

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA GERAL/BIOPROSPECÇÃO

**SARA DA SILVA BASTOS**

**ESTRESSE HÍDRICO E ÁCIDO ABSCÍSIKO EM MUDAS DE *Ormosia arborea*  
(VELL.) HARMS: ECOFISIOLOGIA E ANATOMIA FOLIAR**

DOURADOS

MATO GROSSO DO SUL

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA GERAL/BIOPROSPECÇÃO

**SARA DA SILVA BASTOS**

**ESTRESSE HÍDRICO E ÁCIDO ABCSÍCIO EM MUDAS DE *Ormosia arborea*  
(VELL.) HARMS: ECOFISIOLOGIA E ANATOMIA FOLIAR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral/Bioprospecção, para a obtenção do título de Mestre.

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

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

Dourados  
Mato Grosso do Sul

2017

## AGRADECIMENTOS

A caminhada até aqui não foi fácil, mas não me arrependo de tê-la iniciado e os desafios foram grandes! Durante a condução do experimento, o clima, às vezes parecia não colaborar. No entanto, tudo isso fez parte de um grande aprendizado e nesses dois anos, adquiri conhecimento, experiência, conheci pessoas excepcionais, superei dificuldades e tudo isso me fez ser uma pessoa ainda melhor.

Acredito que dificilmente se consegue realizar algo sozinho e nessa trajetória, pude contar com pessoas que me auxiliaram de várias maneiras para conclusão deste trabalho.

Em primeiro lugar agradeço imensamente a Deus, por me permitir iniciar e concluir este trabalho, me proporcionando força, ânimo, saúde e me protegendo dos perigos.

Agradeço especialmente aos meus pais, *Cleusa Alves da Silva Bastos* e *Elias Bastos de Oliveira*, que incondicionalmente esteve à disposição para me auxiliar de todas as formas possíveis, pelo incentivo aos estudos desde criança, pelos ensinamentos para vida, pela dedicação e amor. E assim, estendo minha gratidão aos meus irmãos *Elias Filho*, *André Bastos*, *Jonas Bastos* e minha família de maneira geral, que também torceram por mim.

Agradeço ao meu marido *Paulo Eduardo da Silva Lazari*, pelo apoio e amor dedicados a mim, por ser uma pessoa compreensiva, companheira, sempre disposto a me ajudar e por estar presente em todos os momentos.

Agradeço a minha orientadora, professora *Silvana de Paula Quintão Scalon* que tenho grande admiração por sua competência e compromisso com o trabalho. Também pela amizade e por aceitar me orientar neste trabalho.

Agradeço a co-orientação da *Daiane Mugnol Drech*, pela amizade e pela disposição a ajudar e ensinar, em qualquer dia. Por me auxiliar na estatística e em detalhes que para mim fizeram grande diferença. Muitas vezes não compreendi o comportamento da planta e quantas vezes não marcamos de nos reunir junto com a professora Silvana pela manhã para discutirmos sobre “enzimas antioxidantes”. E muitos outros assuntos relacionados ao experimento!

Agradeço aos demais professores, grandes mestres que compartilharam de alguma forma seu conhecimento e contribuíram com este trabalho e no meu crescimento.

Agradeço aos colegas que fazem parte do grupo de orientadores da professora Silvana, e aos técnicos de laboratório que contribuíram para conclusão deste trabalho. Em especial, a *Vanessa* e *Ana Paula*, pelo companheirismo e amizade. Compartilhamos não só os desafios e

aprendizados da pesquisa, mas também as dificuldades pessoais, e assim, com uma conversa e um café pela manhã os desafios diários se tornavam menos difíceis de enfrentar.

Agradeço à Fundect –MS pela concessão de bolsa, que foi essencial para conclusão deste trabalho.

À UFGD e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Geral/Bioprospecção por oferecer o local para realização deste trabalho e pela oportunidade.

Também agradeço a banca examinadora pela disposição em avaliar e contribuir para melhoria deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste trabalho, aos amigos, família, a pessoas que passam e às vezes, nem percebemos que de alguma forma nos ajudaram. Muito obrigada!

## RESUMO GERAL

Muitos parâmetros fisiológicos, morfológicos e anatômicos podem indicar se determinada espécie é tolerante a uma condição de déficit hídrico. Além disso, durante o déficit hídrico ocorre o aumento da concentração de ácido abscísico (ABA), o qual desencadeia diversas respostas na planta em condição de seca. Assim, objetivou-se avaliar o efeito do estresse hídrico e da aplicação de ABA nas trocas gasosas, enzimas antioxidantes, crescimento inicial e na anatomia foliar em mudas de *Ormosia arborea*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e consistiu em seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA; 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$ ; 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$ ; 4) suspensão da irrigação diária; 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  e 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$ , com 24 mudas por tratamento. A primeira aplicação de ABA ocorreu no início do experimento, e a segunda aplicação ocorreu 25 dias após a segunda suspensão hídrica, tendo como base a taxa fotossintética próxima a um; as folhas foram pulverizadas com as soluções de ABA até o ponto de gotejamento. Foram avaliadas as trocas gasosas, potencial hídrico, fluorescência da clorofila *a*, enzimas antioxidantes, crescimento inicial e anatomia foliar das mudas. As mudas sob déficit hídrico apresentaram redução significativa nas trocas gasosas, no entanto, a suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  proporcionou maior tolerância ao déficit hídrico, pois não atingiram valores nulos de taxa fotossintética. A fluorescência variável, máxima, eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ), eficiência quântica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) apresentaram redução nas mudas do déficit hídrico, e aumento na produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II ( $F_0/F_m$ ). As mudas sob déficit hídrico apresentaram aumento na atividade das enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase nos períodos de fotossíntese nula. Em relação aos parâmetros de crescimento, as mudas do déficit hídrico apresentaram valores inferiores às mudas irrigadas para as características de crescimento nos períodos de fotossíntese nula (massa fresca e seca de raiz, massa seca e fresca da parte aérea, comprimento da parte aérea, número de folhas, índice de clorofila, diâmetro do caule e o IQD). Em mudas não irrigadas tratadas com ABA, esse hormônio pode ter estimulado o crescimento das raízes. Em relação à anatomia foliar, as principais alterações foram aumento da espessura da cutícula, epiderme e parênquima paliçádico das mudas sob déficit hídrico.

**Palavras chave:** trocas gasosas, crescimento inicial, olho-de-cabra, ácido abscísico

## ABSTRACT

Many physiological, morphological and anatomical parameters can indicate whether particular species is tolerant to a condition of water deficit. Furthermore, during the water deficit is the increase in concentration of abscisic acid (ABA), which triggers different responses in the plant in dry condition. Thus, the objective was to evaluate the effect of water stress and ABA application in gas exchange, antioxidant enzymes, initial growth and leaf Anatomy in seedling of *Ormosia arborea*. The experiment was conducted in fully randomized design and consisted of six treatments: 1) daily irrigation without ABA. 2) daily irrigation + 10  $\mu\text{M}$  ABA; 3) daily irrigation + 100  $\mu\text{M}$  ABA; 4) suspension of daily irrigation; 5) suspension of daily irrigation + 10  $\mu\text{M}$  ABA and 6) suspension of daily irrigation + 100  $\mu\text{M}$  ABA, 24 seedlings per treatment. The first application of ABA occurred at the beginning of the experiment, and the second application took place 25 days after the second water suspension, based on the photosynthetic rate close to one; the leaves were sprayed with ABA solutions until the point of dripping. We evaluated the gas exchange, water potential, the chlorophyll *a* fluorescence, antioxidant enzymes, initial growth and foliar anatomy of the seedlings. The seedlings under water deficit showed a significant reduction in gas exchange, however, the suspension of daily irrigation + 10  $\mu\text{M}$  ABA provided greater tolerance to water deficit, since they did not reach null values of photosynthetic rate. The variable fluorescence, maximum, effective efficiency of photosystem in the conversion of absorbed energy ( $F_v/F_0$ ), quantum efficiency of photosystem II ( $F_v/F_m$ ) showed a reduction in seedlings of water deficit, and increase in basal quantum production of non-photochemical processes of photosystem II ( $F_0/F_m$ ). The seedlings under water deficit showed an increase in the activity of enzymes catalase, peroxidase and superoxide dismutase during photosynthesis. In relation to the growth parameters, the seedlings of the water deficit presented lower values than the irrigated seedlings for the growth characteristics during the photosynthesis (fresh and dried mass of the root, fresh and dry mass of the aerial part, the length of leaves, number of leaves, chlorophyll index, stem diameter and IQD). In the non-irrigated seedlings treated with ABA, this hormone may have stimulated the growth of the roots. In relation to leaf anatomy, the main changes were the increase in cuticle thickness, epidermis and palisade parenchyma of the seedlings under water deficit.

**Keywords:** gas exchange, initial growth, “olho-de-cabra”, abscisic acid

## SUMÁRIO

	PÁGINA
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo geral.....	18
2.2. Objetivos específicos.....	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
4. CAPÍTULO I: TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MUDAS DE <i>Ormosia arborea</i> (VELL.) HARMS SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO.....	24
Resumo.....	25
4.1. Introdução.....	26
4.2. Material e métodos.....	27
4.3. Resultados.....	32
4.4. Discussão.....	43
4.5. Conclusões.....	52
4.6. Referências bibliográficas.....	53
5. CAPÍTULO II: CRESCIMENTO INICIAL E ANATOMIA DE MUDAS DE <i>Ormosia arborea</i> (VELL.) HARMS SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO.....	58
Resumo.....	59
5.1. Introdução.....	60
5.2. Material e métodos.....	61
5.3. Resultados.....	63
5.4. Discussão.....	74
5.5. Conclusões.....	80
5.6. Referências bibliográficas.....	81
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado é caracterizado por diversas fitofisionomias, cujos tipos principais de vegetação são enquadrados em formações florestais, que compreendem Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão; em formações savânicas, que englobam o Cerrado sentido restrito, Parque do Cerrado, Palmeira e Vereda e em formações campestres, representadas pelos Campo sujo, Campo Limpo e Campo Rupestre e campestres (RIBEIRO & WALTER, 2008). Possui área de aproximadamente dois milhões de km<sup>2</sup> (IBGE, 2004), engloba parte dos estados brasileiros Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, São Paulo, Tocantins, além do Distrito Federal e no Mato Grosso do Sul corresponde a uma área de 241.015 km<sup>2</sup> (MMA/IBAMA, 2011).

A fitofisionomia mais comum é aquela conhecida como Cerrado Típico, caracterizado por apresentar árvores e arbustos tortuosos, de porte baixo e casca grossa. Porém, existe também Matas de Galeria, Cerradão, Veredas, Campos Rupestres que junto com o Cerrado Típico forma o Cerrado (AQUINO et al., 2014). Nas Matas de Galeria, a vegetação acompanha os rios de pequeno porte e córregos, formando corredores fechados sobre os cursos d'água (RIBEIRO & WALTER, 2008). O termo Matas de Galeria tem sido utilizado como sinônimo de Mata Ciliar em vários contextos (FELFILI et al., 2000), embora ambas são exemplos de matas ripárias, ou seja, estão associadas a água. No entanto, nas matas de galeria as copas das árvores das duas margens se toca sobre o curso d'água, enquanto que na matas ciliares a copa das árvores de um lado de uma margem não encostam na copa das árvores da outra margem (AQUINO et al., 2012). Por ser um ambiente com alta heterogeneidade ambiental, a vegetação do Cerrado é uma das mais diversificadas do Brasil (PEREIRA et al., 2011).

Além disso, o Cerrado apresenta uma dinâmica acentuada na sazonalidade e antropismo (SANO et al., 2007), mas tem sofrido intensa exploração da vegetação, cujas espécies são utilizadas para fins terapêuticos, na economia e por apresentar formações savânicas, com terrenos planos, muitas áreas são convertidas em pastagens e lavouras (AQUINO et al., 2014). No período 2008 a 2009, o Cerrado teve área desmatada de 7.637 km<sup>2</sup> e no Mato Grosso do Sul correspondeu a uma área de 0,11% da área de Cerrado do estado (MMA/IBAMA, 2011).

Durante o ciclo de vida, as plantas de qualquer bioma estão sujeitas a diversas condições ambientais. Espécies do Cerrado são submetidas à escassez de água devido ao clima deste bioma ser caracterizado por estações bem definidas de seca e chuvosa. O clima



predominante apresenta uma estação seca, com três a sete meses de duração e outra de chuvas cinstantes (SCARIOT et al., 2005; PEREIRA et al., 2011).

Quando submetidas a condições desfavoráveis as plantas podem entrar em estresse (TAIZ & ZEIGER, 2013). O estresse hídrico é um dos fatores ambientais que limita o crescimento e a produtividade da planta (BOUTRAA et al., 2010; OKASABE et al., 2014) e também afeta os processos fisiológicos, como a fotossíntese.

A condição de estresse a princípio pode ser temporária ou se tornar permanente, induzindo mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, ainda que a condição de estresse seja temporária, a vitalidade da planta diminui conforme a duração do estresse, e quando o limite de capacidade de ajuste é alcançado, pode manifestar distúrbios que aparecem na forma de doenças crônicas ou injúrias irreversíveis. A primeira resposta ao estresse hídrico e a mais sensível a essa condição é o turgor celular, no qual está relacionado a todo o conteúdo de água mais alto no estado de maior hidratação. Como consequência, o crescimento é afetado, limita o metabolismo de proteínas e aminoácidos, que causa a interrupção da divisão celular (LARCHER, 2004).

Respostas das plantas ao déficit hídrico podem incluir diminuição da área foliar, abscisão foliar, fechamento estomático, crescimento de raízes profundas, limitação da fotossíntese e aumento no depósito de cera nas folhas (TAIZ & ZEIGER, 2013). Silva et al. (2008) avaliaram plantas jovens de *Schinus terebinthifolius* Raddi em diferentes capacidades de campo (CC) (100, 75, 50 e 25%) durante 72 dias e observaram que as mudas em condição de 25% de CC apresentaram fechamento estomático e diminuição da transpiração aos 11 dias do experimento, enquanto que plantas irrigadas a 100 e 75% de CC mantiveram a transpiração e abertura estomática.

