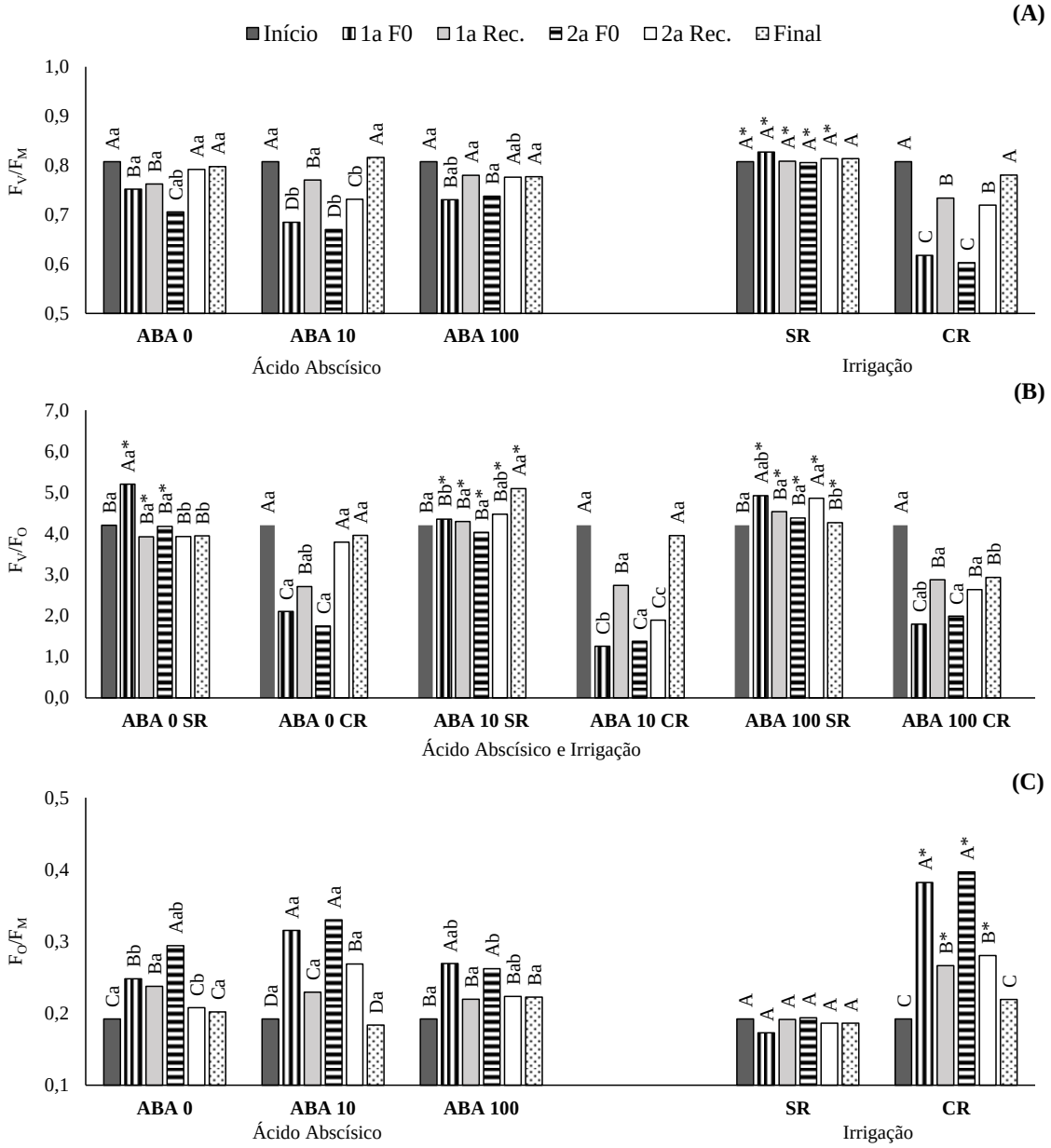

Figura 5. Eficiência quântica potencial do fotossistema II – F_V/F_M, **(A)**; eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II– F_V/F_O **(B)** e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II– F_O/F_M **(C)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição de ABA e/ou irrigação. (Scott Knott, p<0,05); letras minúsculas comparam as condições de ABA 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/ou dose de ABA (T de Bonferroni, p<0,05).

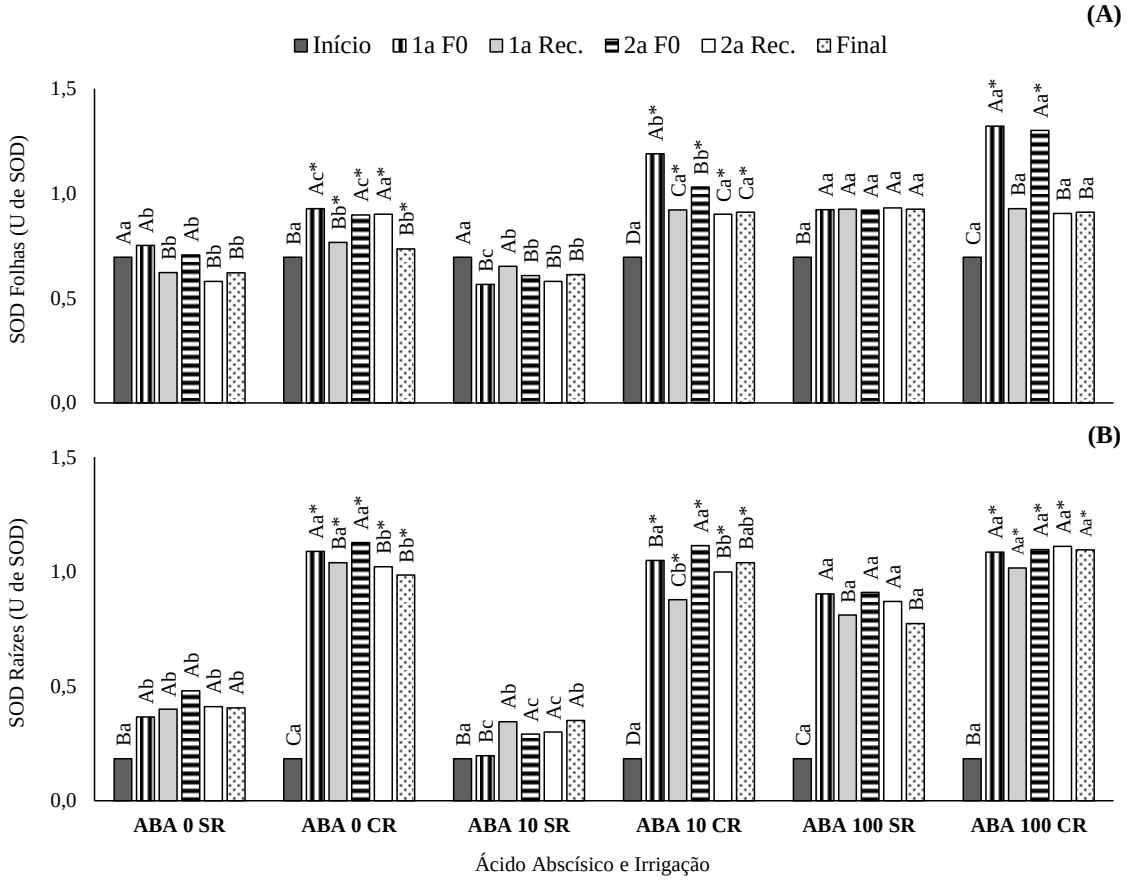

Figura 6. Atividade enzimática de Superóxido dismutase nas folhas (*SOD* folhas) **(A)** e raízes (*SOD* raízes) **(B)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição de ABA e irrigação. (Scott Knott, p<0,05); letras minúsculas comparam as condições de ABA 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 dose de ABA (T de Bonferroni, p<0,05).

A atividade da Peroxidase (*POD*) foi mais expressiva nas raízes do que nas folhas, o que pode ser ressaltado pela diferença na escala de valores do eixo y (Figuras 7A e 7B). Nas folhas, maior *POD* foi encontrada nas mudas *CR* em todos os períodos após o início. Nas raízes, os maiores valores foram encontrados na *CR* nos períodos de 1ª e 2ª F0, em todas as doses de ABA.

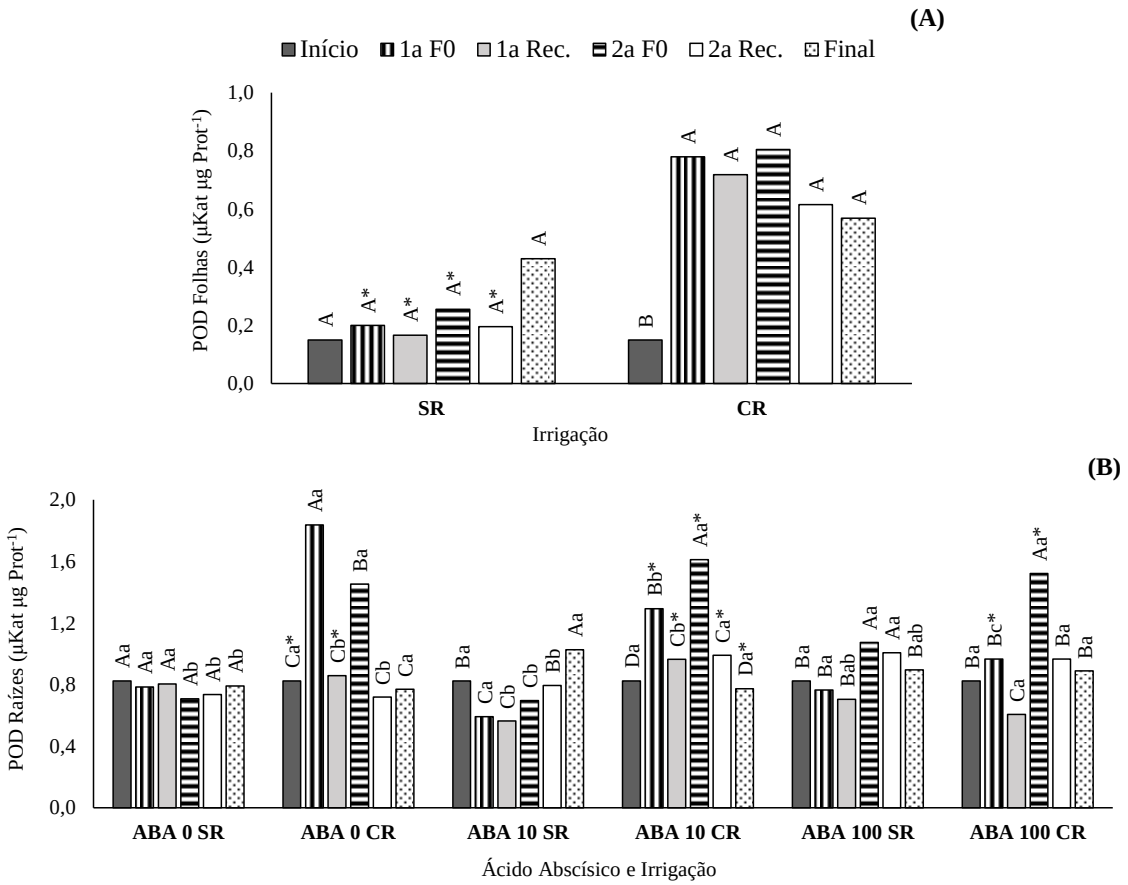

Figura 7. Atividade enzimática de Peroxidase nas folhas (*POD* folhas) **(A)** e raízes (*POD* raízes) **(B)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf.em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição de irrigação e ABA. (Scott Knott, p<0,05); letras minúsculas comparam as condições de ABA 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 dose de ABA (T de Bonferroni, p<0,05).

A atividade da Catalase (*CAT*) foi maior nas mudas *CR*, tanto nas folhas quanto nas raízes, em todos os períodos, exceto o início (Figura 8A e 8B). Nas folhas, a maior atividade de *CAT* foi encontrada na *CR* e sem a aplicação de ABA durante a 1ª e 2ª F0.

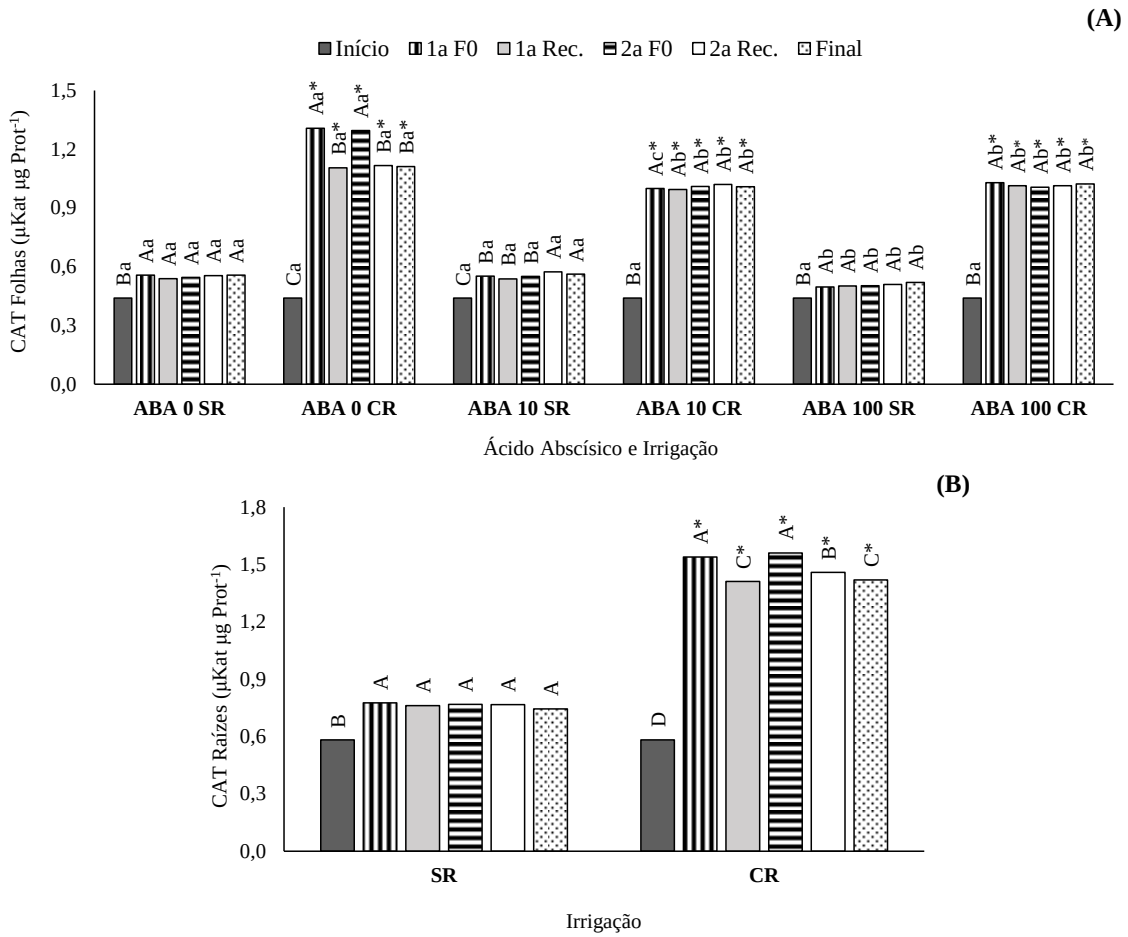

Figura 8. Atividade enzimática de Catalase nas folhas (*CAT* folhas) **(A)** e raízes (*CAT raízes*) **(B)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição de ABA e irrigação. (Scott Knott, $p<0,05$); letras minúsculas comparam as condições de ABA 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 dose de ABA (T de Bonferroni, $p<0,05$).