Calbo & Moraes (2000) submeteram plantas de *Euterpe oleracea* Mart. a suspensão hídrica até que as mudas atingissem fotossíntese nula e observaram que a redução na condutância estomática, fotossíntese e transpiração ocorreram a partir do décimo dia e se acentuaram com o tempo; o estresse atingiu nível severo aos 61 dias do experimento, sendo este tempo suficiente para induzir a fotossíntese nula.

Além de influenciar o metabolismo da planta, o potencial hídrico é diretamente afetado pelo déficit hídrico e a tendência de plantas nessa condição é apresentarem o potencial hídrico distante de zero, enquanto que plantas irrigadas apresentam potencial hídrico próximos de zero. O potencial hídrico é um bom indicador de sanidade da planta (TAIZ & ZEIGER, 2013) e permitem avaliar o status hídrico da planta, mas devido a perda de água por transpiração, as plantas raramente estão com plena hidratação (CORDEIRO, 2012).

Gonçalves et al. (2009) observaram em *Carapa guianensis* Aubl. não irrigadas que a falta de água além de promover a queda da fotossíntese, condutância estomática e transpiração afetou o potencial hídrico reduzindo em mais de quatro vezes após 21 dias de suspensão da irrigação.

No processo de fotossíntese, a clorofila absorve luz e no estado excitado, esse pigmento pode reemitir um fóton e assim retornar ao seu estado basal, conhecido como fluorescência (TAIZ & ZEIGER, 2013). A fluorescência da clorofila *a* pode diminuir em uma condição de déficit hídrico em diferentes espécies, como descrito por Liberato et al. (2006) em plantas jovens de *Minquartia guianensis* Aubl. submetidas ao estresse hídrico. O uso dos parâmetros de fluorescência permite avaliar o efeito de vários tipos de estresses sobre a fotossíntese (ZANANDREA et al., 2006). Assim é possível inferir dados de fluorescência por meio do fluorômetro portátil, no qual fornece dados da fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), que representa a eficiência relativa da captura de energia luminosa pelo FSII. A  $F_0$  corresponde à fluorescência com os centros de reação "abertos" e refere-se à emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila *a* do complexo coletor de luz do PSII (KRAUSE & WEISS, 1991, conforme citado por SILVA et al., 2006). A  $F_m$  refere-se a completa redução da quinona A ( $Q_A$ ), que ocorre a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação  $Q_A$ , gerando a fluorescência máxima e a fluorescência variável ( $F_v$ ) consiste na diferença entre  $F_m$  e  $F_0$ , que representa o fluxo de elétrons do centro de reação do PSII (P680) até a plastoquinona ( $PQH_2$ ) (SILVA et al., 2006).

Assim, pode se calcular a fluorescência variável ( $F_v = F_m - F_0$ ), eficiência do fotossistema efetiva da conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII ( $F_0/F_m$ ). Quando ocorre o aumento de  $F_0/F_m$ , pode ser considerado como um parâmetro indicativo de estresse, no qual os valores normais estão entre 0,14 e 0,20 (ROHÁCEK, 2002). A relação  $F_v/F_0$  pode ser utilizada como indicador da eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII e/ou da atividade fotossintética potencial, com valores entre 4 e 6 (ZANANDREA et al., 2006).

Segundo Xiong & Zhu (2002), as plantas exibem grande variedade de respostas moleculares, celulares, fisiológicos e metabólicos que podem garantir sua sobrevivência nessa condição. Na maioria das espécies vegetais, o estresse hídrico está associado a mudanças na anatomia foliar, como diminuição no número de estômatos, espessamento das paredes celulares e espessura da cutícula (LISAR et al., 2012). Souza (2012) avaliou cultivares de *Zea mays* L. sob deficiência hídrica e observou algumas modificações anatômicas, como aumento do aerênquima no córtex e da espessura da exoderme, maior número de estômatos e menor

distância entre os feixes vasculares do limbo e essas mudanças favoreceram a sobrevivência da espécie em condição de déficit hídrico. As alterações também podem ocorrer na densidade estomática e abertura dos estômatos. Silva et al. (2009) avaliaram quatro genótipos de *Spondias tuberosa* Arruda em condição de déficit hídrico e constataram que houve reduções no índice estomático, abertura dos estômatos e espessuras dos parênquima lacunoso e do parênquima paliçádico em resposta à seca.

Ambientes secos podem estimular reações adaptativas que capacitem as plantas a sobreviverem em períodos prolongados de déficit hídrico. Muitas plantas conseguem retardar a desidratação quando possuem a capacidade de manter a hidratação de seus tecidos através da redução da transpiração ou do aumento da absorção de água; outras toleram a desidratação quando possuem capacidade de manter seu metabolismo enquanto desidratada; outras plantas escapam da seca quando completam seu ciclo durante a estação úmida, antes do início da seca (NASCIMENTO et al., 2011).

Mesmo que o estresse hídrico seja moderado, pode desencadear a síntese do ácido abscísico (ABA) na raiz, o qual é transportado para diferentes partes da planta (LARCHER, 2004). Este hormônio está presente em todas as plantas vasculares e regula vários processos, e quando a planta está submetida ao déficit hídrico, há uma elevação endógena da concentração de ABA promovendo o fechamento estomático nas folhas, reduzindo assim a perda de água (KERBAUY, 2004).

Os efeitos da seca sob o crescimento das plantas são conhecidos, porém, o efeito nos níveis bioquímicos ainda não são consideravelmente entendidos, sendo de grande importância sua compreensão (LISAR et al., 2012). O ABA e as espécies reativas de oxigênio (ROS) são moléculas mensageiras que induzem a defesa antioxidante (SHINOZAKI & YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997). O ABA é conhecido como o hormônio geral do estresse e também promove outras alterações na planta quando o suprimento de água diminui, como o ajuste osmótico (AASAMAA & SÖBER, 2011). Além de exercer funções no crescimento e desenvolvimento, o ABA também regula respostas adaptativas em condições adversas, como em baixa disponibilidade hídrica, como a regulação da abertura e o fechamento dos estômatos para evitar a perda de água por transpiração (ZHU, 2002; SOUZA, 2012). O fechamento estomático é uma resposta essencial para a sobrevivência da planta sob condição de deficiência hídrica, pois quando o estômato está aberto ocorre entrada de CO<sub>2</sub>, mas ao mesmo tempo há saída de vapor de água.

Portanto, em condição de seca, ocorre maior síntese desse hormônio na raiz sendo translocado até as folhas através do xilema. Nas folhas, o ABA promove o fechamento

estomático através da despolarização da membrana plasmática das células-guarda, sendo que essa despolarização ocorre devido ao aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico e pela alcalinização do citosol (INÁCIO et al., 2011). No entanto, ainda são desconhecidos os mecanismos de ativação de  $\text{Ca}^{2+}$  nos canais de cálcio. Pei et al. (2000) avaliaram como ocorre a ativação de  $\text{Ca}^{2+}$  nas células guarda de *Arabidopsis* e observaram que o ABA desencadeia o aumento de cálcio citosólico nas células guarda e os canais de cálcio são ativados pelo peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que mediam o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  no protoplasto em células guarda, enquanto que o ABA induz a produção de peróxido de hidrogênio em células guarda. Se ocorre o bloqueio da produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , então o fechamento dos estômatos induzido pelo ABA é reduzido.

Aasamaa & Söber (2011) utilizaram ácido abscísico exógeno na concentração de 15  $\mu\text{M}$  em plantas de crescimento rápido (*Salix caprea* L. e *Populus tremula* L.), lento (*Tilia cordata* Mill. e *Acer platanoides* L.) e intermediário (*Quercus robur* L. e *Padus avium* Mill) sob diferentes sensibilidades estomáticas e concluíram que a característica mais afetada foi o potencial hídrico da folha. Pacheco et al. (2011) utilizaram ABA exógeno em diferentes concentrações (0, 10 e 100  $\mu\text{M}$ ) em plantas de *Calendula officinalis* L. submetidas a suspensão hídrica em quatro intervalos (irrigação diária; três; seis e nove dias sem irrigar). O estresse hídrico afetou significativamente as trocas gasosas, e o efeito principal do ABA foi o de causar diminuição na condutância estomática, a qual foi acompanhada de redução na fotossíntese somente quando as plantas estavam desidratadas.

Chaves et al. (2002) compararam duas espécies de sobreiro *Quercus ilex* Loudon e *Quercus suber* L. no campo encontradas em regiões do Mediterrâneo, que passaram por período de estresse hídrico no final do verão quente e seco. As respostas desencadeadas foram o declínio da fotossíntese, fechamento estomático e aumento da concentração do ácido abscísico.

Quando a planta está em condição de deficiência hídrica, favorece a produção das espécies reativas ao oxigênio (ROS), nas formas de oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ) e ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), que danificam as plantas oxidando pigmentos fotossintéticos, lipídeos de membrana, proteínas e ácidos nucleicos (MITTLER, 2002) podendo levar à morte celular.

As espécies reativas ao oxigênio são formadas a partir do oxigênio molecular, que é reduzido e produz radicais de vida curta, os superóxidos. Esses radicais não atravessam as membranas biológicas e permanecem onde foram gerados (SOARES & MACHADO, 2007) e podem causar peroxidação de lipídeos na célula e nas membranas celulares (BREUSEGEM et

al., 2001). A redução do oxigênio resulta também na geração de peróxido de hidrogênio, que mesmo não sendo um radical livre, atravessa as biomembranas e se distribui a partir do local de sua produção (BREUSEGEM et al., 2001). A última e mais reativa espécie de oxigênio formada é o radical hidroxil (OH), que é formado pela redução do  $H_2O_2$  por íons metálicos ( $Fe^{2+}$  e  $Cu^{2+}$ ) e tem grande afinidade por moléculas biológicas em seu sítio de produção (SOARES & MACHADO, 2007).

As ROS são formadas durante funções metabólicas normais nos peroxissomos ou induzidas por estímulos ambientais aos quais as plantas estão constantemente expostas (MITTLER, 2002). Embora sejam subprodutos do metabolismo celular, em condição de estresse podem causar destruição do sistema de transporte de elétrons durante condições de estresse. Durante o estresse o principal ponto de produção de ROS na célula são as organelas com alta atividade de oxidação metabólica ou com fluxo de elétrons sustentado, que são os cloroplastos e mitocôndrias e perioxissomos (SOARES & MACHADO, 2007; FERRARI et al., 2015).

A produção das ROS ocorre durante a fotossíntese, fotorrespiração e essas moléculas podem se ligar com moléculas vitais, como gorduras, proteínas, ácidos nucleicos, causando a peroxidação lipídica, desnaturação de proteínas e mutação no DNA (BOUTRAA et al., 2010). Os estudos tem demonstrado o efeito negativo do estresse hídrico sobre as membranas celulares e organelas como mitocôndrias e cloroplastos (CANDAN & TARHAN, 2003).

Para defesa primária contra esses radicais livres, as plantas apresentam sistemas enzimáticos antioxidantes, as espécies reativas de oxigênio (ROS), contra radicais livres gerados em condições de seca, como a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do radical superóxido em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) que podem quebrar o  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  (CARNEIRO et al., 2011).

A SOD é considerada a primeira barreira contra o estresse, e elimina a toxicidade causada pelo radical  $O_2^-$ , que posteriormente é eliminado pela CAT ou através da APX (CARVALHO, 2008). A SOD está presente nas mitocôndrias, cloroplastos, perioxissomos, apoplasto, citosol. A enzima catalase atua na dismutação do peróxido de oxigênio em oxigênio e água. A CAT é encontrada nos peroxissomos, glioxissomos, citosol e mitocôndrias; sua função é remover o  $H_2O_2$  formados durante a fotorrespiração (CARVALHO, 2008). A APX possui alta especificidade com o substrato redutor, e assim catalisa a redução de  $H_2O_2$  e estão presentes no citosol, membranas dos perioxissomos e nos cloroplastos (GILL & TUTEJA, 2010).

A CAT é uma das principais enzimas na eliminação do  $H_2O_2$  gerado durante a fotorrespiração e a  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos; essa enzima atua nos peroxissomos e glioxissomos e pode ser encontrada também em mitocôndrias (BARBOSA et al., 2014); converte duas moléculas de  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e oxigênio molecular (HELDT & HELDT, 2005).

Outra enzima presente nas plantas é a peroxidase (POD), sendo que existem muitas isoformas de PODs que estão envolvidas em vários processos celulares; localizam-se principalmente na parede celular e vacúolo. Algumas são expressas e outras são induzidas por estresses ambientais; as PODs utilizam o  $H_2O_2$  como oxidante e compostos fenólicos como doadores de elétrons (BARBOSA et al., 2014).

Nas plantas podem ocorrer diferentes respostas metabólicas relacionadas as essas enzimas. Carneiro (2011) observou em experimentos com *Helianthus annuus* L. que as respostas metabólicas relacionadas a essas enzimas ocorreu de forma diferentes nos órgãos da planta, no qual houve maior atividade das enzimas antioxidantes nas folhas, demonstrando que o mesmo nível de estresse pode não ter atingido a raiz.

Dentre as diversas espécies vegetais, *Ormosia arborea* (Vell.) Harms pertence a Família Leguminosae-Papilionoidae (Fabaceae), é uma espécie arbórea nativa do Brasil, conhecida popularmente como olho-de-cabra, olho-de-boi, pau-ripa. Há registros de sua ocorrência desde a Bahia, passando por Minas Gerais, Mato Grosso do Sul até Santa Catarina e pode ser encontrada em floresta pluvial atlântica e latifoliada semidecídua (LORENZI, 2008), no Cerrado (EMBRAPA, 2012) e em Matas de Galeria do Cerrado (SANO et al., 2008).

Do ponto de vista ecológico, *O. arborea* é uma planta semidecídua com ampla e descontínua dispersão, com uma frequência pequena, embora produza anualmente grande quantidade de sementes (LORENZI, 2008). É uma espécie preferencialmente de solos enxutos (LORENZI, 2008), não inundáveis (FELFILI et al., 2000), de sucessão secundária e com síndrome de dispersão zoocórica (EMBRAPA, 2012). Apresenta altura de 15-20 metros, folhas compostas com folíolos coriáceos (LORENZI, 2008) e as flores são de coloração roxa reunidas em inflorescências racemosas do tipo cacho. A floração é subanual nos meses de novembro/dezembro/janeiro e o fruto é um legume com variação de 3,5 a 8,5 cm de comprimento e 2,5 a 3 cm de largura e de acordo com o número de semente amadurecem, paulatinamente, de fevereiro a outubro/novembro, podendo permanecer já maduros na árvore por alguns meses; (GONÇALVES et al., 2008); as sementes são de coloração vermelha e preto e apresentam dormência (LORENZI, 2008).

O gênero *Ormosia* inclui diversas espécies que são utilizadas para diversos fins medicinais e *O. arborea* é utilizada por comunidades rurais por apresentar efeitos contraceptivos (DUARTE et al., 2012). Além disso, a madeira é empregada na confecção de móveis e para acabamentos na construção civil. É uma espécie ornamental que pode ser utilizada para arborizar ruas e avenidas, e proporcionar boa sombra, além de ser utilizada em plantios mistos destinados a recomposição de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 2008).

Para propagar a espécie, deve se colher os frutos diretamente da árvore, no início da abertura espontânea, verificando o início da exposição da cor vermelha das sementes. Recomenda-se a escarificação da semente para acelerar a emergência, podendo ser semeada em canteiros ou diretamente em recipientes individuais, mantidas em ambiente sombreado com irrigação diária; a emergência ocorre de 20 a 50 dias e o desenvolvimento das plantas é lento. O tamanho ideal para plantio definitivo será atingido entre oito e dez meses e no campo também apresenta desenvolvimento lento, dificilmente ultrapassa 2,50 m após dois anos. (LORENZI, 2008).

Considerando que *Ormosia arborea* é encontrada em floresta pluvial atlântica e em Matas de Galeria, acredita-se que suas mudas apresentarão baixo crescimento e qualidade, baixas eficiência de trocas gasosas e de proteção antioxidante, comprometimento dos aspectos ecofisiológicos e anatômicos quando cultivadas sob déficit hídrico.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o comportamento de mudas de *Ormosia arborea* submetidas ao déficit hídrico e o efeito de diferentes concentrações de ácido abscísico nos aspectos fisiológicos e morfoanatômicos.

### **2.3. Objetivos específicos**

Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ABA no metabolismo fotossintético e atividade antioxidantes de enzimas em mudas de *Ormosia arborea* submetidas ao déficit hídrico;

Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ABA no crescimento inicial e na morfoanatomia foliar de mudas de *Ormosia arborea* sob déficit hídrico;

Avaliar a influência do ABA na tolerância ao déficit hídrico de mudas de *Ormosia arborea*.



### 3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASAMAA, K.; SÖBER, A. Stomatal sensitivities to changes in leaf water potential, air humidity, CO<sub>2</sub> concentration and light intensity, and the effect of abscisic acid on the sensitivities in six temperate deciduous tree species. **Environmental and Experimental Botany**. v. 71, n. 1, p. 72–78, 2011.
- AQUINO, F. G.; ALBUQUERQUE, L. B.; ALONSO, A. M.; LIMA, J. E. F. W.; SOUSA, E. S. **Cerrado: Restauração de Matas de Galeria e Ciliares**. Empraba Cerrados, Brasília, DF, 2012.
- AQUINO, F. G.; PEREIRA, C. S.; PASSOS, F. B.; OLIVEIRA, M. C. Composição florística e estrutural de um cerrado sentido restrito na área de proteção de manancial Mestre D'Armas, Distrito Federal. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 565-575, 2014.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BOUTRAA, T.; AKHKHA, A.; AL-SHOAIBI, A. A.; ALHEJELI, A. Effect of water stress on growth and water use efficiency (WUE) of some wheat cultivars (*Triticum durum*) grown in Saudi Arabia. **Journal of Taibah University for Science**, Taibah, v. 3., p. 39-48, 2010.
- BREUSEGEM, F. V.; VRANOVÁ, E.; DAT, J.F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, p. 405-414, 2001.
- CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.23, n. 3, p.225-230, 2000.
- CANDAN, N.; TARHAN, L. The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> stress conditions. **Plant Science**, v. 163, p. 769-779, 2003.
- CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER,S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol. 33, n. 4, p. 752 - 761, 2011.
- CARNEIRO, M. M. L. C. Trocas gasosas e metabolismo antioxidativo em plantas de girassol em resposta ao déficit hídrico. 2001. 43f. **Dissertação** (Mestrado em Fisiologia vegetal) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.
- CARVALHO M.H.C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, v.3, p. 156 - 165, 2008.

- 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.
- CORDEIRO, Y. E. M. **Potencial de uso em recuperação de áreas degradadas: um estudo de três espécies nativas da amazônia oriental sob dois regimes hídricos**. Belém-PA, 2012. Disponível em: <http://www.eumed.net/libros-gratis/2012b/1214/index.htm>. Acesso em 10/11/2016.
- DUARTE, M.R.; DRANKA, E.R.K.; YANO, M. Leaf microscopic characters of *Ormosia arborea* (Vell.) Harms, Fabaceae. **Latin American Journal Pharmacy**, v. 31, p. 526-530, 2012.
- EMPRAPA. Avaliação da sustentabilidade e planejamento ambiental em propriedade do setor silvicultural. Disponível em: <https://www.cnpem.br/projetos/silvicultura/index.html>. Acesso em 20/01/2016. 2012.
- FELFILI, J. M.; RIBEIRO, J. P.; FAGG, C. W.; MACHADO, J. W. B. **Recuperação de Matas de Galeria**. Empraba Cerrados, n° 21, p. 1-45, Planaltina, DF, 2000.
- FERRARI, E.; PAZ, A.; SILVA, A. C. Déficit hídrico no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas no Mato Grosso. **Nativa**, Sinop, v.03, n. 1, p.67-77, 2015.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.909 -930, 2010.
- GONÇALVES, I. P.; GAMA, M. C.; CORREIA, M. C. R.; LIMA, H. A. Caracterização dos frutos, sementes e germinação de quatro espécies de leguminosas da restinga de Maricá, Rio de Janeiro. **Revista Rodriguésia**, Brasília, v. 59, n. 1, p. 497-512, 2008.
- GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; GUIMARÃES, D. G. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 8-14, 2009.
- HELDT, H.W.; HELDT, F. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. In: HELDT, H.W. **Plant biochemistry**, p.435-454, 2005.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>. Acesso em: 02/08/2016.

- INÁCIO, M. C.; SILVA, E. S.; SOUZA, M. E.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Mensageiros secundários relacionados à ação dos hormônios vegetais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 4, p. 438-446, 2011.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. São Paulo, 2004. Editora Guanabara Koogan.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa. 531 p., 2004.
- LIBERATO, M. A. R; GONÇALVES, J. F. C.; CHEVREUIL, L. R.; JUNIOR, A. R. N. FERNANDES, A. V. JUNIOR, U. M. S. Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 2, p. 315-323, 2006.
- LISAR, S. T.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. **Intech**. 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/water-stress/water-stress-in-plants-causes-effects-and-responses>. Acesso em: 11/12/2016.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil** - Vol. 01- 5. edição. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p.384, 2008.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, 2002.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente / IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite - monitoramento do bioma Cerrado 2008-2009**. Brasília, 2011. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/relatoriofinal\\_cerrado\\_2008\\_2009\\_72.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatoriofinal_cerrado_2008_2009_72.pdf). Acesso em: 10/12/2016.
- NASCIMENTO, H. H. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C.; SILVA, M. A. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 3, p.617-626, 2011.
- OKASABE, Y.; OKASABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRANS, L. S. P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, Japan, v. 5, p. 1-8, 2014.
- PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. P. CASTRO; SOUZA, G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, p. 275-281, 2011.
- PEI, Z. M.; MURATA, Y. BENNING, G.; THOMINE, S.; KLUSENER, G. J. A.; GRILL, E.; Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. **Nature**, v. 406, p. 731-734, 2000.

- PEREIRA, B. A. S.; VENTUROLI, F.; CARVALHO, F. A. Florestas estacionais no Cerrado: uma visão geral. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 446-455, 2011.
- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. **As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado**. In.: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Ecologia e flora**. Brasília: EMBRAPA, v. 1, p. 152-212, 2008.
- ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, v.40, p.13-29, 2002.
- SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. **Mapeamento de Cobertura Vegetal do Bioma Cerrado: estratégias e resultados**. Embrapa Cerrados, Planaltina, Distrito Federal, 2007.
- SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado Ecologia e Flora**. Vol 2, Embrapa Cerrados, Brasília, DF, 2008.
- SCARIOT, A.; SILVA, J. C. S.; FELFILI, J. M. **Cerrado: ecologia biodiversidade e conservação**. In: FELFILI, J. M.; SILVA, J. C. S.; (ed.). Biodiversidade, ecologia e conservação do Cerrado: avanços no conhecimento. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. cap. 1, p.27-44.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. **Plant Physiology**, v. 115, n. 2, p. 327-334, 1997.
- SILVA, M. A. V.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; OLIVEIRA, A. F. M.; SANTOS, V. F. Resposta estomática e produção de matéria seca em plantas jovens de aroeira submetidas a diferentes regimes hídricos. **Revista Árvore**, Viçosa, v.32, n. 2, p.335-344, 2008.
- SILVA, M. M. P.; VASQUEZ, H. M.; SMITH, R. B.; SILVA, J. F. C.; ERBESDOBLER, E. D.; JUNIOR, P. S. C. A. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 67-74, 2006.
- SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. VALE, F. H. A.; ARAÚJO, F. P. PIMENTA, M. A. Stomatal changes induced by intermittent drought in four umbu tree genotypes. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Campo dos Goytacases, v. 21, n. 1, p. 33-42, 2009.
- SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v.1, n. 1., p. 9-19, 2007.
- SOUZA, T. C. Aplicação de ácido abscísico (ABA) e caracterização fisiológica e anatômica em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca. **Tese**. Lavras, MG. 2012.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª edição. Editora Artmed, 2013.

XIONG, L.; ZHU, J. K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. **Plant Cell Environmental**, v. 25, p. 131-139, 2002.

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

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

## **CAPÍTULO I**

### **METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MUDAS DE *Ormosia arborea* (VELL.) HARMS SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO**

**Resumo:** Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do ácido abscísico (ABA) no metabolismo fotossintético e na atividade de enzimas antioxidantes em mudas de *O. arborea* submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e consistiu em seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA; 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$ ; 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$ ; 4) suspensão da irrigação diária; 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  e 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$ . As mudas sob déficit hídrico apresentaram redução significativa nas trocas gasosas, no entanto, a suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  proporcionou maior tolerância à seca, pois não atingiram valores nulos de taxa fotossintética. Os tratamentos sob déficit hídrico apresentaram aumento na atividade das enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase nos períodos de fotossíntese nula.

**Palavras-chave:** *trocas gasosas, enzima antioxidante, ácido abscísico*

#### 4.1. Introdução

Os fatores ambientais influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas, dentre eles, o estresse hídrico é um dos principais que limita o crescimento e a produtividade da planta (OSAKABE et al., 2014; BOUTRAA et al., 2010) e também afeta processos fisiológicos, como a fotossíntese. As respostas das plantas ao déficit hídrico podem incluir diminuição da área foliar, abscisão foliar, fechamento estomático, maior crescimento de raízes em profundidade, limitação da fotossíntese e aumento do depósito de cera nas folhas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O clima do Cerrado é caracterizado por apresentar duas estações bem definidas, uma estação seca e uma chuvosa, submetendo as espécies à escassez de água (SCARIOT et al., 2005). O inverno é seco e pode ocorrer secas prolongadas, devido a redução dos índices pluviométricos no período de maio a setembro, resultando na baixa umidade relativa do ar que permanece entre 10 e 30%. (MMA/IBAMA, 2011).

Dessa forma, mesmo que o estresse hídrico seja moderado, pode desencadear a síntese do ácido abscísico (ABA) na raiz, o qual é transportado para diferentes partes da planta (LARCHER, 2004). Este hormônio está presente em todas as plantas vasculares e regula vários processos, e quando a planta está submetida ao déficit hídrico, há uma elevação endógena da concentração de ABA, que desencadeia o fechamento estomático nas folhas, reduzindo assim a perda de água por transpiração (ZHU, 2002; KERBAUY, 2004; SOUZA, 2012).

A condição de déficit hídrico favorece a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) na planta, nas formas de oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ) e ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), que ocorre durante a fotossíntese e fotorrespiração e são tóxicas às células; elas podem se ligar com moléculas vitais, como gorduras, proteínas, ácidos nucleicos, causando a peroxidação lipídica, desnaturação de proteínas e mutação no DNA, e danos no RNA, às proteínas das membranas celulares, oxidando pigmentos fotossintéticos (MITTLER, 2002; BOUTRAA et al., 2010; FERRARI et al., 2015), podendo levar à morte celular.

O ácido abscísico e as espécies reativas de oxigênio são moléculas mensageiras que induzem a defesa antioxidante (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997). Para defesa primária contra esses radicais livres, as plantas apresentam sistemas enzimáticos antioxidantes contra radicais livres gerados em condições de seca, como a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do radical superóxido em  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$ , a catalase



(CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) que podem quebrar o  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  (CARNEIRO et al., 2011).