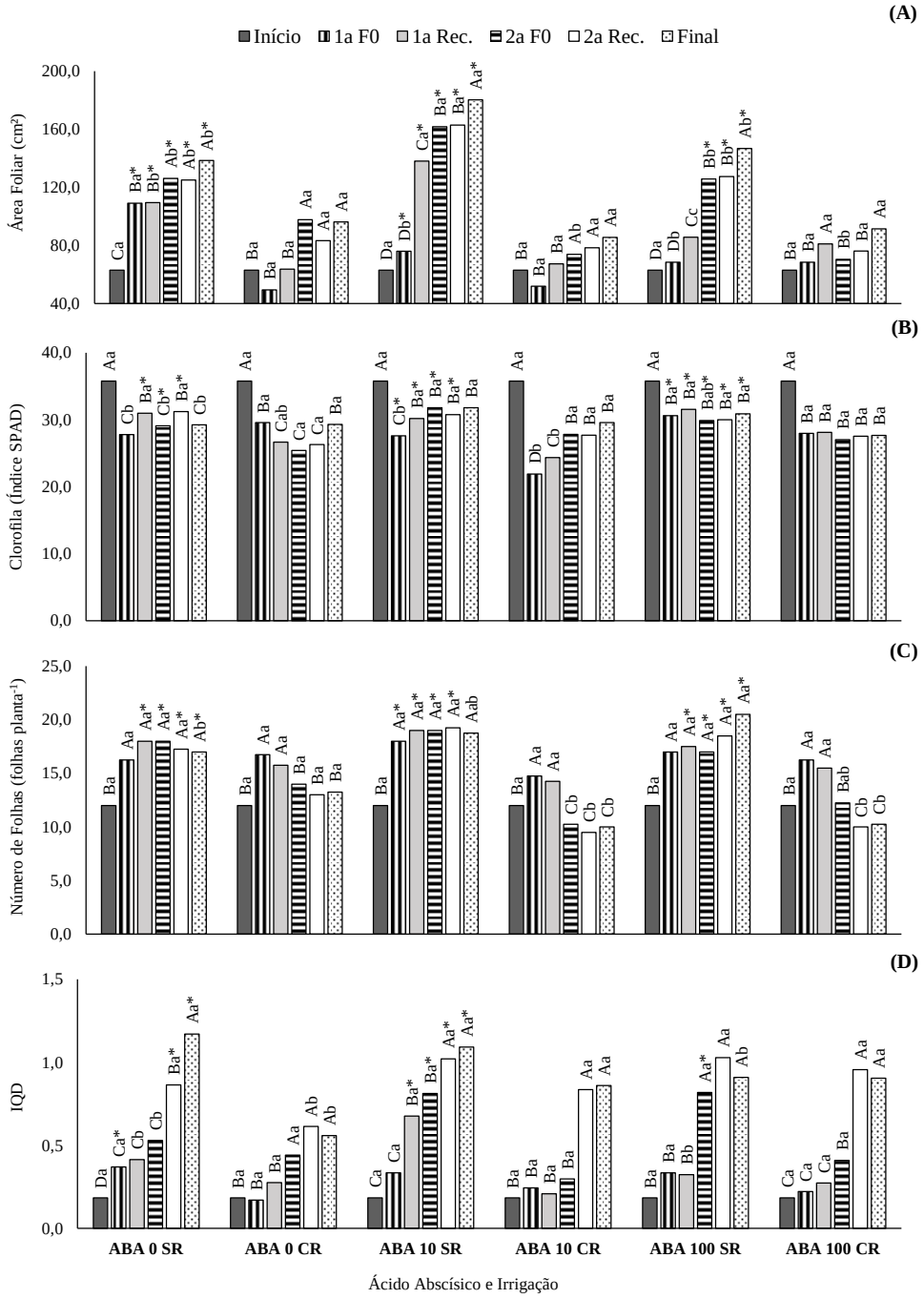

Figura 9. Área foliar – *AF* **(A)**; índice de qualidade de Dickson – *IQD* **(B)**; número de folhas **(C)** e clorofila **(D)** em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. em função da dose de ácido abscísico (ABA), da irrigação e dos períodos de avaliação. Dourados-MS, UFGD, 2017. Letras maiúsculas comparam os períodos de avaliação dentro da mesma condição de ABA e irrigação. (Scott Knott, p<0,05); letras minúsculas comparam as condições de ABA 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 dose de ABA (T de Bonferroni, p<0,05).

Para a área foliar, no geral os as mudas *SR* apresentaram médias superiores às *CR* durante todo o período experimental, exceto no início. Apenas as mudas que receberam aplicação de 100 μM de ABA, nos períodos de 1ª F0 e 1ª Rec não apresentaram diferença estatística entre as*SR*e *CR* (Figura 9A).

As plantas *SR* tiveram maior índice de clorofila (Figura 9D). Dentre as plantas *CR*, as que receberam aplicação de 100 μM de ABA tiveram maior clorofila ao longo de todo o período experimental.

Em relação ao número de folhas, as maiores médias foram encontradas nas plantas *SR*, com destaque para o tratamento com 100 μM de ABA na avaliação Final. Dentre as mudas *CR*, aquelas que não receberam aplicação de ABA apresentaram os maiores números de folhas, especialmente nos períodos de avaliação após a 1ª Rec (Figura 9C).

Quanto ao índice de qualidade de Dickson (*IQD*), observou-se valores crescentes o longo do período experimental para todos os tratamentos. No período Final de avaliação, apenas o tratamento com 100 μM de ABA não teve diferença significativa entre as mudas *SR* e as *CR*, indicando o efeito desse tratamento (Figura 9B).

DISCUSSÃO

Mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas ao déficit hídrico intermitente apresentam queda do desempenho em todos os aspectos fisiológicos nos períodos de suspensão da irrigação, com piores índices encontrados nas mudas que não receberam aplicação de ABA.

As mudas de *C. langsdorffii* Desf. apresentaram redução do Ψw especialmente sob *CR* nos períodos em que a fotossíntese atingiu valores próximos a zero, chegando a atingir -2,8 MPa nas mudas *CR* e sem a aplicação de ABA (Figura 1). Esses valores de Ψw podem ser críticos, afetando aspectos fisiológicos e processos metabólicos das plantas que podem prejudicar seu crescimento (KUMAR e SING, 1998; BENTO et al., 2016). A redução do Ψw indica que a planta perdeu água a uma taxa superior à sua capacidade de absorção e transporte, o que é corroborado pela redução da *gs* (Figura 4A). Como a tensão física aumenta no xilema quando os potenciais de água foliar caem, a via hidráulica das raízes para a parte aérea é exposta a tensões que podem comprometer a capacidade das plantas de transportar a água

(BLACKMAN et al., 2010). Entretanto, ao final do período de avaliação, todas as mudas mantidas sob restrição hídrica intermitente alcançaram valores de Ψw próximos aos do controle, mostrando a capacidade da espécie de recuperar a turgescência.

As mudas *CR* que receberam aplicação de ABA apresentaram valores significativamente maiores de Ψw nos períodos críticos (1ª e 2ª F0), com destaque às plantas que receberam aplicação de 100 µM de ABA (-2,55 e -1,75 MPa, respectivamente). A produção de ABA é amplamente determinada pelo teor médio de umidade do solo no nível da raiz. Assim, a mensagem transmitida pelo ABA na raiz pode aumentar a absorção de água em uma extremidade, enquanto a aplicação de ABA reduz a perda de água na outra (BLUM, 2015; MCADAM e BRODRIBB, 2016). Entretanto, mesmo com aplicação exógena de ABA, o Ψw atingiu valores considerados críticos de acordo com o parâmetro utilizado para a maioria das espécies (menores que -1,75 MPa) (DA MATTA et al., 2007).

A redução da *gs* em todas as mudas com períodos de irrigação suspensa, especialmente quando não receberam ABA, levou à redução da transpiração e da taxa fotossintética, levando a uma menor assimilação de CO_2 e refletindo na redução da eficiência de carboxilação da Rubisco, mostrando que o déficit hídrico comprometeu a atividade dessa enzima (Figuras 2, 3 e 4) (CHAVES et al., 2009; BERTOLLI et al. 2015). Entretanto, com a reirrigação as mudas recuperaram a eficiência de carboxilação conforme observado nos períodos de 1ª e 2ª Rec. É interessante observar que a redução da *A* não foi proporcional à redução de *gs* nas mudas *CR* e o reflexo disso pode ser observado nos maiores valores de *EIUA* nessas plantas (Figura 4B).

Os valores de referência para a eficiência quântica potencial do fotossistema *II* (F_V/F_M) variam de 0,75 a 0,80 (BAKER e ROSENQVST, 2004). Assim, valores muito abaixo desta margem indicam que os baixos valores de fotossíntese também estão relacionados aos danos causados no aparato fotossintético e não apenas à condutância estomática e, consequentemente, à quantidade de carbono interno. Essa situação pode ser observada nas plantas *CR* durante os períodos de F0 (Figura 5A).

Em todas as plantas *CR* foram observados valores críticos da eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_V/F_O) nos períodos de F0 e de Rec, chegando a atingir 1,26 e 1,38 no tratamento ABA 10 *CR* na 1ª e 2ª F0, respectivamente (Figura 5B). A F_V/F_O é uma relação utilizada para amplificar as pequenas variações detectadas na relação F_V/F_M, sendo assim um indicador das mudanças de funcionalidade do fotossistema II (REIS e CAMPOSTRINI, 2011;

BENTO et al., 2016) e seus valores de referência situam-se entre 4 e 6 para a maioria das espécies vegetais (ROHÁCEK, 2002). Os baixos valores observados no presente estudo sugerem que as mudas de *C. langsdorffii* sofreram danos no aparato fotossintético, apesar de haver recuperação quando elas foram avaliadas após a reirrigação no período Final.

A produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_O/F_M) esteve acima do ideal durante os períodos de F0 nas mudas de *C. langsdorffii* que foram submetidas à *CR* e sob doses de ABA (Figura 5C). Os valores médios de referência para a F_O/F_M variam entre 0,14 e 0,20 e situações de estresse podem ser indicadas pelo aumento dessa relação (ROHÁCEK, 2002). Ao final do período experimental, as médias não se diferenciaram significativamente do período inicial, indicando que mesmo podendo ter ocorrido danos ao aparato fotossintético os prejuízos não foram permanentes, sugerindo sua capacidade de recuperação diante de reirrigação.

A atividade das enzimas antioxidantes Superoxido dismutase (*SOD*), peroxidase (*POD*) e Catalase (*CAT*) aumentou tanto nas folhas quanto nas raízes das mudas sob *CR* e com a aplicação de ABA. A *SOD* nas folhas foi 30% maior nos períodos de Fotossíntese Zero em todos os tratamentos não irrigados e quando as mudas receberam a aplicação de ABA exógeno corroborando informações da literatura de que a aplicação exógena de ABA pode aumentar a atividades das enzimas eliminadoras de espécies reativas de oxigênio - *ERO* (LI et al., 2011). O aumento da produção de *SOD* pelas mudas de *C. langsdorffii* submetidas a déficit hídrico estendeu-se para além do período estressante, isto é, mesmo após as mudas serem reirrigadas, tanto nas folhas quanto nas raízes, mantendo valores superiores às*SR*nos mesmos períodos.

A maior atividade de *POD* nas raízes nos períodos mais críticos de déficit hídrico (1ª e 2ª F0) corroboram com o fato de essas enzimas apresentam ação antioxidante, capaz de oxidar substratos orgânicos reduzidos e proteger a célula do efeito danoso de *ERO* quando em plantas submetidas a estresse (LI et al., 2011; CAVERZAN et al., 2012; SOFO et al., 2015).

Seguindo o comportamento das outras enzimas antioxidantes avaliadas, a atividade da Catalase (*CAT*) foi maior tanto nas folhas quanto nas raízes de mudas *CR* (Figura 8 A e B). A atividade da *CAT* é fundamental na decomposição de peróxido de hidrogênio produzido quando as plantas são submetidas a déficit hídrico, servindo como um sistema eficiente de redução de *ERO* para evitar danos oxidativos induzidos por tal estressor (SOFO et al., 2015).

A capacidade de manter os níveis de enzimas antioxidantes elevados nos tecidos pode caracterizar a tolerância da espécie ao déficit hídrico, pois a atividade dessas enzimas constitui-se num importante parâmetro para se quantificar as respostas das plantas aos estresses ambientais (SHAO et al., 2007, TAIZ e ZEIGER, 2013).

O índice de clorofila reduziu significativamente em alguns períodos dos tratamentos com *CR* e com 0 e 10 μM de ABA, mantendo maiores valores nos tratamentos com 100 μM de ABA (Figura 9B). A redução da clorofila pode ser explicada pelo fato do déficit hídrico favorecer a formação de *ERO* que danificam, dentre outras estruturas celulares, os pigmentos fotossintéticos (SHARMA et al., 2012).