*Ormosia arborea* (Vell.) Harms é uma espécie arbórea conhecida popularmente como olho-de-cabra, olho-de-boi, pau-ripa, que pode ser encontrada em floresta pluvial atlântica e latifoliada semidecídua (LORENZI, 2008), no Cerrado (EMBRAPA, 2012) e em Matas de Galeria do Cerrado (SANO et al., 2008). É uma espécie com ampla e descontínua dispersão, que produz anualmente grande quantidade de sementes, porém apresenta uma frequência pequena (LORENZI, 2008).

Considerando que *Ormosia arborea* é encontrada em floresta pluvial atlântica e em Matas de Galeria, acredita-se que suas mudas não apresentarão respostas de tolerância ao déficit hídrico, mas que o ABA poderá induzir essas respostas.

Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar o comportamento de mudas de *Ormosia arborea* submetidas ao déficit hídrico e o efeito de diferentes concentrações de ABA nas trocas gasosas, na atividade enzimática das enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidase e no restabelecimento dessas mudas.

## 4.2. Material e métodos

### 1. Implantação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com início em 13 de março de 2016 à 22 de setembro de 2016. Nesse ambiente protegido, a temperatura e umidade não foram controladas. As plantas foram mantidas sob sombrite 30% de sombra e protegidas da precipitação pluviométrica sob cobertura plástica durante o experimento. As mudas de *O. arborea* com 19 meses foram cultivadas em vasos com capacidade de oito kg, sendo uma muda por vaso. O experimento consistiu em seis tratamentos, sendo eles: 1) irrigação diária sem ABA (I); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu$ M (I 10); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu$ M (I 100); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu$ M (E 10); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu$ M (E 100). Cada tratamento foi composto por 24 mudas, além de quatro mudas separadas para caracterização no tempo zero. As avaliações foram realizadas em cinco períodos: T0- tempo zero (início do experimento), 1<sup>a</sup> F0- primeira fotossíntese nula (aos 29 dias), 2<sup>a</sup> F0- segunda fotossíntese nula (aos 105 dias), REC- recuperação (aos 127 dias) e FINAL- avaliação final (aos 191 dias).

Para os tratamentos de irrigação, as mudas foram divididas em dois grupos; o primeiro foi irrigado diariamente durante todo o período do experimento, mantido o solo com 70% da

capacidade de retenção de água e o segundo, foi submetido a restrição hídrica equivalente a 40% da capacidade de retenção de água durante 19 dias e em seguida, a irrigação foi totalmente suspensa até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero (1ª F0). A partir da 1ª F0 todos os vasos foram irrigados diariamente, e as plantas mantidas com 70% da capacidade de retenção de água até a recuperação, quando as mudas do déficit hídrico apresentarem fotossíntese semelhante as irrigadas. Após a recuperação, outro ciclo de suspensão hídrica foi realizado e as mudas avaliadas até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero (2ª F0), momento que foram reirrigadas até a recuperação (REC), com avaliações até o 191º dia (FINAL).

Foram realizadas duas aplicações de ABA, sendo que a primeira ocorreu no tempo zero (T0 – início do experimento) e a segunda, realizou-se aos 25 dias após a segunda suspensão hídrica (94º dia), com base na taxa fotossintética próxima a um, conforme Figura 1.

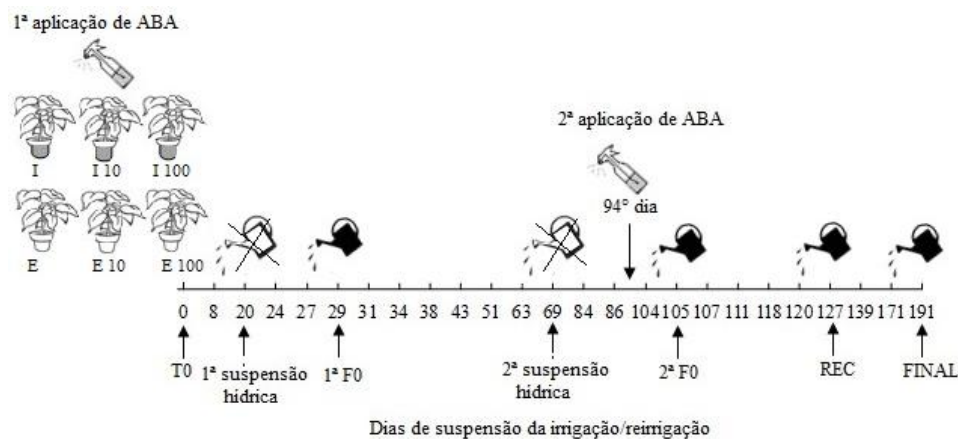


Figura 1. Períodos de avaliação do experimento. T0- tempo zero e primeira aplicação de ABA; 1ª suspensão hídrica (20º dia); 1ª F0- primeira fotossíntese nula (69º dia); 2ª suspensão hídrica (105º dia); 2ª aplicação de ABA (94º dia); REC – recuperação (127º dia) e FINAL – avaliação final (191º dia).

## 2. Características avaliadas

### 2.1. Características não destrutivas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas a cada dois dias após a suspensão da irrigação com um medidor portátil de fotossíntese LCIPro- SD ADC BioScientific Ltd., sendo avaliados A: taxa fotossintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), Gs: condutância estomática ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), E: transpiração ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) e Ci: concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ L}^{-1}$ ); além da eficiência de carboxilação (A/Ci), eficiência no uso da água (A/E) e eficiência intrínseca do uso da água (A/Gs). Também foi avaliado a fluorescência da clorofila *a* nos períodos de avaliação T0, 1ª e 2ª F0, REC e FINAL, obtida por meio de fluorômetro portátil

modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA), sendo anotadas as medidas de fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ). A partir dos dados de fluorescência foram calculados: fluorescência variável ( $F_v = F_m - F_0$ ), eficiência do fotossistema efetiva da conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII ( $F_0/F_m$ ). A determinação da fluorescência e das trocas gasosas foram realizadas entre 8 e 11h da manhã, nas mesmas folhas utilizadas para as avaliações das trocas gasosas, estas foram submetidas a um período de 30 minutos de adaptação ao escuro com o auxílio de cliques adaptadores, para que todos os centros de reação nessa região foliar adquirissem a condição de “aberto”, ou seja, oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons.

## 2.2. Características destrutivas

As avaliações destrutivas foram realizadas no tempo zero ( $T_0$  – dia 13/03), na primeira e segunda fotossíntese nula ( $1^a F_0$  e  $2^a F_0$ - dias 13/04 e 28/06, respectivamente), recuperação (REC- dia 20/07) e avaliação final (FINAL- dia 22/09) e determinados e potencial hídrico da folha ( $\psi_w$ ), obtido a partir de leituras realizadas em folhas individuais pertencentes ao segundo par de folhas totalmente expandidas do ápice para a base, entre 10 e 11h da manhã, usando uma câmara de pressão tipo Scholander (Portable Plant water status console - modelo 3115) (SCHOLANDER et al., 1965), imediatamente após a coleta das folhas. Os valores foram obtidos em Bar e posteriormente convertidos em MPa (1 bar = - 0,1 MPa). Também foram realizadas análise de atividade das enzimas antioxidantes.

## 3. Atividade das enzimas antioxidantes

### 3.1 Preparo do extrato

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

### 3.2 Atividade da superóxido dismutase (SOD)

Para realizar o ensaio da enzima superóxido dismutase, foi preparada uma solução contendo 2,0 mL de L-metionina (13 mM); 2,0 mL de azul de nitrotetrazólio (NBT) (0,44 mM); 2,0 mL de ácido etilenediaminotetracético (EDTA) (100nM); 3,2 mL tampão fosfato de potássio (0,1M) e 0,8 mL de riboflavina (1mM).

Em um tubo de ensaio, adicionou-se 3 mL dessa solução para cada repetição e em seguida, 100 µL de extrato enzimático. Os tubos foram levados para BOD (Biochemical Oxygen Demand) contendo lâmpadas fluorescentes de 15W, a 25°C e permaneceram por 15 minutos. Em seguida, os tubos foram retirados da fonte luminosa e a leitura da atividade da SOD foi realizada em espectrofotômetro Bioespectro a 560 nm com três repetições por tratamento. A atividade da SOD foi expressa em unidades de atividade x-1 de matéria seca.

### 3.3 Atividade da catalase (CAT)

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

### 3.4 Atividade da peroxidase (POD)

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

## 4. Delineamento estatístico e análise dos dados:

Para os dados de trocas gasosas, o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos com quatro repetições, onde cada repetição correspondeu a uma muda. Os resultados foram submetidos à análise de variância e havendo efeito estatístico as médias de cada tratamento foram submetidas ao teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

Para os dados de fluorescência da clorofila *a*, potencial hídrico e atividade das enzimas antioxidantes, o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (tratamentos

X períodos de avaliação) de parcela subdividida, onde a parcela foi os tratamentos e as subparcelas os períodos de avaliação. Os resultados foram submetidos à análise de variância e havendo efeito estatístico as médias dos tratamentos foram submetidas ao teste Scott knott a 5% de probabilidade e as médias dos tempos de avaliação submetidas ao teste Tukey a 5% de probabilidade, ambos com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

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

Os dados de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) externa ao sombrite (Text), interna (Tint - dentro da cobertura plástica), e da folha (Tf); umidade relativa externa ao sombrite (URext) e interna (URint- dentro da cobertura plástica) durante o período de condução do experimento encontram-se na Figura 2. Os dados externos foram registrados e retirados do banco de dados da estação da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, localizada a 23,4 km do local do experimento; os dados internos dentro da cobertura plástica utilizando um termohigrógrafo digital Incoterm e a temperatura da folha foi obtida utilizando dados do medidor portátil de fotossíntese LCIPro.

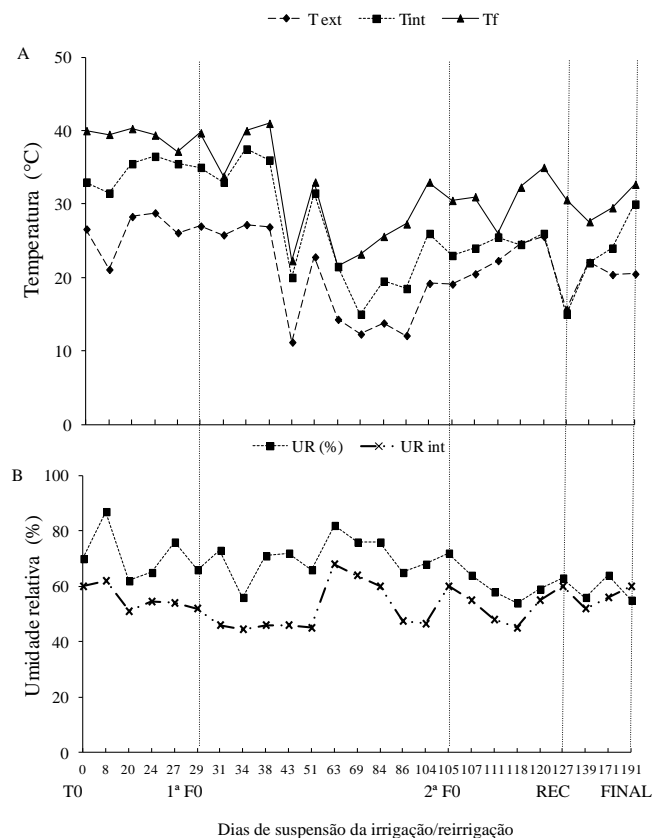


Figura 2: Temperaturas médias da folha (Tf), interna (Tint) e externa (Text) durante o experimento (A). Umidade relativa (UR%) e interna (Uint) (B). Dados de temperatura média externa e umidade relativa média foram retirados da Embrapa, do dia 17 de março de 2016 a 22 de setembro de 2016.

### 4.3. Resultados

O potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) das mudas de *Ormosia arborea* apresentou interação significativa entre os tratamentos e os períodos de avaliação. As mudas não tratadas com ABA do déficit hídrico apresentaram redução significativa e com os menores valores do  $\Psi_w$  no primeiro e segundo ciclo da fotossíntese nula (1,43 MPa e 2,03 MPa, respectivamente); sendo que na 1ª F0 não houve diferença significativa entre os tratamentos do déficit hídrico com e sem doses de ABA (Estresse sem ABA - E, E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA) (Figura 3).

No entanto, na 2ª F0 houve diferença significativa dos tratamentos com doses de ABA (E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA) para o tratamento sem ABA, o qual apresentou menor valor de potencial hídrico, sendo que na 2ª F0 a redução foi ainda maior do que na 1ª F0. Os tratamentos irrigados sem ABA (I) e com doses de ABA (I 10  $\mu$ M ABA e I 100  $\mu$ M ABA) não apresentaram diferenças significativas nos períodos de fotossíntese nula (1ª F0 e 2ª F0) (Figura 3).

Na recuperação e avaliação final, as mudas de todos os tratamentos apresentaram valores de potencial hídrico próximos de zero, demonstrando que os tratamentos do déficit hídrico apresentaram recuperação, não havendo diferença entre os tratamentos (Figura 3).