O número de folhas foi menor nas mudas *CR* durante quase todo o período experimental, sendo que essas plantas demonstraram uma redução do número de folhas na 1ª F0, indicando abscisão foliar (Figura 9C). A redução do número de folhas também foi mais evidente nos tratamentos com aplicação de ABA, algo já esperado, sendo esse hormônio um conhecido agente indutor de abscisão foliar (RAGHAVENDRA et al., 2010; BLUM, 2015).

Tanto a área foliar quanto o *IQD* tiveram os menores valores nas mudas de *C. langsdorffii* submetidas a déficit hídrico, embora tenham aumentado durante as avalições. O menor crescimento das mudas sob déficit hídrico pode ser considerado como uma estratégia de sobrevivência das plantas em uma situação estressante, quando elas utilizam os produtos da fotossíntese para a manutenção dos processos metabólicos básicos, deixando de destiná-los para a formação e crescimento de folhas e até mesmo para o aumento de área foliar e da parte aérea (ARAÚJO et al.,2014; XU, et al.; 2009, TAIZ e ZAIGER, 2013).

CONCLUSÃO

A aplicação de ABA nas concentrações estudadas é eficiente para a obtenção de melhores índices de trocas gasosas, da eficiência do fotossistema II e da atividade de enzimas antioxidantes.

As mudas de *C. langsdorffii* apresentam capacidade de recuperação ao déficit hídrico intermitente quanto ao Ψw, às trocas gasosas (*A*, *E*, *gs*, *Ci*, *A/Ci*, *EUA* e *EIUA*) e ao *IQD* e capacidade de sobrevivência a todos os tratamentos aos quais foram submetidas.

Diante da sua capacidade de sobrevivência e da não interrupção do desenvolvimento das plantas, a *C. langsdorffii* pode ser considerada tolerante aos níveis de estresse aos quais foi submetida, e a aplicação de ABA pode contribuir para tal tolerância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, J.C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne-Leguminosae, na Amazônia Central. 2 - Produção de óleo-resina. **Acta Amazônica**, v. 12, n. 1, p. 75-89, 1982.

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.

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.

BERTOLLI, S. C.; SOUZA, J. de; SOUZA, G. M. Caracterização fotossintética da espécie isohídrica Pata-De-Elefante em condições de deficiência hídrica. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 196-205, 2015.

BLACKMAN, C. J.; BRODRIBB, T. J.; JORDAN, G. J. Leaf hydraulic vulnerability is related to conduit dimensions and drought resistance across a diverse range of woody angiosperms. **New Phytologist**, n. 188, p. 1113-1123, 2010.

BLUM, A. Towards a conceptual ABA ideotype in plant breeding for water limited environments. **Functional Plant Biology**, n. 42, p. 502–513, 2015.

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

CAVERZAN, A.; PASSAIA, G.; ROSA, S. B.; RIBEIRO, C. W.; LAZZAROTTO, F.; MARGIS-PINHEIRO, M. Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. **Genetics and Molecular Biology**, n. 35, v. 4, p. 1011-1019, 2012.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, n. 4, p. 551–560, 2009.

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.

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

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12; p. 909-930, 2010.

HECK, M. C.; VIANA, L. A.; VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (Copaíba). **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, p. 82-90, 2012.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; VAM, R. P. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. **International journal of agriculture & biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

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.

LI, Y.; ZHAO, H.; DUAN, B.; KORPELAINEN, H.; LI, C. Effect of drought and ABA on growth, photosyntesis and antioxidant system of *Cotinus coggyria* seedlings under two different light conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p. 107–113, 2011.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2009, 384 p.

MCADAM, S. A. M.; BRODRIBB, T. J. Linking turgor with ABA biosynthesis: implications for stomatal responses to vapour pressure deficit across land plants. **Plant Physiology**, v. 171, n. 3, p. 2008–2016, 2016.

OLLAS, C. de; DODD, I. C. Physiological impacts of ABA–JA interactions under water-limitation. **Plant Molecular Biology**, v. 91, p. 641–650, 2016.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 4, p. 465-472, 2009.

RAGHAVENDRA, A. S.; GONUGUNTA, V. K.; CHRISTMANN, A.; GRILL, E. ABA perception and signalling. **Trends in Plant Science**, v. 15, p. 395–401, 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.

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

SANSBERRO, P.; MROGINSKI, L.; BOTTINI, R. Foliar sprays with ABA promote growth of Ilex paraguariensis by alleviating diurnal water stress. **Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 105–111, 2004.

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, p. 143-149, 2007.

SHAO, H-B.; CHU, L-Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C-Z. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 215-225, 2008.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-26, 2012.

SOFO, A.; SCOPA, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A. Ascorbate Peroxidase and Catalase Activities and Their Genetic Regulation in Plants Subjected to Drought and Salinity Stresses. **International Journal of Molecular Sciences,** v. 16, n. 6, p. 13561-13578, 2015.

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.

TRAVAGLIA, C.; COHEN, A.; REINOSO, H.; CASTILLO, C.; BOTTINI, R. Exogenous abscisic acid increases carbohydrate accumulation and redistribution to the grains in wheat grown under field conditions of soil water restriction. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 26, n. 3, p. 285–289, 2007.

TRAVAGLIA, C.; REINOSO, H.; COHEN, A.; LUNA, C.; TOMMASINO, E.; CASTILLO, C.; BOTTINI, R. Exogenous ABA Increases Yield in Field-Grown Wheat with Moderate Water Restriction. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 29, p. 366–374, 2010.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

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 ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM MUDAS DE *Copaifera langsdorffii* Desf. SOB ALAGAMENTO E SOMBREAMENTO

RESUMO – Objetivou-se neste trabalho avaliar o crescimento, a eficiência do aparato fotossintético e a atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. cultivadas sob diferentes sombreamentos e períodos de alagamento. As mudas foram submetidas a três disponibilidades luminosas (100%, 70% e 30% de luz), duas condições de alagamento (alagadas e controle) e três períodos de avaliação (0, 45 e 90 dias) durante o alagamento e dois períodos de avaliação durante a recuperação (45+45 e 90+45 dias). Durante os períodos que foram conduzidas sob alagamento, as mudas apresentaram menores resultados de crescimento, trocas gasosas, da eficiência do fotossistema II e da atividade de enzimas antioxidantes em todas as disponibilidades de luz às quais foram submetidas. *C. langsdorffii* apresentou capacidade de sobrevivência após o alagamento, porém, sem recuperação da maior parte das características avaliadas após 45 dias da suspensão dessa condição.
Palavras-chave: Estresse fisiológico, fotossíntese, níveis de luminosidade.

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the growth, efficiency of the photosynthetic apparatus and the antioxidant activity of *Copaifera langsdorffii* Desf. under different shade and flood periods. The seedlings were submitted to three light availability (100%, 70% and 30% light), two flood conditions (flooded and control) and three evaluation periods (0, 45 and 90 days) during flooding and two during recovery (45 + 45 and 90 + 45 days). During the periods that were conducted under flooding, the seedlings presented lower growth results, gas exchange, the efficiency of photosystem II and the activity of antioxidant enzymes in all light availability to which they were submitted. *C. langsdorffii* presented survival capacity after flooding, however, without recovery of most of the characteristics evaluated after 45 days of the suspension of this condition.
Key words: Physiological stress, photosynthesis, levels of luminosity.

INTRODUÇÃO

As inundações são um problema crescente em muitas regiões do planeta. A medida em que se aumentam as áreas de florestas substituídas por agricultura, a construção de estradas, remoção da cobertura vegetal, degradação de matas ciliares, surgimento de camadas compactadas no solo entre outros fatores ambientais, aumentam as frequências de inundações em áreas florestais ou agrícolas (DAT et al., 2004).

A saturação de água do solo afeta negativamente o crescimento e o desenvolvimento da maioria das plantas terrestres e pode até levar à morte (VISSER et al., 2003). Muitos ecossistemas, especialmente nos trópicos, estão sujeitos a episódios de inundações que podem durar horas, dias e até meses. É o caso do Cerrado brasileiro, onde ocorrem inundações na estação chuvosa, quando o lençol freático atinge ou quase atinge a superfície (OLIVEIRA et al, 2015).

A disponibilidade luminosa também tende a ser um fator altamente heterogêneo em ambientes florestais. Devido ao significado ecológico da luz para distribuição de plantas e manejo florestal, os efeitos interativos da disponibilidade de luz e os estresses ambientais na fotossíntese e crescimento de plantas foram descritos para várias espécies arbóreas (SACK, 2004; ARANDA et al., 2005; PORTSMUTH e NIINEMETS, 2006; MIELKE e SCHAFFER, 2010).

Nesse cenário, as plantas têm desenvolvido mecanismos complexos, incluindo respostas em todos os níveis de organização, desde alterações fisiológicas, morfoanatômicas, bioquímicas e etológicas (comportamentais), bem como uma combinação destas, que podem reduzir o efeito danoso do estresse e garantir o crescimento e/ou sobrevivência sob condições de alagamento (MEDINA et al., 2009; SILVA et al., 2012) e de diferentes luminosidades (CÉSAR et al., 2014; SILVA et al., 2015).

A *Copaifera langsdorffii* Desf. é uma espécie encontrada em toda América Latina, e no Brasil tem ocorrência desde a Amazônia até as regiões Centro-oeste e Sudeste (PIERI et al., 2009). Pode ser encontrada nos mais diversos ambientes, desde florestas de terra firme, terras alagadas, margens inundáveis dos rios e igarapés, margens arenosas de lagos, até as matas de cerrado da região central do Brasil (HECK et al., 2012), o que torna a espécie suscetível às mais heterogêneas condições de luminosidade e disponibilidade hídrica. Entretanto, dados sobre a interação entre alagamento e disponibilidades luminosas são escassos. Diante do exposto, objetivou-se

com essa pesquisa avaliar o crescimento, a eficiência do aparato fotossintético e a atividade antioxidante de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. cultivadas sob diferentes disponibilidades luminosas e períodos de alagamento sob a hipótese de que condições extremas de luminosidade e longos períodos de alagamento configurem estresse para a espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no município de Dourados – MS, durante os meses de outubro de 2016 a fevereiro de 2017. Foram utilizadas mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. produzidas em tubetes, em viveiro telado com 70% de luminosidade (Apêndice 1). Aos 30 dias da emergência das plântulas, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade para 6 litros preenchidos com substrato cuja mistura foi composta por volumes iguais de Bioplant®, vermiculita e Latossolo Vermelho distroférrico (LVd) (1:1:1 v/v). Em cada vaso foram transplantadas duas mudas. Após mais 30 dias de aclimatação, os vasos foram transportados aos viveiros com 70% de luz, 30% de luz e à área de pleno sol e, posteriormente, iniciou-se o experimento. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, no esquema fatorial 3 x 2 x 3, sendo 3 disponibilidades luminosas (100%, 70% e 30% de luz), 2 condições de alagamento (alagadas e controle), 3 épocas de avaliação (0, 45 e 90 dias) para o período que as plantas foram mantidas alagadas e duas épocas de avaliação (45+45 e 90+45) para o período de recuperação.

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 e, a cada 45 dias (45 e 90 dias), parte dos vasos foi retirada da condição de alagamento e avaliada (Apêndice 3). Ao final de cada período de alagamento, as mudas foram retiradas dos tanques plásticos para drenagem. Parte delas foi destinada às avaliações laboratoriais e outra parte mantida a campo com irrigação a 75% da capacidade de retenção de água (*CRA*) para a avaliação da recuperação das mudas, realizada somente aos 45 dias após a suspensão do alagamento (45+45 e 90+45). Foram mantidas mudas para avaliação controle, irrigadas a cada dois dias com a quantidade de água suficiente para atingir 75% da *CRA* do sistema (SOUZA et al., 2000).

Em cada período de avaliação (0, 45 e 90) e aos 45 dias após a suspensão do alagamento (recuperação) (45 dias de alagamento + 45 dias de recuperação e 90 dias de alagamento + 45 dias de recuperação), as mudas foram avaliadas quanto as taxas fotossintética (*A*) e transpiratória (*E*), condutância estomática (*gs*), gás carbônico interno (*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/gs*) utilizando-se o analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCi PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK); 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); o índice de clorofila utilizando o medidor de clorofila SPAD Konica-Minolta 502.(SPAD) e o potencial hídrico das folhas (Ψw) 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 11horas da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander (Portable Plant Water Status Console - modelo 3115), imediatamente após a coleta das folhas. 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, sendo considerados apenas os dados medidos sob fluxo fotossintético de fótons (*FFF*) maior que 700 mmol m^{-2} s^{-1}. A atividade das enzimas antioxidativas Superóxido dismutase, Peroxidase e Catalase nos tecidos vegetais das folhas e raízes foram medidas segundo a metodologia descrita por Broetto (2014).

Também foram avaliados: a altura de plantas, utilizando uma régua graduada considerando a distância mensurada da superfície do substrato até o meristema apical da planta; o diâmetro do coleto, com um paquímetro digital de precisão (0,001 mm); o comprimento da maior raiz, utilizando uma régua graduada; a área foliar com o integrador de área foliar LI-COR® modelo LI 3100; o número de folhas e, por fim, 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).

Os resultados foram analisados utilizando o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2014) e os dados submetidos à análise de variância. Os efeitos significativos para as médias de cada disponibilidade luminosa e tempo de avaliação durante os períodos de alagamento foram submetidos ao teste Tukey e para a condição de alagamento e tempo de avaliação nos períodos de recuperação ao teste T de Bonferroni, todos a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

A fotossíntese (*A*) apresentou interação entre os tratamentos avaliados tanto nos períodos de avaliação durante o alagamento quanto nos períodos durante a recuperação (Figura 1A), diminuindo com o alagamento das plantas e com redução mais acentuada e duradoura nas plantas alagadas sob restrição de disponibilidade luminosa (70% e 30%). Nos períodos de recuperação, as plantas sob 30% de luminosidade não apresentaram diferença entre as plantas que haviam sido alagadas e as plantas controle, indicando o restabelecimento da *A*. Esse restabelecimento não se repetiu nas outras disponibilidades luminosas (100% e 70%), nos quais as plantas que haviam sido alagadas permaneceram com menor *A* do que plantas controle.

A transpiração (*E*) apresentou efeito de interações entre condição de alagamento e tempo de avaliação tanto durante os períodos de alagamento quanto nos de recuperação, e as mudas alagadas apresentaram as menores médias em todos os tempos de avaliação (Figura 1B). Durante o alagamento houve ainda a interação sombreamento e tempo de avaliação, onde as mudas submetidas a 30% de luz apresentaram as menores médias aos 45 e aos 90 dias (Figura 1C). Nos períodos de recuperação houve ainda a interação entre condição de alagamento e sombreamento, onde as plantas controle apresentaram menor *E* na disponibilidade luminosa de 30% (Figura 1C).

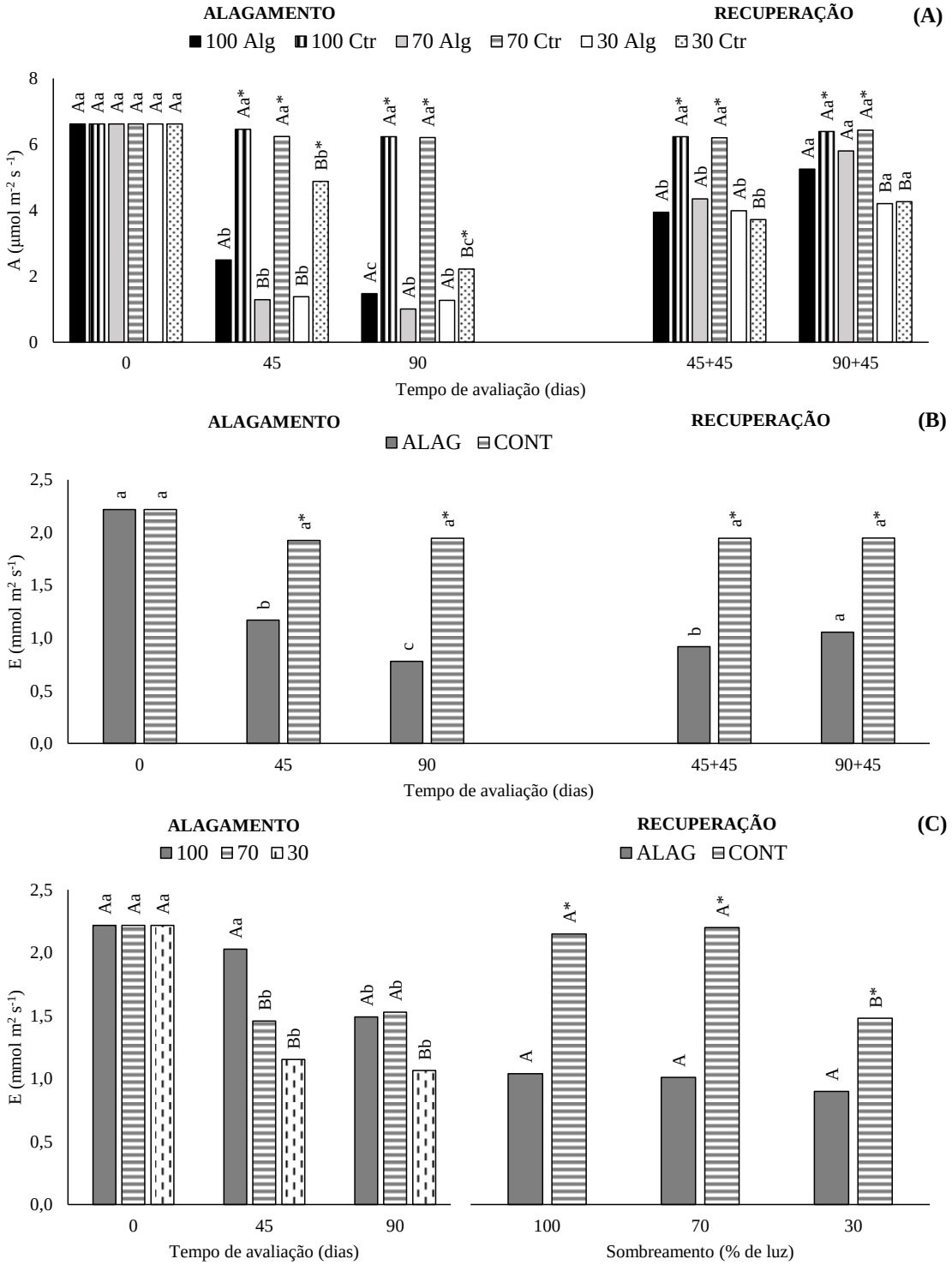

Figura 1. Fotossíntese líquida – *A* **(A)** e transpiração – *E* **(B e C)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

Nos períodos em que as plantas foram mantidas sob alagamento, a condutância estomática (*gs*) manteve-se menor e não variou entre os níveis de sombreamento e foi menor entre as plantas controle sob 30% de luz (Figura 2A). Já nos períodos de recuperação houve diferenças significativas nos fatores isolados, sendo que as plantas alagadas por 45 dias e mantidas sob 30% de disponibilidade luminosa tiveram as menores *gs* (Figura 2B).

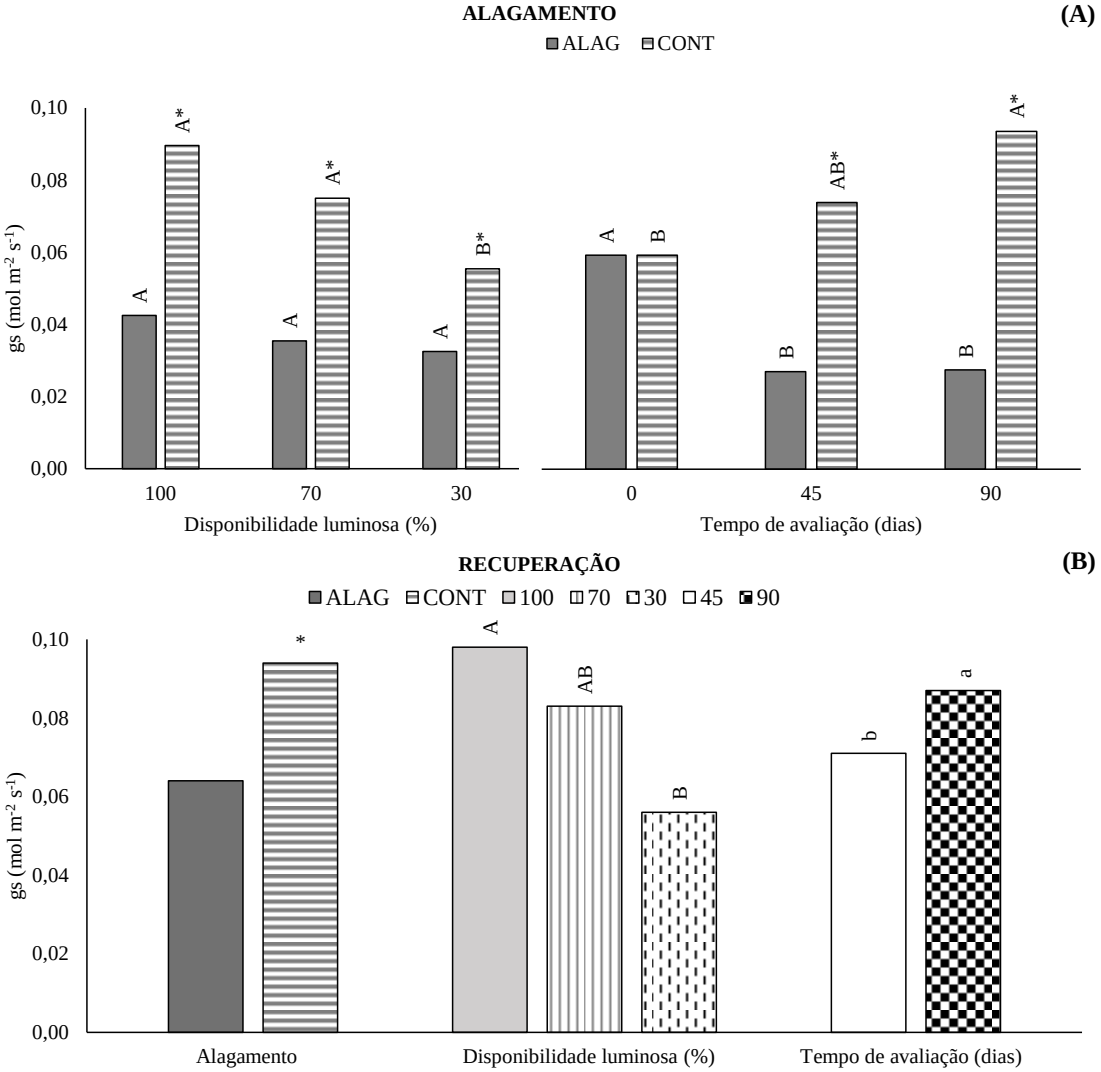

Figura 2. Condutância estomática - *gs* de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento **(A)** e aos 45 dias após sua suspensão **(B)**. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

A concentração interna de CO_2 (*Ci*) foi maior e se manteve mais elevada nas plantas que foram alagadas, com exceção das mudas mantidas a 30% de luz aos 90 dias, onde a *Ci* do controle foi maior (Figura 3A). Durante os períodos de recuperação houve interação entre % de luz e condição de alagamento (Figura 3A), com maior *Ci* nas plantas controle sob 30% de luz. A eficiência da carboxilação da rubisco (*A/Ci*) apresentou interação tripla entre os tratamentos tanto durante o período de alagamento quanto na recuperação (Figura 3B). Menores *A/Ci* foram encontradas em plantas alagadas, com exceção das plantas sob 30% de luz mantidas sob alagamento por 90 dias, tanto durante o alagamento quanto na recuperação.

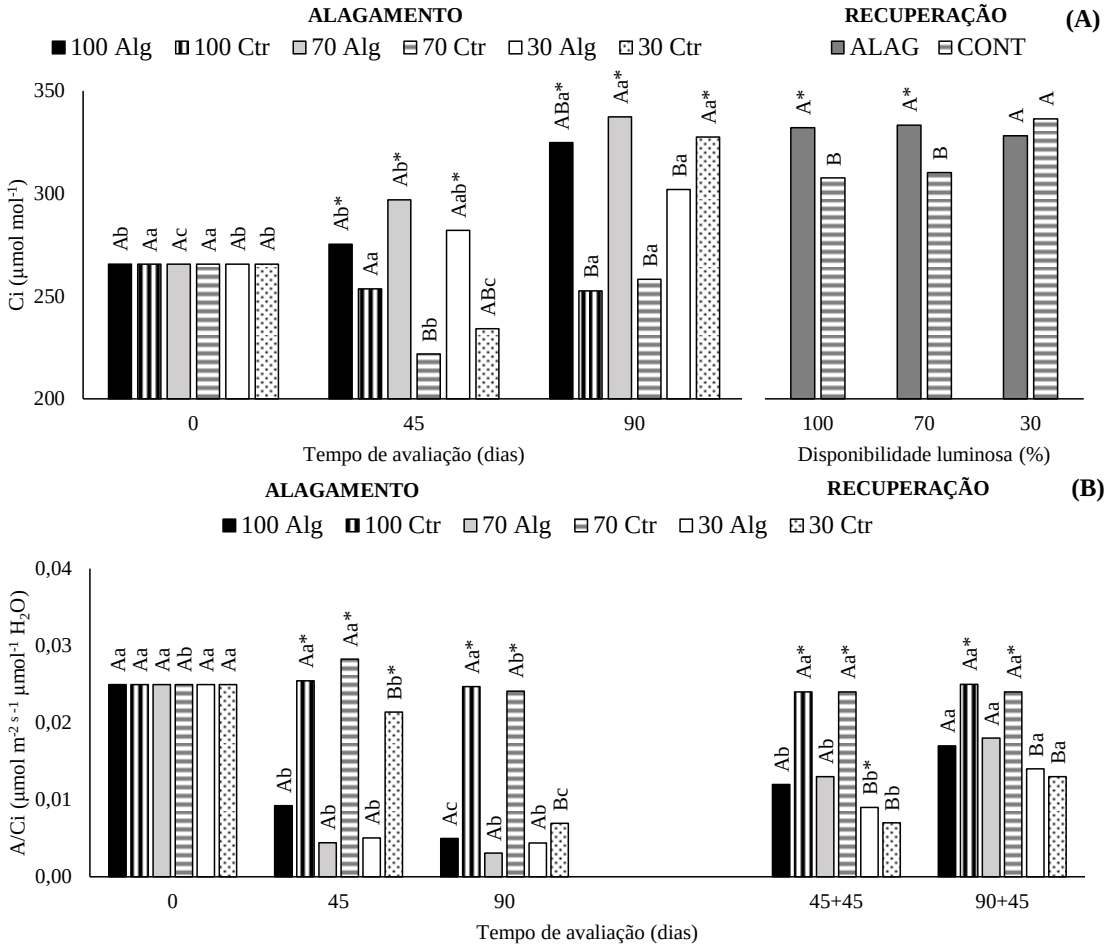

Figura 3. Concentração interna de CO_2 – *Ci* **(A)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento **(A)** e aos 45 dias após sua suspensão **(B)**. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

As plantas alagadas apresentaram menor eficiência no uso da água (*EUA*) que as plantas controle tanto aos 45 quanto aos 90 dias (Figura 4A). No período de recuperação, a *EUA* foi maior nas plantas controle sob 70% de luz aos 90 dias. A eficiência intrínseca do uso da água (*EIUA*) foi menor nas plantas mantidas alagadas por 45 e 90 dias (Figura 4B) e na recuperação, as mudas previamente alagadas apresentaram maior *EIUA* que as plantas controle.