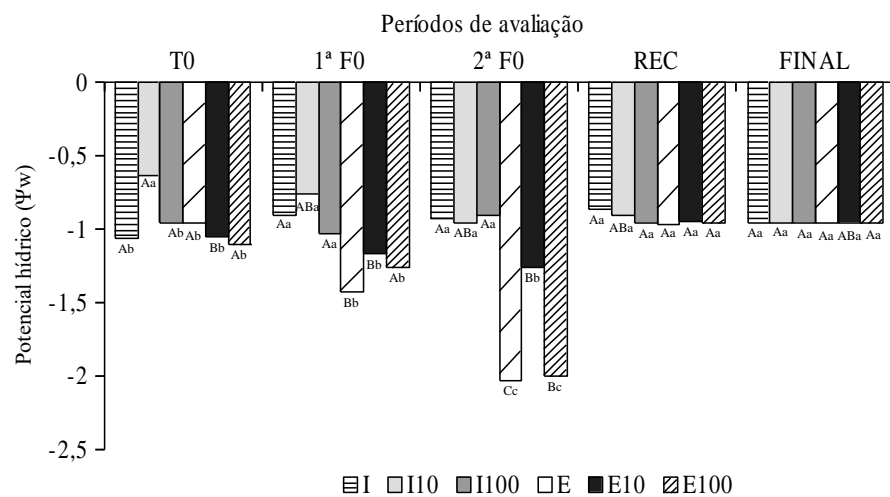


Figura 3: Valores médios do potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) em função dos períodos de avaliação entre mudas irrigadas (I) de *Ormosia arborea* (I, I 10  $\mu$ M ABA e I 100  $\mu$ M ABA) e submetidas à condição de déficit hídrico (E, E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA). Letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos no mesmo período de avaliação e letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos diferentes períodos de avaliação.

Nas mudas dos tratamentos irrigados (I 10  $\mu$ M e I 100  $\mu$ M), as doses de ABA não proporcionaram aumento nas taxas fotossintéticas, quando comparados com o tratamento

irrigado (I) sem ABA, pois apresentaram variações nos valores com oscilações da taxa fotossintética ao longo dos dias, apresentando aumento, redução ou sem diferença significativa quando comparada ao tratamento irrigado (sem ABA).

No primeiro ciclo de fotossíntese nula (1ª F0), as mudas dos tratamentos sob déficit hídrico apresentaram redução na taxa fotossintética no 24º dia (Figura 4A). No entanto, o tratamento sem dose de ABA indicou menor tolerância a seca, se comparado com os tratamentos que receberam doses de ABA. As taxas fotossintéticas desses tratamentos apresentaram uma intensa redução e no 29º dia, sendo que os tratamentos sem ABA e com a dose 100 µM de ABA, atingiram a fotossíntese nula, enquanto que o tratamento com a dose 10 µM de ABA a taxa fotossintética não atingiu valores nulos. Assim, essa dose proporcionou maior tolerância às mudas de *O. arborea* ao déficit hídrico. Após a reidratação, as mudas sob déficit hídrico recuperaram o metabolismo fotossintético em 14 dias (43º dia), com valores semelhantes aos das mudas dos tratamentos irrigados.

A segunda suspensão da irrigação ocorreu no 69º dia do início do experimento, e subsequente aplicação da segunda dose de ABA, que ocorreu no 94º dia. As mudas dos tratamentos E e E 100 µM atingiram valores nulos de taxa fotossintética aos 36 dias após a segunda suspensão da irrigação, que ocorreu no 105º dia (2ª F0), enquanto que as mudas do tratamento E 10 µM não atingiram valores nulos de taxa fotossintética. As mudas foram reirrigadas e recuperaram o metabolismo fotossintético em 22 dias (127º dia), com valores próximos aos das mudas dos tratamentos irrigados.

Os dois ciclos de fotossíntese nula demonstraram que a melhor dose de ABA nos tratamentos estressados foi a dose 10 µM, proporcionando maior tolerância da muda a seca. No entanto, na 1ª F0 as mudas atingiram valores nulos de taxa fotossintética em 9 dias após a suspensão da irrigação, enquanto que a 2ª F0 só foi alcançada aos 36 dias. A diferença da quantidade de dias para atingir taxa fotossintética nula entre os dois ciclos ocorreu devido a condições climáticas, sendo que no primeiro ciclo, as temperaturas estavam elevadas e no segundo ciclo, houve queda de temperatura e aumento da umidade devido a grande quantidade de chuva nesse período (Figura 2), o que contribuiu para elevar a umidade relativa ao redor das mudas.

A taxa de transpiração (E) das mudas dos tratamentos irrigados apresentou variação (Figura 4B), porém tratamentos com doses de ABA pareceu não afetar a transpiração nesses tratamentos, ou seja, na maioria dos dias esses tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si. A partir do 43º dia, houve uma redução acentuada na transpiração devido à queda de temperatura (Figura 2).

O déficit hídrico promoveu redução na transpiração das mudas dos tratamentos submetidos ao estresse hídrico, com diferenças significativas para os irrigados aos 27°, 29°, 104° e 105° dias. As reduções foram mais acentuadas quando as taxas fotossintéticas estavam próximas à zero. No entanto, no tratamento com a dose 10  $\mu\text{M}$  de ABA as mudas não apresentaram valores nulos na 1ª F0 e na 2ª F0, enquanto que no tratamento sem dose de ABA e com 100  $\mu\text{M}$  de ABA, atingiram valores nulos. Quando as mudas foram reidratadas, recuperaram o metabolismo atingindo níveis próximos dos tratamentos irrigados, sem diferença significativa entre todos os tratamentos.

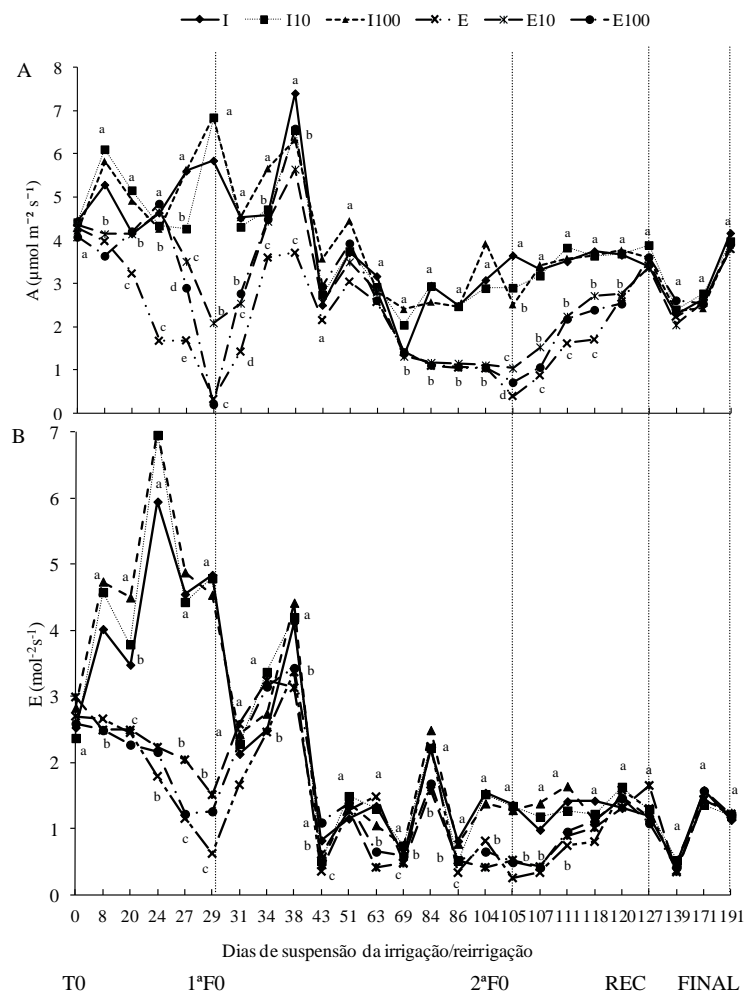


Figura 4: Valores médios da taxa fotossintética (A) – A, e taxa de transpiração (E) –B, em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA). Linha vertical contínua indicam os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL).

As mudas de todos os tratamentos apresentam variações em relação a eficiência do uso da água (A/E); as diferenças significativas entre os tratamentos irrigados e do déficit hídrico



ocorreram a partir do 20º dia (Figura 5). Porém, quando as mudas do déficit hídrico restabeleceram o metabolismo, apresentaram valores próximos aos dos tratamentos irrigados, não havendo diferença significativa. As mudas sob déficit hídrico tratadas com 10 µM de ABA apresentaram valores próximos ao dos tratamentos irrigados na 1ª F0 (29º dia).

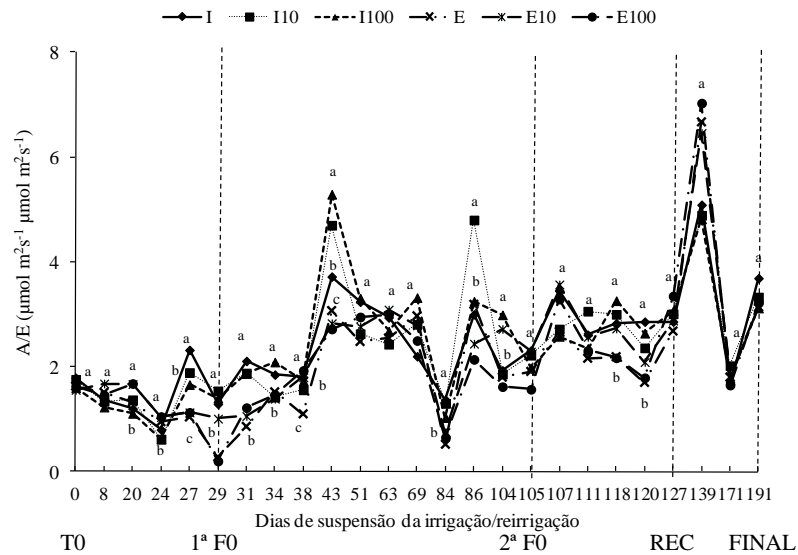


Figura 5: Valores médios da eficiência do uso da água - A/E em função dos dias de avaliação de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Linha vertical contínua indicam os períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL).

Os valores da concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) oscilaram durante o experimento e as mudas irrigadas apresentaram valores superiores aos demais tratamentos na maioria dos dias (Figura 6A). No entanto, a partir do 84º dia, houve uma redução significativa nesses tratamentos. As mudas do déficit hídrico do tratamentos E 10 µM ABA não diferiram significativamente das mudas irrigadas quando a taxa fotossintética atingiu valores nulos na 2ª F0. Quando as mudas foram reirrigadas, esses tratamentos atingiram valores próximos aos irrigados e até valores superiores.

Em relação à eficiência de carboxilação (A/C<sub>i</sub>), as mudas sob déficit hídrico apresentaram valores inferiores em relação aos tratamentos irrigados (Figura 6B), na primeira e na segunda fotossíntese nula.

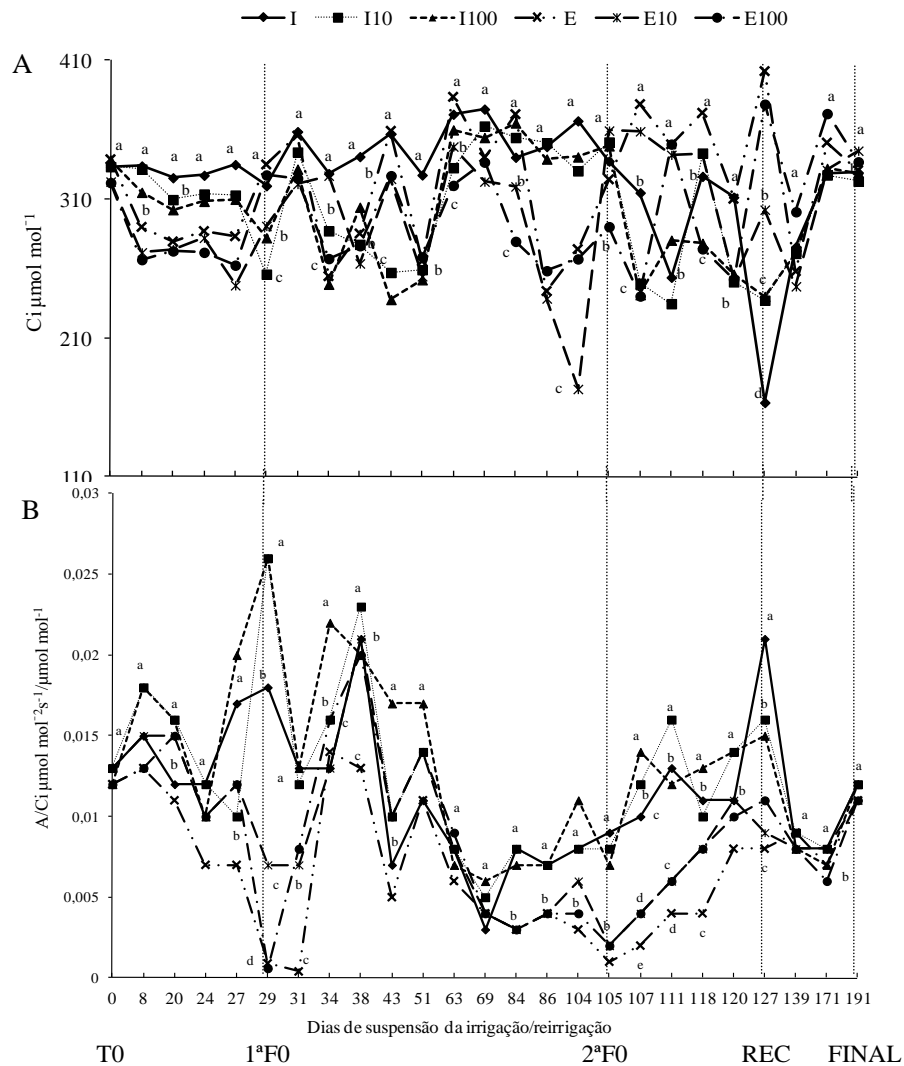


Figura 6: Valores médios da concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) – A e da eficiência instantânea de carboxilação de CO<sub>2</sub> (A/C<sub>i</sub>) - B em função dos dias de avaliação entre mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10µM ABA e E 100 µM ABA). Linha vertical contínua indicam os períodos de e avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL).