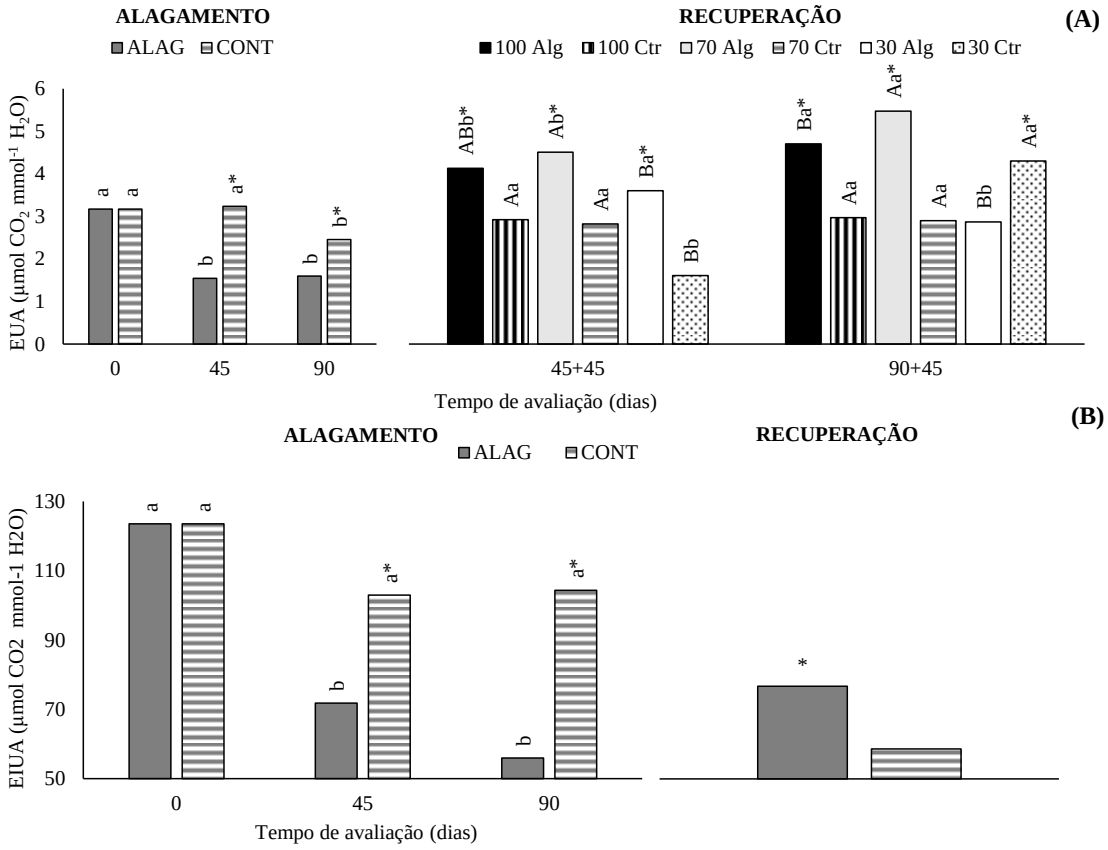

Figura 4. Eficiência do uso da água – *EUA* **(A)** e eficiência intrínseca do uso da água – *EIUA* **(B)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento **(A)** e aos 45 dias após sua suspensão **(B)**. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

As menores eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M) e eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_V/F_O) foram encontradas nas plantas submetidas ao alagamento. Já para produção quântica basal dos

processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_O/F_M) as plantas alagadas apresentaram os maiores valores (Figura 5).

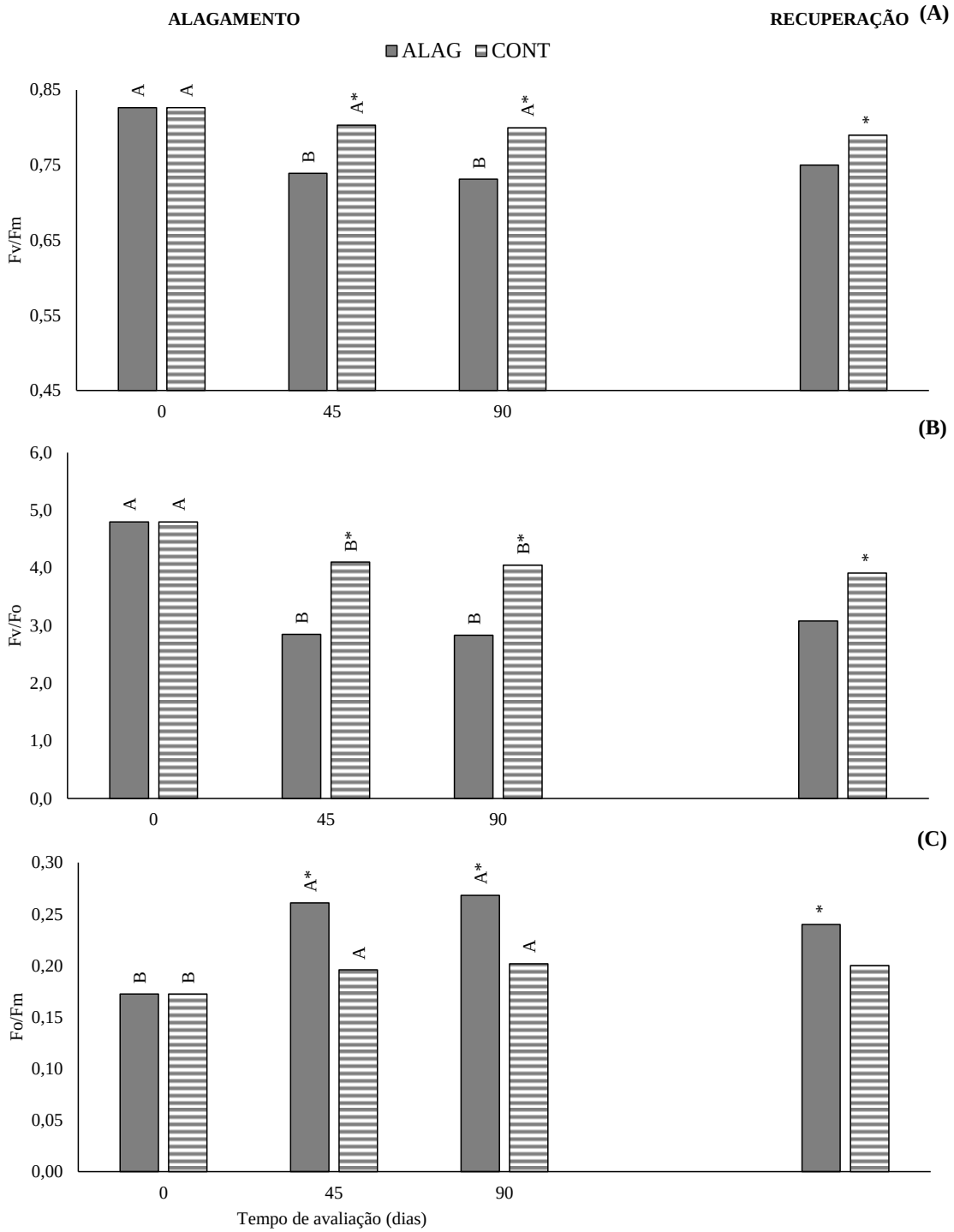

Figura 5. Eficiência quântica potencial do fotossistema II – F_V/F_M **(A)**, eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II– F_V/F_O **(B)** e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II– F_O/F_M **(C)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento **(A)** e aos 45 dias após sua suspensão **(B)**. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa

e condição de alagamento (Tukey, p<0,05 durante o alagamento e Bonferroni, p<0,05 durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, p<0,05).

A das mudas sob 70% de luminosidade e alagadas apresentaram redução significativa do índice de clorofila, no entanto, durante o período de recuperação essas mesmas mudas igualaram-se às plantas controle (Figura 6A). Sob 100 e 30 % de luz as plantas não recuperaram o índice de clorofila após a suspensão do alagamento. Durante o alagamento e na recuperação, maiores índices de clorofila foram encontrados sob 30% de luz (Figura 6 B).

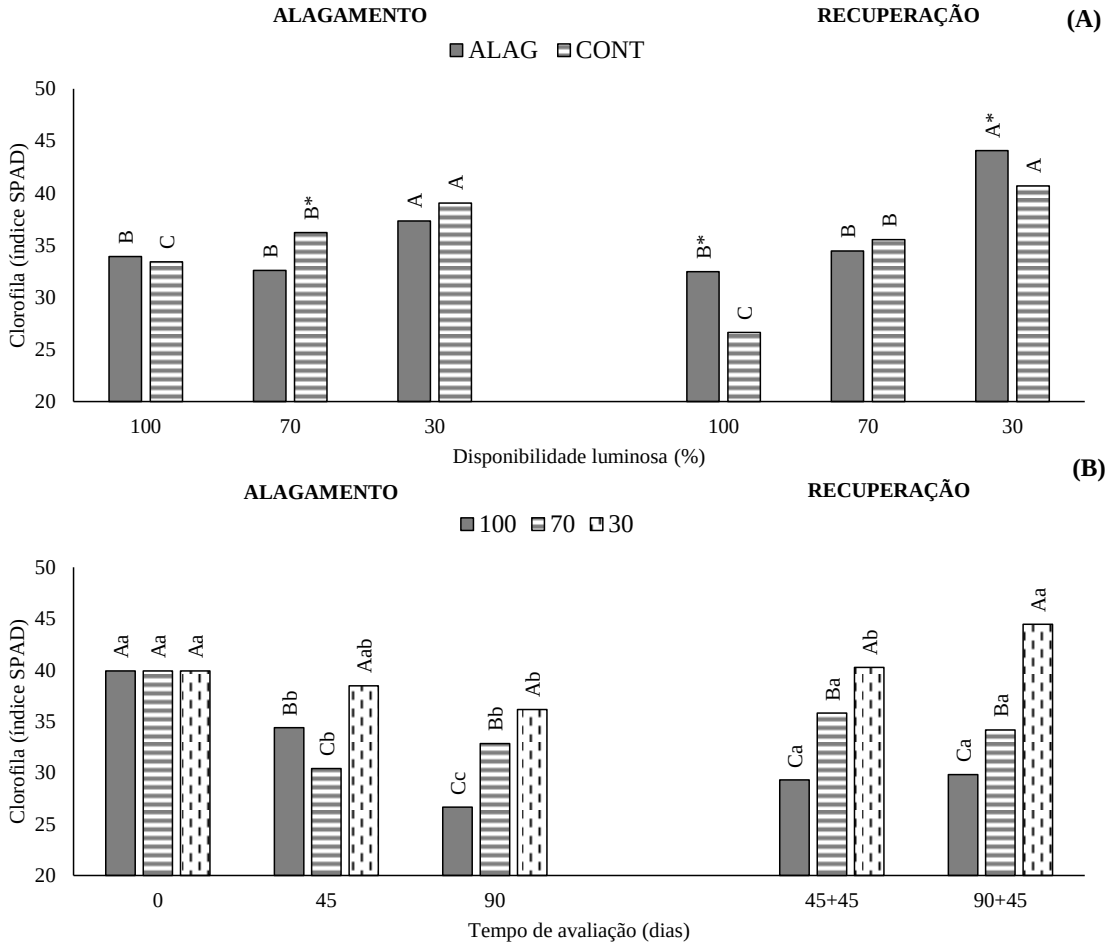

Figura 6. Clorofila – *SPAD* de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, p<0,05); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, p<0,05 durante o alagamento e Bonferroni, p<0,05 durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, p<0,05).

O potencial hídrico (*Ψw*) foi menor nas mudas alagadas tanto por 45 quanto 90 dias. O mesmo comportamento se repetiu durante a recuperação, quando apenas as mudas mantidas sob 30% de luz e alagamento por 90 dias se igualam às plantas controle após 45 dias de recuperação.

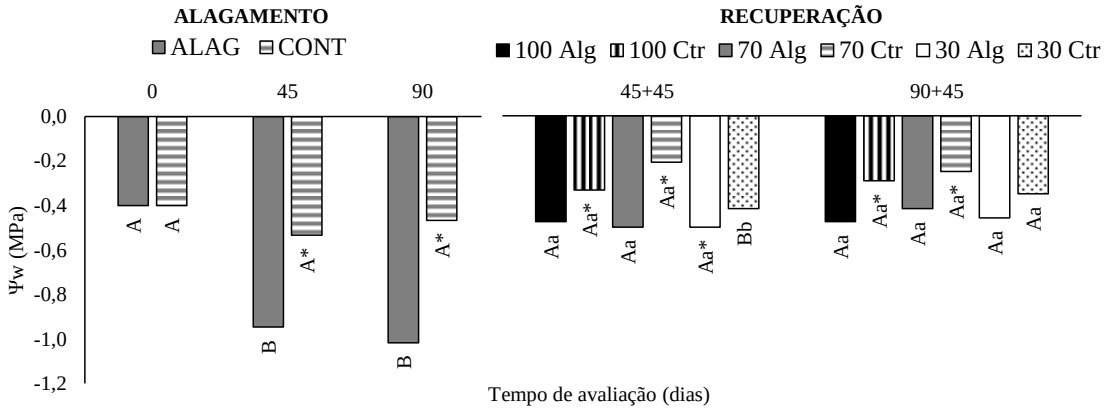

Figura 7. Potencial hídrico – *Ψw* de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

A atividade da Peroxidase nas folhas (*POD* folhas) se manteve maior nas mudas sob alagamento e após os 45 dias da suspensão do alagamento. Nas raízes, a *POD* foi maior nas mudas alagadas e sob 100 e 30% de luminosidade e manteve esse comportamento mesmo após os 45 dias da suspensão do alagamento (Figuras 8 A e 8B).

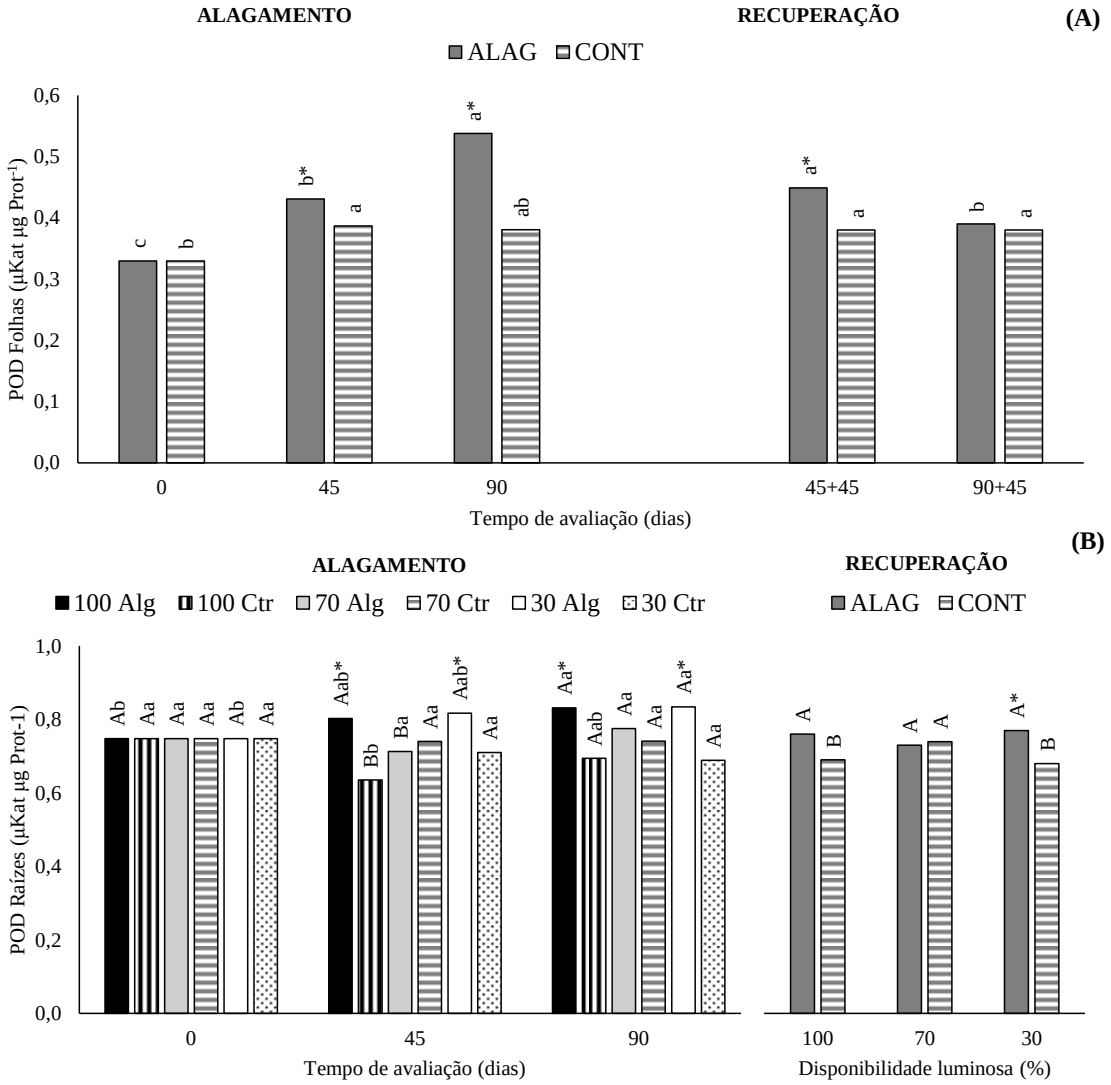

Figura 8. Atividade enzimática de Peroxidase nas folhas (*POD* folhas) **(A)** e raízes (*POD* raízes) **(B)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

A atividade da Superóxido dismutase (*SOD*) nas folhas foi maior nas plantas alagadas e aumentou com o período de alagamento, sendo assim maior aos 90 dias de alamento. Durante o período de recuperação, as mudas alagadas pelos dois períodos e mantidas sob 100% de luz mantiveram a maior atividade da *SOD* (Figura 9A). Nas raízes, plantas alagadas tiveram maior atividade de *SOD* tanto durante o período de alagamento quanto na recuperação (Figura 9B).

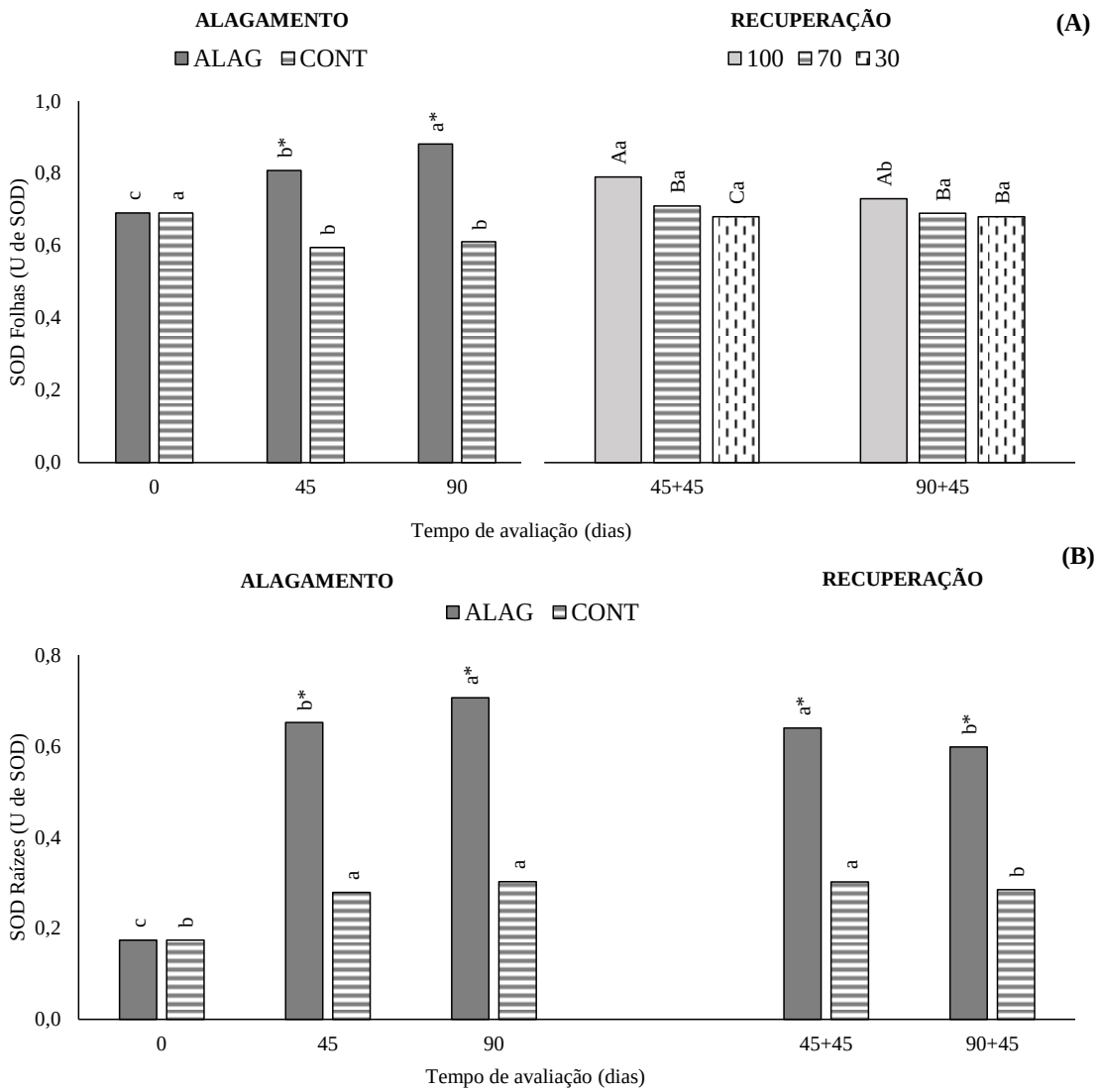

Figura 9. Atividade enzimática de Superóxido dismutase nas folhas (*SOD* folhas) **(A)** e raízes (*SOD* raízes) **(B)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

De maneira semelhante à SOD, a atividade da Catalase tanto das folhas quanto das raizes apresentou maior atividade nas mudas submetidas a alagamento e se manteve durante os 45 dias após a suspensão do alagamento.

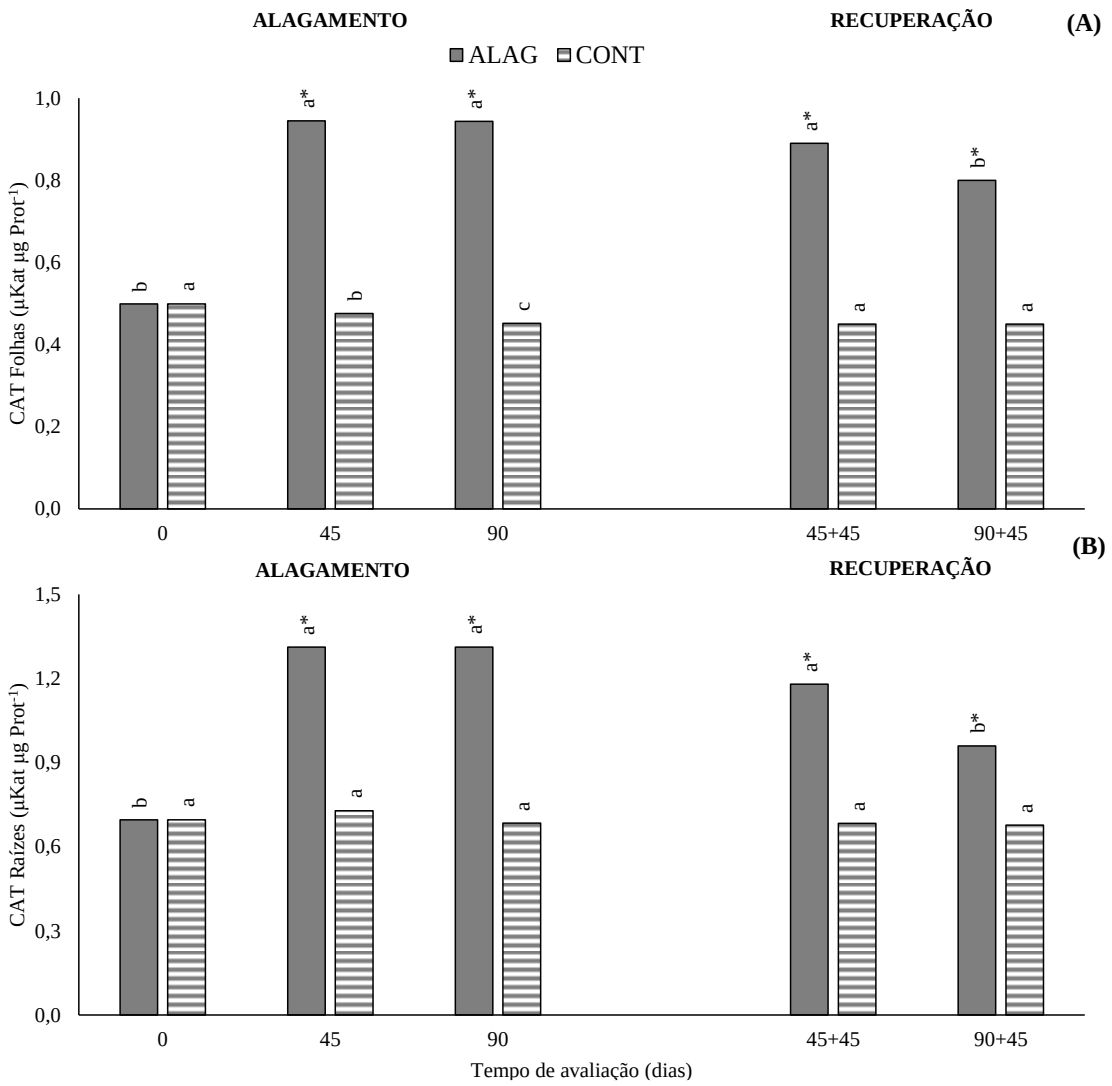

Figura 10. Atividade enzimática de Catalase nas folhas (*CAT* folhas) **(A)** e raízes (*CAT* raízes) **(B)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

A altura de plantas foi menor em plantas mantidas sob pleno sol e alagadas por 45 dias (Figura 11A). Durante a recuperação, apenas as plantas sob 30% de luz igualaram sua altura às plantas controle. O diâmetro do coleto (Figura 11B) foi menor nas mudas alagadas em ambos os períodos. Na recuperação, apenas as plantas mantidas a 30% de luz após a suspensão do alagamento apresentaram menores alturas quando comparadas ao controle.

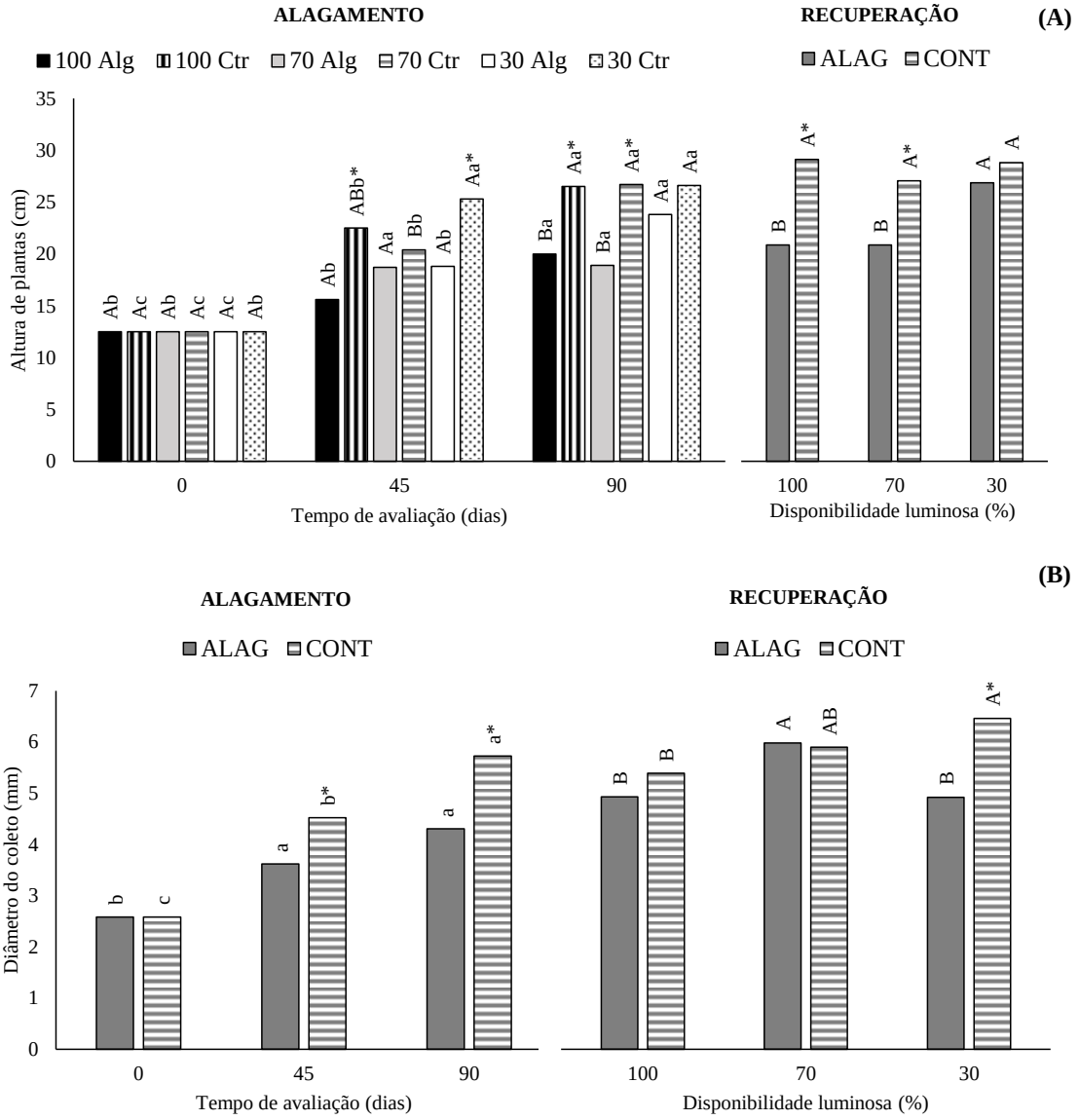

Figura 11. Altura de plantas **(A)** e diâmetro do coleto **(B)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, $p<0,05$); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, $p<0,05$ durante o alagamento e Bonferroni, $p<0,05$ durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

As plantas alagadas tiveram menor comprimento da maior raiz (*CMR*) tanto durante o alagamento quanto na recuperação, sendo que, durante o alagamento, o *CMR* aumentou com o tempo (Figura 12 A).