A condutância estomática (G<sub>s</sub>) das mudas sob déficit hídrico foram inferiores à das mudas irrigadas a partir do 8º dia, com declínio acentuado quando ocorreu a 1ª F0 e 2ª F0 (Figura 7A). As mudas do tratamento E 10 µM ABA, foram superiores aos demais tratamentos do déficit hídrico na 1ª F0. Com a reirrigação, as mudas do déficit hídrico reestabeleceram os valores se restabeleceram no mesmo nível das mudas irrigadas no 51º dia, enquanto que a taxa fotossintética nessas mudas reestabeleceu no 43º dia (Figura 4A). Houve redução nos valores das mudas irrigadas no 43º dia, que pode ser atribuído à queda de temperatura, pois quando a temperatura aumentou, os valores da condutância estomática

aumentaram (Figura 2A). A temperatura foliar também reduziu quando houve essa redução na temperatura, o que provocou a redução das trocas gasosas nas mudas irrigadas.

Em relação à eficiência intrínseca do uso da água (A/Gs), as mudas apresentaram oscilações ao longo do experimento. As mudas sob déficit hídrico apresentaram valores superiores ao das irrigadas na 1ª F0, ressaltando que no 43º, 86º e 104º dias, as mudas do tratamento do déficit hídrico pulverizadas com 10 µM de ABA (E 10) apresentaram valores superiores ao demais tratamentos, tanto dos irrigados quanto dos estressados (Figura 7B); a queda de temperatura nesses dias pode ter afetado as plantas irrigadas. Porém, a tendência observada foi de que sob déficit hídrico os valores foram superiores.

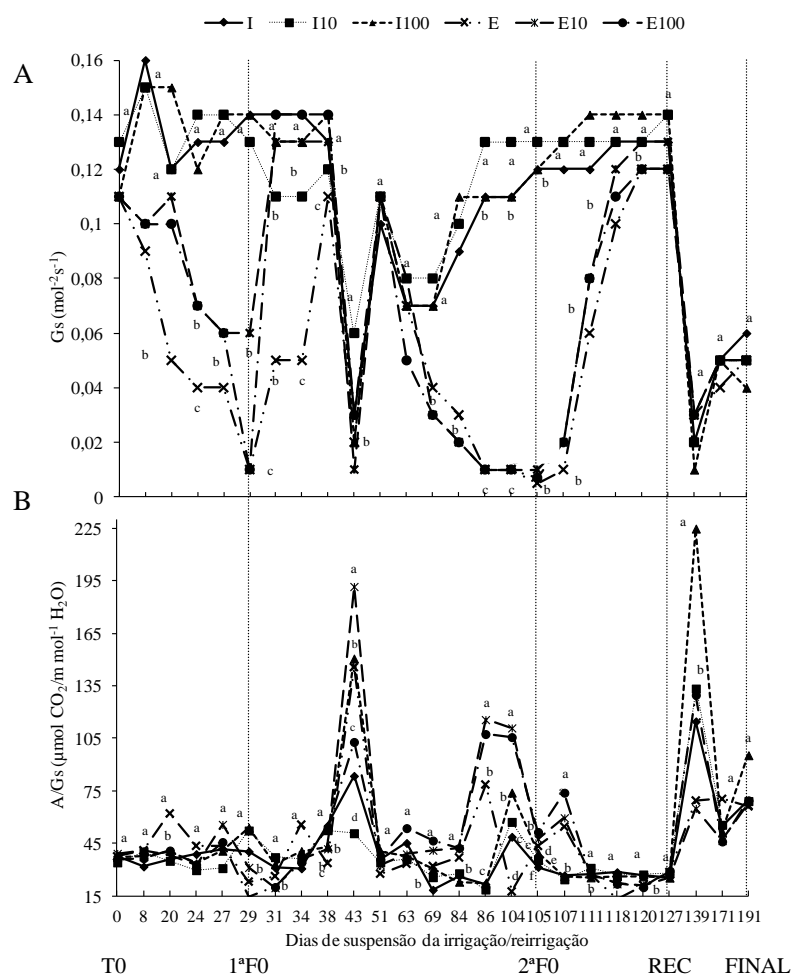


Figura 7: Valores médios da condutância estomática (Gs) - A e eficiência intrínseca do uso da água (A/G) - B em função dos dias de avaliação em mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Linha vertical contínua indicam os períodos de e avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL).

A fluorescência inicial (F0) não apresentou interação significativa entre os tratamentos, porém o fator período de avaliação foi significativo, sendo que no tempo zero (T0) apresentou valores superiores aos demais períodos (Figura 8).

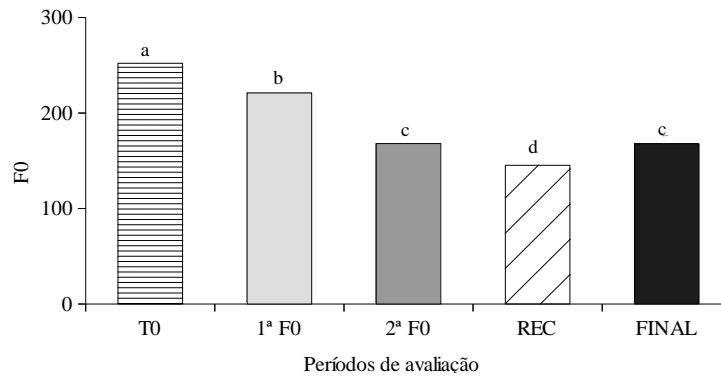


Figura 8: Fluorescência inicial (F0) de mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL).

A fluorescência variável (Fv) e máxima (Fm) das mudas apresentaram interação entre os tratamentos e os períodos de avaliação (Figura 9A e B). As mudas submetidas ao déficit hídrico E e E 100 apresentaram valores inferiores aos irrigados nos dois ciclos de fotossíntese nula, enquanto que o tratamento do déficit hídrico com a dose de 10  $\mu\text{M}$  ABA não diferiu significativamente dos tratamentos irrigados nos dois períodos de fotossíntese nula. Na recuperação, a Fm e Fv no tratamento do déficit hídrico E 100  $\mu\text{M}$  ABA não foi diferente significativamente dos tratamentos irrigados. Na avaliação final (FINAL), as mudas de todos os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si.

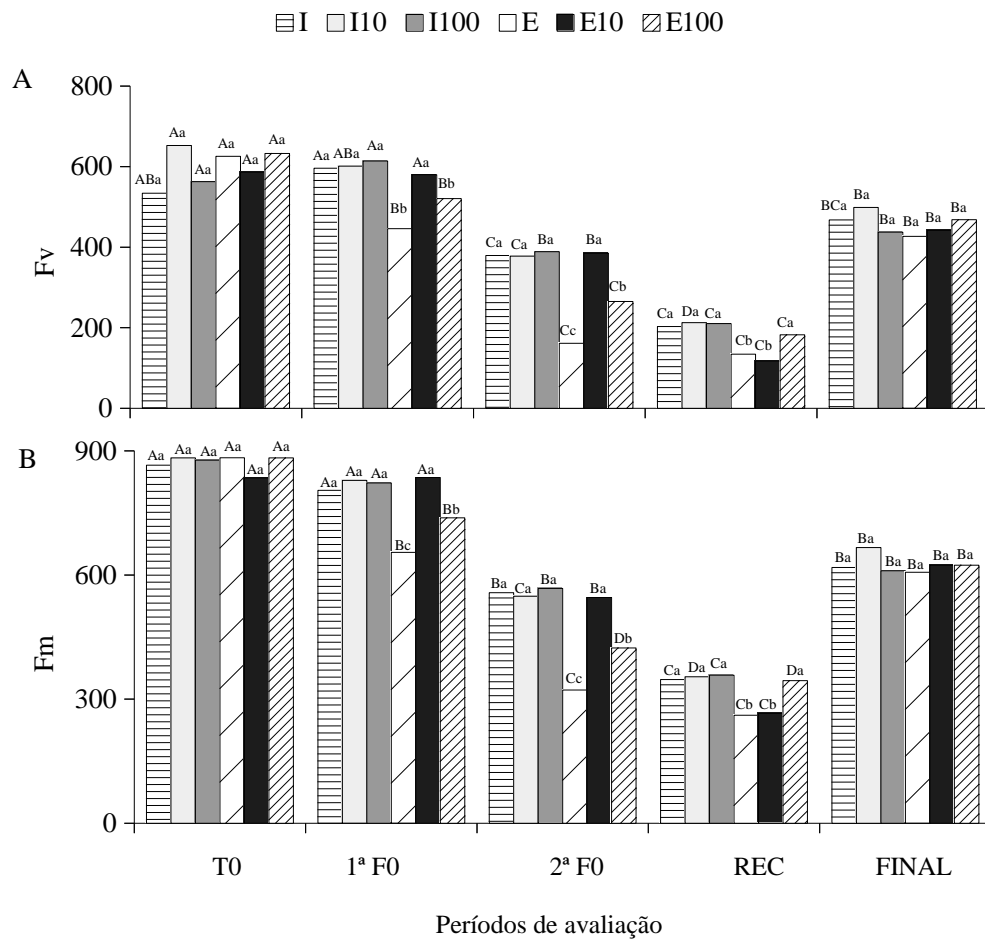


Figura 9: Fluorescência variável (Fv) – A e fluorescência máxima (Fm) – B de mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10  $\mu$ M ABA e I 100  $\mu$ M ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Letras maiúsculas diferem entre os tempos de avaliação e minúsculas entre os tratamentos.

Para a eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida (Fv/F0), as mudas dos tratamentos E e E 100 $\mu$ M ABA apresentaram valores inferiores aos demais na 2ª F0 (Figura 10A) e na avaliação final (FINAL), os tratamentos I, I 10 $\mu$ M ABA e E 100 $\mu$ M ABA apresentaram valores superiores aos demais (I 100 $\mu$ M ABA, E e E 10 $\mu$ M ABA).

A eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) das mudas apresentou diferença entre os tratamentos na segunda fotossíntese nula (2ª F0), no qual as mudas do tratamento do déficit hídrico (E) apresentaram valores inferiores aos demais (Figura 10B).

A interação entre tratamentos e os períodos de avaliação foi significativa para a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos fotossistema II F0/Fm, sendo que as mudas do déficit hídrico do tratamento E apresentaram valores superiores aos demais

tratamentos na 2ª F0. Na recuperação (REC) as mudas do déficit hídrico apresentaram valores superiores aos demais (Figura 10C).

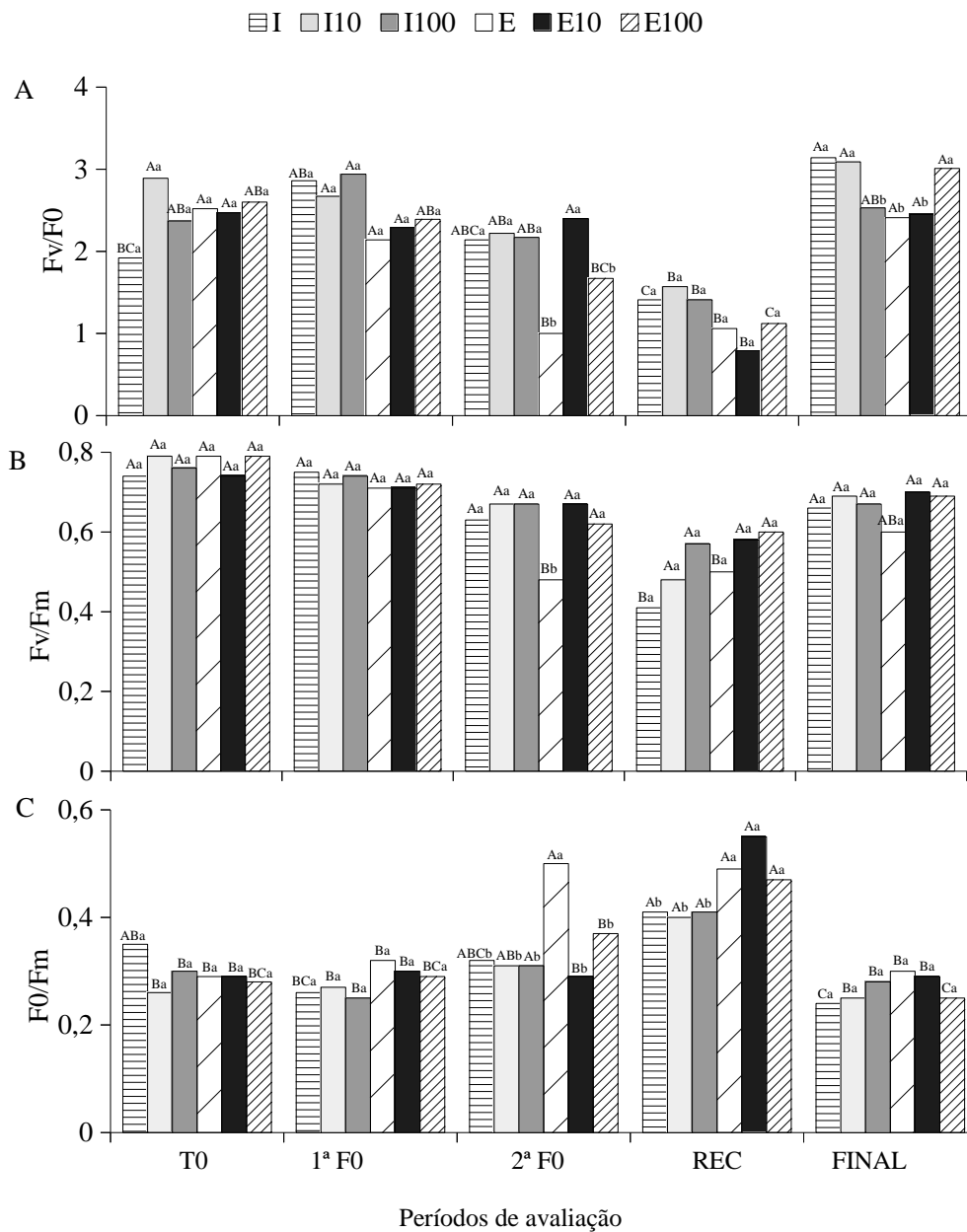


Figura 10: Eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) – A; eficiência quântica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) – B e produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II ( $F_0/F_m$ ) - C de mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Letras maiúsculas diferem entre os tempos de avaliação e minúsculas entre os tratamentos.

Em relação às enzimas antioxidantes na folha, a atividade da catalase (CAT) apresentou valores superiores nas mudas dos tratamentos do déficit hídrico nos dois ciclos de

fotossíntese nula se comparadas com as mudas irrigadas. Entretanto, na 1ª F0 as mudas irrigadas tratadas com a dose 100  $\mu\text{M}$  de ABA (I 100) não diferiram significativamente das mudas do déficit hídrico (Figura 11A). Com relação as mudas irrigadas tratadas com ABA (I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA), os valores foram superiores ao tratamento irrigado sem ABA (I), nos dois ciclos de fotossíntese nula (Figura 11A). Na raiz, a CAT apresentou valores superiores nos tratamentos do déficit hídrico na 1ª F0, 2ª F0 e REC (Figura 11B). Tanto na folha quanto na raiz, as doses de ABA em mudas sob déficit hídrico não diferiram significativamente do tratamento sem ABA (E) (Figura 11).

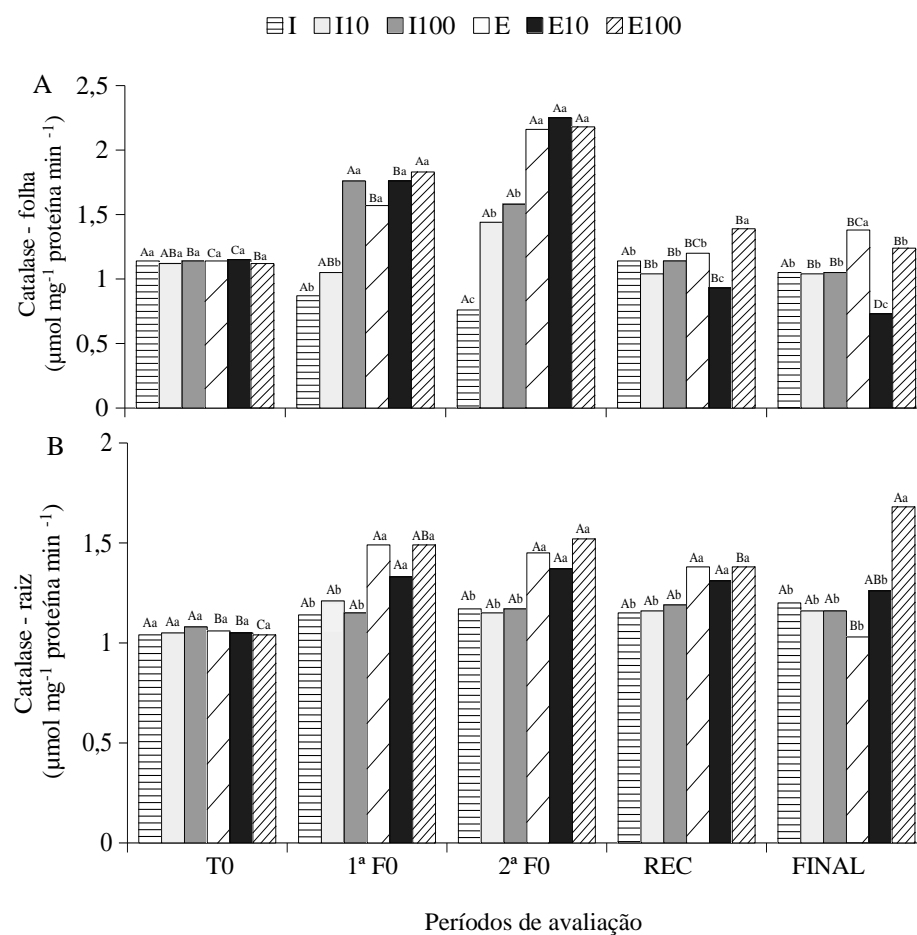


Figura 11. Atividade da enzima catalase na folha (A) e na raiz (B) de mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Letras maiúsculas diferem entre os tempos de avaliação e minúsculas entre os tratamentos.

A atividade da peroxidase (POD) apresentou valores superiores nas folhas das mudas dos tratamentos déficit hídrico E e E 100 na 1ª F0 e 2ª F0, (Figura 12A). Na raiz, as mudas

dos tratamentos do déficit hídrico apresentaram valores superiores às irrigadas na segunda fotossíntese nula (2ª F0). Na raiz, não houve diferença entre os tratamentos dentro de cada forma de irrigação nos períodos de fotossíntese nula (Figura 12B).

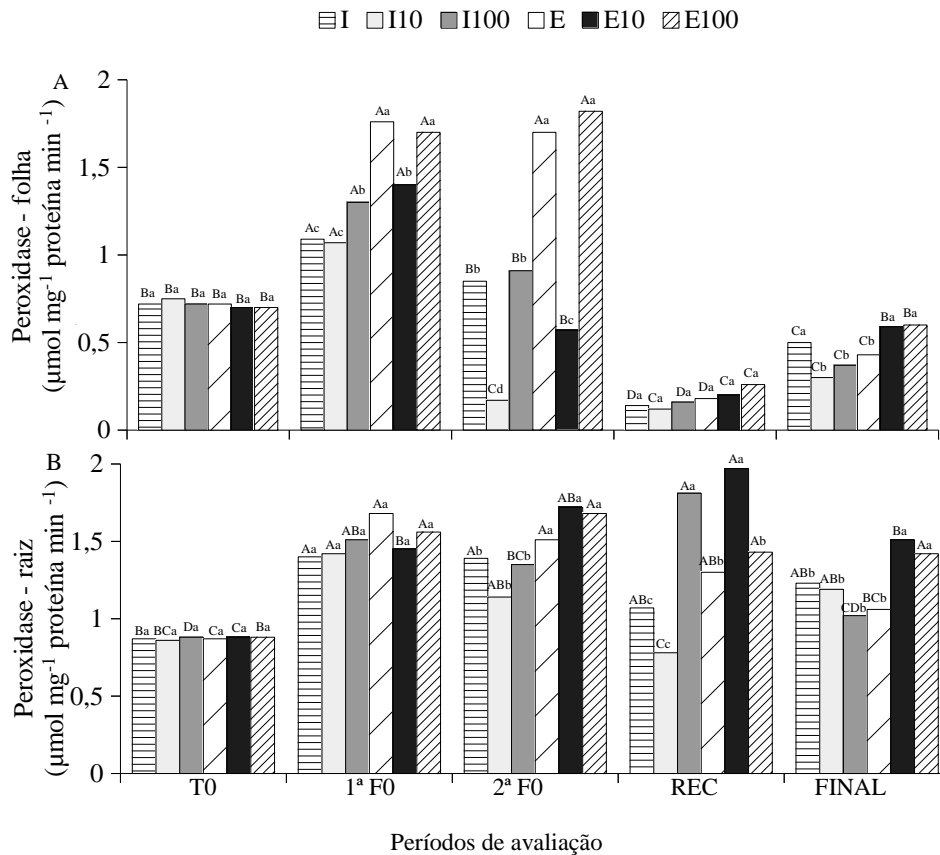


Figura 12. Atividade da enzima peroxidase na folha (A) e na raiz (B) de mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Letras maiúsculas diferem entre os tempos de avaliação e minúsculas entre os tratamentos.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) na folha das mudas do déficit hídrico sem ABA (E) foram superiores aos demais tratamentos na 1ª F0 e 2ª F0, sendo que as mudas do déficit hídrico que receberam doses de ABA não apresentaram aumento significativo de SOD nesses períodos. Os tratamentos irrigados e não irrigados com as doses de ABA apresentaram variação nos valores, sendo que as mudas do tratamento do déficit hídrico sem ABA (E) apresentaram aumento expressivo nos períodos de fotossíntese nula, quando comparado aos demais tratamentos (Figura 13A). Na raiz, a SOD apresentou valores mais expressivos nos tratamentos estressados E e E 100 na 1ª F0 e E 100 na 2ª F0 (Figura 13B). Na recuperação as mudas do déficit hídrico apresentaram valores superiores as mudas irrigadas e na avaliação



final, as mudas do tratamento E do déficit hídrico foram superiores as demais. No entanto, no tratamento E 10 $\mu$  ABA apresentou menor valor na 1ª F0, se comparado com os demais tratamentos do déficit hídrico.

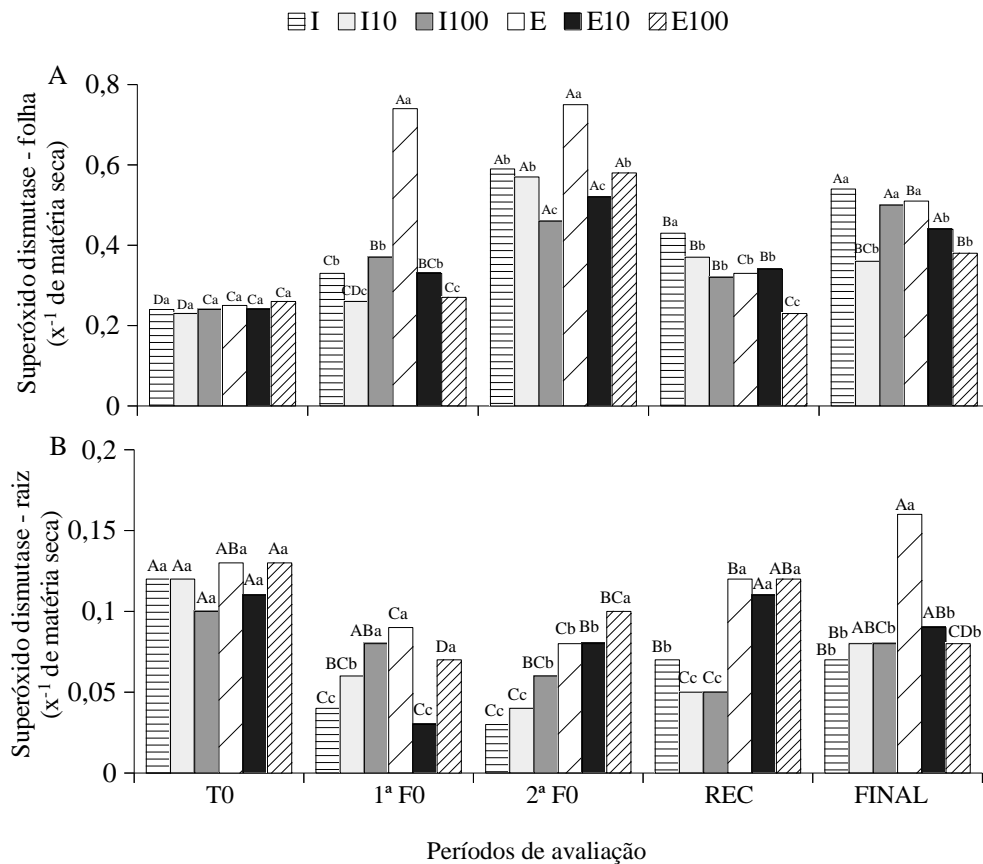


Figura 13. Atividade da enzima superóxido dismutase na folha (A) e na raiz (B) de mudas de *Ormosia arborea* irrigadas (I, I 10  $\mu$ M ABA e I 100  $\mu$ M ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA) nos diferentes períodos de avaliação: tempo zero (T0), primeira fotossíntese nula (1ª F0), segunda fotossíntese nula (2ª F0), recuperação (REC) e avaliação final (FINAL). Letras maiúsculas diferem entre os tempos de avaliação e minúsculas entre os tratamentos.

#### 4.4. Discussão

Em plantas irrigadas, o potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) tende a apresentar valores próximos de zero, indicando assim que estão hidratadas. As mudas irrigadas de *Ormosia arborea* com ou sem doses de ABA não apresentaram diferenças significativas, indicando que o ABA não influenciou no  $\Psi_w$  dessas mudas. Esse resultado corrobora com o de Souza (2012), cuja aplicação das doses de 10 e 100 $\mu$ M de ABA em mudas irrigadas de *Zea mays* L. não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos irrigados.

O potencial de água da folha descreve seu estado energético, e determina os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera (BERGONCI et al., 2000), sendo que o crescimento celular, fotossíntese e produtividade são influenciados pelo potencial hídrico, indicando a saúde de planta (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Por outro lado, as mudas sob déficit hídrico foram afetadas pela falta de água, com o potencial hídrico mais negativo. Na 1ª F0 não houve diferença significativa entre esses tratamentos, enquanto que na 2ª F0 o tratamento E 10  $\mu\text{M}$  de ABA apresentou valores superiores aos demais tratamentos do déficit hídrico. Estudos tem demonstrado que a aplicação exógena de ABA nas plantas pode aumentar sua tolerância ao estresse (YIN et al., 2004). Em baixos potenciais hídricos, o aumento da concentração de ABA endógeno promove o fechamento estomático, o que auxilia a planta a enfrentar o estresse hídrico (TAIZ & Zeiger, 2013). Gonçalves et al. (2009) submeteram plantas jovens de *Carapa guianensis* Aubl. ao déficit hídrico e observaram que o  $\Psi_w$  reduziu, enquanto que as plantas irrigadas mantiveram valores próximos a zero.

O potencial hídrico em plantas sob déficit hídrico pode ser afetado em poucos dias, como em plantas de *Bauhinia forficata* Link quando submetidas a irrigação a cada sete dias, o que foi suficiente para apresentarem redução no potencial hídrico das folhas; essa espécie recuperou o  $\Psi_w$  quando foi a reidratada diariamente após 75 dias do experimento (SANCHES, 2012).