A área foliar foi menor em todas as plantas alagadas e nas mantidas a 100% de luminosidade, e após 45 dias de recuperação apenas as plantas alagadas por 45 dias e cultivadas sob 30% de luz igualaram-se ao controle (Figura 12 B).

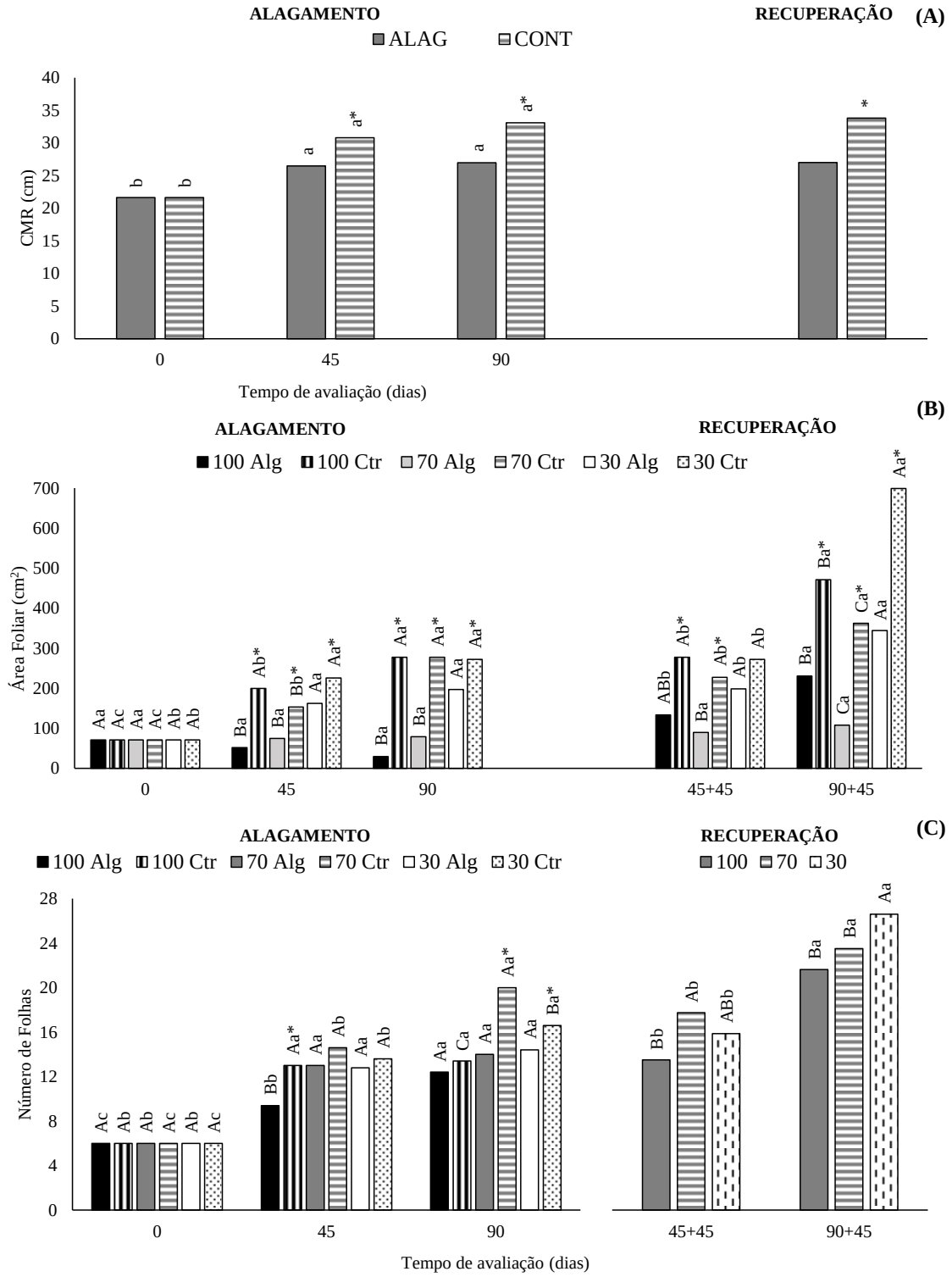

Figura 12. Comprimento da maior raiz (CMR) **(A)**, Área foliar **(B)**, número de folhas **(C)** de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, p<0,05); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, p<0,05 durante o alagamento e

Bonferroni, p<0,05 durante a recuperação) e asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, p<0,05).

O número de folhas foi maior nas mudas controle e sob sombreamento, e após a suspensão do alagamento nas mudas previamente alagadas por 90 dias e mantidas a 30% de luminosidade (Figura 12 C).

O índice de qualidade de Dickson (*IQD*) foi maior nas mudas controle aos 90 dias, e nas mudas submetidas a 70% de luz (Figura 13A). No período de recuperação, o *IQD* foi maior nas plantas controle, quando mantidas sob 100% de luz e nas plantas em recuperação após 90 dias de alagamento (Figura e 13B).

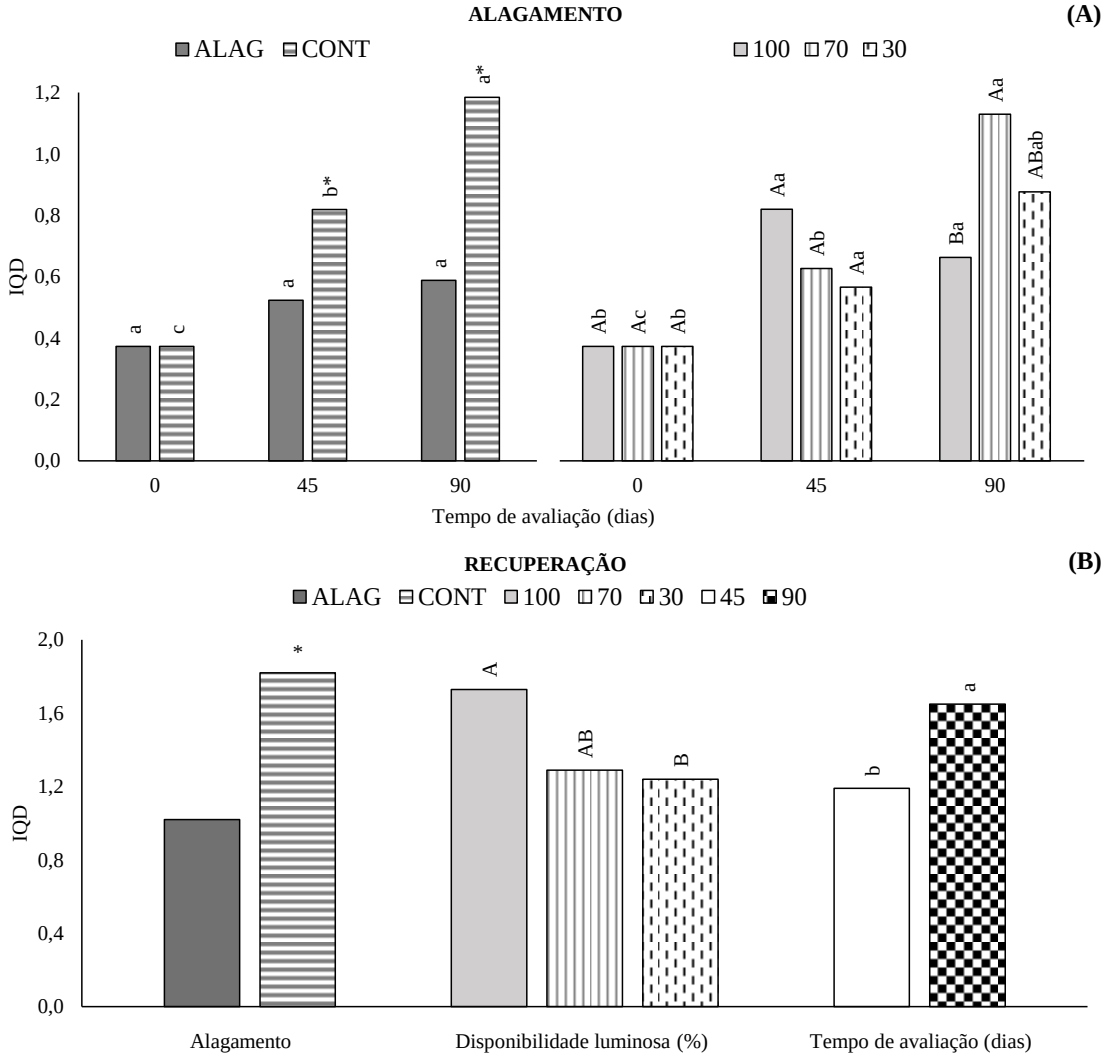

Figura 13. Índice de qualidade de Dickson – *IQD* de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes tempos de avaliação das condições de alagamento e disponibilidades luminosas, durante os períodos de alagamento e aos 45 dias após sua suspensão. Letras maiúsculas comparam a disponibilidade luminosa dentro da mesma condição de alagamento e tempo (Tukey, p<0,05); letras minúsculas comparam os tempos de alagamento dentro da mesma intensidade luminosa e condição de alagamento (Tukey, p<0,05 durante o alagamento e Bonferroni, p<0,05 durante a recuperação) e

asteriscos comparam as condições de alagamento dentro do mesmo tempo e intensidade luminosa (T de Bonferroni, $p<0,05$).

DISCUSSÃO

A fotossíntese líquida (*A*) foi afetada negativamente pelo alagamento e pelo sombreamento tanto durante o alagamento quanto após a suspensão do alagamento, na recuperação. Isso demonstra que períodos de alagamento superiores a 45 dias e sombreamento, especialmente na intensidade luminosa de 30% podem ser prejudiciais à manutenção da taxa fotossintética em *C. langsdorffii*. Comportamento semelhante foi observado para a transpiração (*E*) durante o período de alagamento.

O reflexo desses valores pode ser observado no comportamento da eficiência do uso da água (*EUA*) para ambos os tempos de alagamento. O mesmo comportamento não se repete no período de recuperação, devido ao aumento mais evidente de *A* que não foi acompanhado pela *E* nas mesmas proporções, causando aumento da *EUA* nas plantas alagadas, principalmente sob pleno sol ou intensidade luminosa de 70%. Este comportamento na *EUA* em ambos os períodos de recuperação ao alagamento, indica que ao ser exposta a condições de excesso de água por até 90 dias a espécie consegue, quando cessada a condição de estresse, se recuperar e apresentar resultados para estas três características muito próximos e até mesmo superiores às mudas controle. Maiores valores de EUA indicam maior plasticidade fisiológica das espécies diante das adversidades as quais são expostas (LI et al., 2008; SILVA et al., 2008).

A *EIUA* foi menor nas plantas alagadas durante os períodos de alagamento, no entanto, em resposta ao aumento da fotossíntese, foi maior que o controle durante a recuperação. O aumento dos valores de *EIUA* durante a recuperação das mudas após o alagamento reforça o fato de que as mudas suportam o alagamento por aproximadamente 90 dias, uma vez que, aumentos nessa característica 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).

A concentração interna de carbono (*Ci*) foi maior nas plantas alagadas tanto no período de alagamento quanto de recuperação, e superior na intensidade luminosa de 30% em quase todos os períodos avaliados, apesar da baixa condutância estomática (*gs*) em todas essas condições. Como consequência disso e da menor fotossíntese, menores

taxas de eficiência de carboxilação da Rubisco (*A/Ci*) foram observadas nas mudas alagadas.

A baixa *gs* ocorre como resultado da diminuição da absorção de água das raízes através de reduções na condutividade hidráulica da raiz (AROCA et al., 2011). O declínio na *gs* pode ter efeito protetor, permitindo à planta economizar e melhorar a eficiência do uso da água (CHAVES et al., 2009). Menores valores de *A/Ci* podem acontecer devido aos danos que condições prolongadas de hipóxia 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), podendo ocorrer o mesmo sob menores intensidades luminosas (RONQUIM, 2009). Apesar do comportamento na *Ci* se manter no período pós-alagamento, a recuperação dos valores de *A* provocou um aumento de *A/Ci* (Figura 3B), especialmente nas plantas que foram alagadas por 90 dias.

Quanto as variáveis relacionadas a fluorescência da clorofila *a*, houve uma diferença muito acentuada entre as mudas controle e as alagadas, independentemente do tempo de alagamento. Segundo Baker e Rosenqvst (2004), os valores de referência para a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_V/F_M) oscilam entre 0,750 e 0,850 quando os centros de reação do fotossistema II estão intactos, entretanto, tais valores estão sujeitos a uma margem de variação que depende, 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). Apesar de não estarem tão abaixo dos valores de referência, com média de 0,739 aos 45 dias de alagamento, e 0,731 aos 90 dias, os valores de F_V/F_M das mudas alagadas são inferiores aos das mudas controle, podendo indicar a ocorrência de danos reversíveis aos centros de reação do fotossistema II, o que implica, como observado anteriormente, em decréscimos acentuados da fotossíntese. O aumento de F_V/F_M durante a recuperação das mudas que foram submetidas ao alagamento possibilitou alcançar o valor de referência, porém, ainda assim, permaneceram menores que o controle.

Comportamento semelhante foi observado para a eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (F_V/F_O), indicando mais uma vez que houve prejuízos ao aparato fotossintético das plantas. Esta relação é utilizada para amplificar as pequenas variações detectadas na relação F_V/F_M, sendo um indicador mais sensível às mudanças de funcionalidade do fotossistema II, (REIS e CAMPOSTRINI, 2011; HERRERA, 2013). Os valores de referência para F_V/F_O que refletem a manutenção do

bom estado de funcionalidade dos centros de reação do fotossistema II estão entre 4 e 6 (ROHÁCEK, 2002). No período de recuperação, as plantas alagadas mantiveram-se menores às plantas controle e não atingiram os valores de referência citados acima, confirmando um possível dano ao aparato fotossintético das mudas. As mudas alagadas apresentaram maior produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F_O/F_M), tanto durante o alagamento quanto no período de recuperação. Os valores médios de referência dessa característica se situam entre 0,14 e 0,20 e vários autores sugerem que o aumento desta relação é um indicativo de estresse (ROHÁCEK, 2002).

Quanto à clorofila, as plantas submetidas a 30% de luz apresentaram as maiores médias, tanto no período de alagamento quanto na recuperação. Esse pode ser um efeito compensatório para a pequena quantidade de luz disponível, aumentando, assim, a absorção de luz e a produção de fotoassimilados (MIELKE e SCHAFFER, 2010; SILVA et al., 2015).

O alagamento de *C. langsdorffii* reduziu o Ψw, o que refletiu nas reduções da *gs* e *E* pelo fechamento estomático, o que sugere um mecanismo para regular o balanço hídrico das plantas (ASHRAF, 2003; STRIKER, 2012), no entanto, outros autores não encontraram correlação significativa entre a condutância estomática e o potencial hídrico das folhas (ASHRAF e ARFAN, 2005; ASHRAF, 2012). As plantas submetidas a 45 e 90 dias de alagamento apresentaram aumento dos valores do Ψw em todos os níveis de sombreamento durante o período de recuperação, sugerindo potencial restabelecimento.

A condição estressante provocada pelo alagamento pode também ser comprovada ao se avaliar a atividade das enzimas antioxidantes. As mudas de *C. langsdorffii* apresentaram aumento acentuado da produção de *POD*, *SOD* e *CAT* tanto nas folhas quanto nas raízes para as condições de alagamento ao longo do tempo, com os maiores valores durante os períodos de alagamento para as plantas submetidas a essa condição por 90 dias. A produção dessas enzimas antioxidantes tanto nas folhas quanto nas raízes possibilita a recuperação do metabolismo fotossintético e retomada do crescimento das plantas após a suspensão do alagamento.

Quando submetidas a condições abióticas estressoras as plantas podem produzir espécies reativas do oxigênio (*ERO*) que alteram 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 (ASHRAF, 2012). Todas as plantas têm a capacidade de se desintoxicar dos efeitos adversos de *ERO* produzindo diferentes tipos de antioxidantes, tais como as enzimas superóxido dismutase (*SOD*), peroxidase (*POD*) e catalase (*CAT*), deste modo, tal atividade enzimática constitui-se num importante parâmetro para se quantificar as respostas das plantas aos estresses ambientais (ASHRAF, 2012; TAIZ e ZEIGER, 2013).

As mudas alagadas apresentaram maior altura sob menor disponibilidade luminosa, entretanto, o diâmetro do coleto não acompanhou esse crescimento. O maior crescimento em altura em menores intensidades luminosas é um importante mecanismo de adaptação das plantas, pois serve como uma estratégia para escapar do sombreamento (MORAES NETO et al., 2000; REIS et al., 2016). Resultados semelhantes para *C. langsdorffii* foram encontrados por Dutra et al. (2012), que observaram uma resposta linear crescente para a altura de plantas com elevação dos níveis de sombreamento. Entretanto, considerando que o diâmetro não acompanhou esse crescimento, sugere-se que houve estiolamento, o que pode ser importante para a sobrevivência em habitat natural, mas não é uma característica desejável para a produção de mudas (SILVA et al., 2015).

As plantas apresentaram crescimento da maior raiz (*CMR*) durante o período experimental tanto sob alagamento quanto no pós-alagamento embora as plantas controle tenham apresentaram maior *CMR*. Plantas alagadas podem utilizar como recurso a deterioração do sistema radicular principal para fornecer energia para o desenvolvimento de um sistema radicular melhor adaptado à condição de estresse (STEFFENS et al., 2006).

Menor número de folhas e área foliar foram encontrados nas mudas que passaram por alagamento. Isso pode ser explicado pelo fato de que, nessas condições, muitas espécies realocam seus fotoassimilados para compensarem a baixa disponibilidade de energia e suprimentos 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). É interessante observar que plantas submetidas a 70% e 30% de luz durante o período de alagamento e de recuperação apresentaram maior número de folhas, corroborando com os resultados encontrados por Reis et al. (2016) na mesma espécie, que ao final do período experimental encontrou maior número de folhas nas mudas sombreadas. O maior número de folhas de mudas observadas sob sombra, devido

ao melhor microclima, favorece a taxa fotossintética resultando em maior acumulação de carboidratos e aceleração do crescimento foliar (SILVA et al., 2015).

Embora o *IQD* tenha sido menor nas plantas alagadas e variado com os sombreamentos durante o alagamento, é interessante ressaltar que mesmo os menores índices nesses períodos foram superiores a 0,20 valor mínimo recomendado (HUNT, 1990). Isso se repete no período de recuperação, onde todas as plantas ultrapassaram esse valor (Figura 13B). Isso pode indicar que as mudas apresentaram qualidade suficiente para o plantio no campo, entretanto, é necessário ter cautela e considerar esse valor em relação a cada espécie e condições de cultivo (AZEVEDO et al., 2010). O *IQD* é um parâmetro utilizado para expressar a qualidade das mudas, pois define o vigor e a distribuição da biomassa, com a consideração simultânea de muitas características, portanto quanto maior o *IQD*, melhor a qualidade das mudas (CÉSAR et al., 2014; SILVA et al., 2015).

CONCLUSÃO

As mudas de *C. langsdorffii* Desf. sobrevivem, sem dano visível, sob alagamento de até 90 dias e por até 45 dias após a retirada do alagamento.

A espécie também suporta sombreamento, sobrevivendo em condição de apenas 30% da disponibilidade luminosa, mesmo apresentando redução no metabolismo fotossintético.

As plantas apresentam aumento da atividade das enzimas antioxidantes tanto nas folhas quanto nas raízes diante de ambiente estressor.

Aos 45 dias após a suspensão dos períodos de alagamento aos quais foram submetidas, as mudas não recuperam a maior parte das características avaliadas. No entanto, a ausência de mortalidade indica potencial de recuperação, tornando necessária a avaliação da recuperação das plantas por um período maior.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARANDA, I.; CASTRO, L.; PARDOS, M.; GIL, L.; PARDOS, J. A. Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and

morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. **Forest Ecology and Management**, v. 210, p. 117–129, 2005.

AROCA, R.; PORCEL, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 1, p. 43–57, 2011.

ASHRAF, M. Relationships between leaf gas exchange characteristics and growth of differently adapted populations of Blue panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) under salinity or waterlogging. **Plant Science**, v. 165, n. 1, p. 69–75, 2003.

ASHRAF, M.; ARFAN, M. Gas exchange characteristics and water relations in two cultivars of Hibiscus esculentus under waterlogging. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 3, p. 459-462, 2005.

ASHRAF, M. A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.

AZEVEDO, I. M. G.; ALENCAR, R. M. de; BARBOSA, A. P.; ALMEIDA, N. O. de. Estudo do crescimento e qualidade de mudas de marupá (*Simarouba amara* Aubl.) em viveiro. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 157 - 164, 2010.

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.

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.

CÉSAR, F. R. C. F.; MATSUMOTO, S. N.; VIANA, A. E. S.; BOFIM, J. A. Crescimento inicial e qualidade de mudas de *Pterogyne nitens* Tull. conduzidas sob diferentes níveis de restrição luminosa artificial. Ciência Florestal, v. 24, n. 2, p. 357–366, 2014.

CHAVES, M. M.; FLEXAS J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v.103, n. 4, p.551-560, 2009.

DAT, J.F.; CAPELLI, N.; FOLZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT, P. Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 273–282, 2004.

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

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

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.; 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 contente but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO_2 concentration. **New Phytologist**, v.172, n.1, p.73-82, 2006.

HECK, M. C.; VIANA, L. A.; VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (Copaíba). **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, p. 82-90, 2012.

HERRERA, A. Responses to flooding of plant water relations and leaf gas exchange in tropical tolerant trees of a black-water wetland. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 106, p. 1-12, 2013.

HUNT, G. A. Effect of styroblock design and cooper treatment on morphology on conifer seedlings. In: ROSE, R.; CAMPBELL, S. J.; LANDIS, T. D. (eds). **Proceedings of Target Seedling Symposium, Meeting of the Western Forest Nursery Associations**. Colorado: Western Forest Nursery Association, 1990, p 218–222.

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 Plant Species from the Sparse-Elm Grassland in Hunshandak Sandland, 2008.

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. **Photosynthetica**, v. 42, n. 2, p. 243-249, 2004.

MEDINA, C. L.; SANCHES, M. C.; TUCCI, M. L. S.; SOUSA, C. A. F.; CUZZUOL, G. R. F.; JOLY, C. A. Erythrina speciosa (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. **Annals of Botany**, v. 104, n. 4, p. 671-680, 2009.

MIELKE, M. S.; SCHAFFER, B. Photosynthetic and growth responses of Eugenia uniflora L. seedlings to soil flooding and light intensity. **Environmental and Experimental Botany,** v. 68, n. 2, p. 113–121, 2010.

MORAES NETO, S. P.; GONÇALVES, J. L. de M.; TAKAKI, M.; CENCI, S.; GONÇALVES, J. C. Crescimento de mudas de algumas espécies arbóreas que ocorrem

na mata atlântica, em função do nível de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 24, n. 01, p. 35-45, 2000.

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

OLIVEIRA, A. S. de; FERREIRA, C. S.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; FRANCO, A. C. Anatomical and morphological modifications in response to flooding by six Cerrado tree species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n.4, p. 478-488, 2015.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 4, p. 465-472, 2009.

PORTSMUTH, A.; NIINEMETS, U. Interacting controls by light availability and nutrient supply on biomass allocation and growth of *Betula pendula* and *B. pubescens* seedlings. **Forest and Ecology Management**, v. 227, p. 122–134, 2006.

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.

REIS, S. M.; MARIMON-JÚNIOR, B. H.; MORANDI, P. S.; OLIVEIRA-SANTOS, C.; OLIVEIRA, B. de; MARIMON, B. S. Desenvolvimento inicial e qualidade de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 11-20, 2016.

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

RONQUIM, C. C.; PRADO, C. H. B. A.; SOUZA, J. P. de. Growth, photosynthesis and leaf water potential in young plants of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpiniaceae) under contrasting irradiances. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n. 3, p. 197-208, 2009.

SACK, L.; 2004. Responses of temperate woody seedlings to shade and drought: do trade-offs limit potential niche differentiation? **Oikos**, v. 107, p. 107–127, 2004.

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, A. C.; HIGUCHI, P.; VAN DEN BERG, P.; NUNES, M. H.; CARVALHO, D. A. **Florestas Inundáveis: Ecologia, florística e adaptações das espécies**. Lavras: Editora UFLA, 2012. 170 p.

SILVA, F. M. da; DRESCH, D. M.; PEREIRA, Z. V.; MUSSURY, R. M.; SCALON, S. de P. Q. Effect of shade on emergence, initial growth, and seedling quality in

Physocalymma scaberrimum. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n.1, p. 185-191, 2015.

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.

STEFFENS, B.; WANG, J.; SANTER, M. Interactions between ethylene, gibberellins and abscisic acid regulate emergence and growth rate of adventitious roots in deep water rice. **Planta**, v. 223, n. 1, p. 604-612, 2006.

STRIKER, G. G. Flooding Stress on Plants: Anatomical, Morphological and Physiological Responses. In: MWORIA, J. K. (ed) **Botany.** InTech, 2012, p. 3–28.

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

VISSER, E. J. W.; VOESENEK, L. A. C. J.; VARTAPETIAN, B. B.; JACKSON, M. B. Flooding and plant growth. **Annals of Botany**, v. 91, p. 107-109, 2003.

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

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

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mudas de *C. langsdorffii* submetidas a restrição hídrica, alagamento e intensidades luminosas extremas apresentam queda do status fisiológico durante os períodos em que foram submetidas às condições estressantes. Ainda que nem todas as características avaliadas tenham se recuperado após a suspensão do estresse, o fato da planta sobreviver e continuar se desenvolvendo, mesmo que não tanto quanto o controle, indica que *C. langsdorffii* tolera as condições de déficit hídrico e luminoso às quais foi submetida.

A aplicação de *ABA* traz resultados positivos para a recuperação da planta, no entanto, por ser uma espécie com alta capacidade de sobrevivência, o *ABA* exógeno não é essencial, pois a espécie conseguiu tolerar o déficit hídrico mesmo sem a aplicação deste regulador de crescimento.

C. langsdorffii é uma espécie robusta e promissora especialmente para utilização em áreas de reflorestamento. A plasticidade encontrada no presente trabalho indica que a espécie pode ser utilizada pra reflorestar desde campos abertos de Cerrado, que sofrem de secas ocasionais prolongadas, até áreas de mata ciliar, próximas a leitos de rios e que podem sofrer inundações ocasionais.

APÊNDICES

Apêndice 1. Produção de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf.

Apêndice 2. Mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. após a aplicação de *ABA* (A), submetidas a restrição hídrica e analisadas em laboratório (B e C) e sendo avaliadas no campo com *IRGA.*

Apêndice 3. Mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. durante o alagamento (A e B) e após a retirada para avaliação (C e D).