O déficit hídrico promove diversos efeitos na planta entre eles o fechamento estomático e, conseqüentemente, a redução da taxa fotossintética que tende a declinar até atingir valores nulos. As mudas de *O. arborea* não irrigadas apresentaram redução tanto na condutância estomática quanto na taxa fotossintética, no entanto, foi observado que do tratamento E 10  $\mu\text{M}$  ABA não atingiram valores nulos nos dois ciclos de fotossíntese nula, o que sugere que essa dose promoveu maior tolerância das mudas ao déficit de água. O processo de abertura e fechamento dos estômatos está relacionado com o estado de hidratação da planta (COSTA & MARENCO, 2007), sendo que durante o déficit hídrico o papel fisiológico do ABA é promover o fechamento estomático (PACHECO et al., 2007). O ABA promove o fechamento estomático através da despolarização da membrana plasmática das células-guarda, sendo que essa despolarização ocorre devido ao aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico e pela alcalinização do citosol (INÁCIO et al., 2011).

No entanto, Pacheco et al. (2011) afirmaram que a aplicação das doses de 10 e 100  $\mu\text{M}$  de ABA em *Calendula officinalis* L. sob déficit hídrico não promoveu efeitos prolongados de proteção ou atenuação dos efeitos da deficiência hídrica sobre as trocas gasosas. Embora os

tratamentos sob deficiência hídrica não apresentaram diferença significativa entre si, observa-se que em mudas de *C. officinalis* estressadas com a dose de 10  $\mu\text{M}$  de ABA, a taxa fotossintética foi ligeiramente maior que os demais tratamentos sob deficiência hídrica.

O ácido abscísico é sintetizado nas raízes e quando há baixa disponibilidade hídrica é transportado até as folhas, promovendo o fechamento dos estômatos; em resposta à ligação do ABA a seus receptores (PANTIN et al., 2012). Para as mudas irrigadas de *O. arborea*, a transpiração foi maior do que em plantas sob condição de déficit hídrico, comportamento semelhante observado por Calbo & Moraes (1997) em mudas de *Mauritia vinifera* Mart. irrigadas e não irrigadas. Dessa forma, a redução da transpiração em mudas sob déficit hídrico pode ser atribuída ao mecanismo de fechamento dos estômatos, sendo uma resposta controlada pelo ácido abscísico.

As doses 10 e 100  $\mu\text{M}$  de ABA nas mudas dos tratamentos irrigados de *O. arborea* não proporcionaram um aumento significativo da transpiração das mudas se comparado com o tratamento que não recebeu ABA. No entanto, na 2ª F0 houve uma redução da transpiração nessas mudas, provavelmente devido a queda da temperatura, inclusive a foliar (Figura 2A). Em relação aos tratamentos sob estresse hídrico, o tratamento que recebeu a dose 10  $\mu\text{M}$  de ABA apresentou valores superiores aos tratamentos sem ABA e com a dose 100  $\mu\text{M}$  de ABA na 1ª F0 e 2ª F0. Vale ressaltar, que a transpiração das mudas sob déficit hídrico foi restabelecida após a irrigação, não se diferenciando dos tratamentos irrigados.

A eficiência do uso da água apresentou maiores valores nas mudas irrigadas porém, quando as mudas sob estresse hídrico foram reidratadas, atingiram valores semelhantes aos das mudas irrigadas. Souza (2012) encontrou resultados semelhantes para duas cultivares de *Zea mays* L., sendo que as mudas estressadas apresentaram diminuição da A/E durante a suspensão hídrica.

As espécies se comportam de maneira diferente em relação a eficiência do uso da água. Assim como *O. arborea*, *Bactris gasipaes* Kunth também apresentou redução na A/E quando submetida a condição de seca (OLIVEIRA et al., 2002); esse efeito pode estar relacionado ao fato de que a pupunheira é uma planta de ambiente úmido; *O. arborea* pode ser encontrada em formações florestais em matas de galeria do Cerrado (SANO et al., 2008).

No entanto, Rocha & Moraes (1997) encontraram um resultado oposto, onde a A/E apresentou aumento em mudas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville submetidas ao estresse hídrico; esses autores observaram que a eficiência do uso da água aumentou quando a condutância estomática e transpiração reduziram. Sob condição de deficiência hídrica, as mudas de *S. adstringens* apresentaram estratégias de resistência capazes de

permitir sua sobrevivência (ROCHA & MORAES, 1997) e provavelmente, essa espécie esteja mais adaptada a deficiência hídrica (OLIVEIRA et al., 2002) do que *O. arborea*.

A concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) apresentou variações nas mudas dos tratamentos irrigados, sendo que na maioria das avaliações, os valores foram superiores aos tratamentos do déficit hídrico. No entanto, ao final do experimento as mudas sob estresse hídrico apresentaram valores superiores, demonstrando que essas mudas se restabeleceram. Esse resultado também foi encontrado por Pacheco et al. (2011) para as mudas de *C. officinallis* sob estresse hídrico com ou sem ABA, as quais apresentaram valores superiores ao final das avaliações. Em mudas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão a C<sub>i</sub> apresentou elevação significativa sob estresse hídrico (COSTA et al., 2015) o que foi atribuído à menor eficiência de carboxilação da Rubisco, ressaltando que a eficiência instantânea de carboxilação foi menor nos tratamentos irrigados conforme também observado para *O. arborea*.

Estudos tem verificado que a taxa fotossintética pode reduzir mesmo quando a concentração interna de CO<sub>2</sub> não ser ter sido afetada pelo estresse hídrico (PACHECO et al., 2011). Além disso, quando o aparato fotoquímico está comprometido, não opera de forma adequada e a capacidade de regeneração da ribulose bifosfato (RuBP) diminui (LAWLOR & TEZARA, 2009; PINHEIRO & CHAVES, 2011; conforme citados por BERTOLLI et al., 2015).

Entretanto, Baker (1993), citado por Queiroz et al. (2002) afirma que em condição de déficit hídrico, existe uma relação direta da redução da concentração intercelular de CO<sub>2</sub> devido ao fechamento, promovendo decréscimo na assimilação do CO<sub>2</sub> e no rendimento quântico do fotossistema II. Ainda há fatores não estomáticos relacionados à diminuição da assimilação de CO<sub>2</sub>, como danos no centro de reação do fotossistema II, mas que pode apresentar reversão após a hidratação (ANGELOPOULOS et al., 1996; citado por QUEIROZ et al., 2002).

A temperatura influencia diretamente a atividade enzimática e a queda da temperatura pode ter afetado as mudas irrigadas de *O. arborea*. O balanço entre as atividades carboxilase e oxigenase da rubisco é governado por propriedades cinéticas da enzima, temperatura e concentração dos substratos CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (DONATO et al., 2013). Além disso, a concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) no mesófilo foliar é reduzida pelo fechamento estomático, e assim, declina a taxa de assimilação de dióxido de carbono (JADOSKI et al. (2005).

A eficiência instantânea de carboxilação (A/C<sub>i</sub>), o tratamento do déficit hídrico sem dose de ABA apresentou valores inferiores aos demais conforme também observado por Filho

et al. (2008) em mudas de laranjeira ‘Valência’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck) sob deficiência hídrica sendo que as trocas gasosas e a A/Ci reduziram durante os dias sob déficit hídrico.

A condutância estomática reduziu nas mudas sob deficiência hídrica, o que pode ser atribuído ao fechamento estomático, pois abertura e fechamento dos estômatos depende do turgor das células guarda, que quando estão flácidas promovem o fechamento do ostíolo. As células guarda são como válvulas hidráulicas multissensoriais, sensíveis a fatores ambientais como temperatura, umidade relativa, intensidade e qualidade de luz e concentração intercelular de CO<sub>2</sub> cujos sinais são percebidos pelas células guarda emitindo respostas estomáticas bem definidas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Embora as mudas irrigadas tenham apresentado variações, os valores de Gs foram superiores aos do déficit hídrico. O ABA não promoveu maior eficiência do aparelho fotossintético dessas mudas, pois apresentaram variação, ora com valores inferiores, ora com superiores ao tratamento sem dose de ABA. No trabalho de Pacheco et al. (2011), a aplicação das doses 10 e 100 µM de ABA em mudas irrigadas de *C. officinallis*, não apresentaram diferenças significativas com o tratamento irrigado sem ABA; mesmo com a abundância de água, a aplicação exógena de ABA não potencializou aumento da condutância estomática nas mudas, o que também observa-se nos resultados com os tratamentos irrigados de *O. arborea*. O ácido abscísico (ABA) é um hormônio que participa do processo de fechamento estomático em condição de estresse hídrico (TAIZ & ZEIGER, 2013) e em condição de seca, ocorre maior síntese desse hormônio na raiz sendo translocado até as folhas através do xilema.

Em relação a A/Gs, as variações ocorreram em todos os tratamentos. No 43° dia, os tratamentos não irrigados apresentaram valores superiores, sendo que nesse período estavam recebendo irrigação. No 86° e 104° dias, o tratamento E 10 µM de ABA apresentou os maiores valores, porém nesse período a irrigação já havia sido suspensa. A tendência é que os valores nas mudas estressadas diminuam, porém Silva et al. (2013) também observou aumento nos valores de A/Gs em mudas de *Heliantus annuus* L. sob déficit hídrico. As trocas gasosas de cada espécie vegetal depende das flutuações ambientais (LACHER, 2004) e conforme a intensidade e duração do estresse, os processos mudam para cada espécie (NOGUEIRA et al., 2001).

Os fatores ambientais como luz e temperatura influenciam diretamente as trocas gasosas; cada espécie possui uma temperatura ideal para otimizar a fotossíntese. Observa-se que *O. arborea* a taxa fotossintética reduziu quando a temperatura diminuiu (43° dia), mesmo nas plantas irrigadas. Quando há diminuição da temperatura ocorre o fechamento estomático e consequentemente, diminuição da entrada de CO<sub>2</sub>, redução da condutância estomática, taxa

fotossintética e transpiração. Assim, o suprimento de água sozinho não promove a otimização das trocas gasosas, fatores como temperatura e umidade influenciam esses processos. Baixas temperaturas podem limitar a fotossíntese através do fechamento estomático e inibição da enzima Rubisco carboxilase (ALLEN & ORT, 2001).

A fotossíntese é um processo sensível ao calor e pode ser inibida por altas temperaturas. No entanto, esses efeitos específicos das altas temperaturas na fotossíntese estão relacionados com outros fatores, como a espécie, idade das folhas, tecido, estado fisiológico e também o nível de aclimação (VALLADARES & PEACY, 1997; KALAJI & LOBODA, 2007; WANG et al., 2011).

A fotossíntese possui relação com a fluorescência, rota utilizada pela planta para liberar energia, sendo um processo que consiste na reemissão de um fóton pela clorofila excitada, retornando ao seu estado – basal (TAIZ & ZEIGER, 2013). A fluorescência da clorofila *a* é uma ferramenta sensível utilizada para medir a eficiência fotossintética do fotossistema II (PSII) (STIRBET & GOVINDJEE, 2011).

Em *O. arborea*, a tendência observada foi que em temperaturas elevadas a F0 apresentou valores superiores nos tempos T0 e 1ª F0, períodos que temperatura estava elevada. A partir da 2ª F0, os tratamentos apresentaram valores inferiores em função da queda na temperatura (Figura 1A). Quando a quinona A (Q<sub>A</sub>) é completamente reduzida, que ocorre a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação Q<sub>A</sub>, então resulta fluorescência máxima (F<sub>m</sub>) (SILVA et al., 2006). No entanto, para atingir a F<sub>m</sub> em temperaturas baixas o tempo pode ser maior, efeito observado por Perboni et al. (2015), que submeteram híbridos de *Brassica napus* L. a baixas temperaturas (0 a 4°C) pelo período de 1 a 4 horas. Os autores observaram nessa condição o tempo para atingir a fluorescência máxima aumentou.

Plantas submetidas ao estresse hídrico podem apresentar redução na fluorescência, assim como os resultados encontrados em *O. arborea*. O tratamento do déficit hídrico sem dose de ABA (E), foi o que apresentou reduções mais significativas nos dois ciclos de fotossíntese nula para F<sub>v</sub> e F<sub>m</sub>, enquanto que o tratamento E 10 µM ABA não apresentou diferença significativa para os tratamentos irrigados nesses períodos; vale ressaltar que este tratamento não atingiu fotossíntese nula nos períodos 1ª F0 e 2ª F0, no qual essa dose de ABA pode ter proporcionado maior tolerância ao estresse hídrico. Souza (2012) avaliou cultivares de *Zea mays* L. submetidas ao estresse hídrico com e sem aplicação de ABA e observou que as variáveis F0, F<sub>m</sub> e F<sub>v</sub> não apresentaram diferenças significativas.

O tratamento com redução mais acentuada para eficiência efetiva do fotossistema na conversão de energia absorvida (F<sub>v</sub>/F0) foi o tratamento sob déficit hídrico (E), sendo mais

expressivo na 2ª F0. No entanto, as cultivares de *Zea mays* L. em condição de estresse hídrico com ou sem dose de ABA avaliados por Souza (2012), não apresentaram diferença significativa entre esses tratamentos para essa variável.

Plantas com o aparelho fotossintético intacto, a razão Fv/Fm deve variar entre 0,75 e 0,85 (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989), enquanto que a diminuição nesta razão indica a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII (BJÖRKMAN & DEMMING, 1987). O tratamento estressado sem ABA (E) apresentou queda nessa variável na 2ª F0, com valor inferior a 0,6 indicando um possível dano ao aparelho fotossintético. No entanto, plantas irrigadas apresentaram diminuição de Fv/Fm na recuperação, no qual esses tratamentos não apresentaram diferença com os estressados. Essa queda pode ser atribuída à queda de temperatura, a qual afetou o processo de fotossíntese e assim, influenciou a eficiência quântica do fotossistema II (Figuras 2A e 10B).

Campelo et al. (2015) avaliaram seis espécies florestais (*Astronium fraxinifolium* Schott, *Calophyllum brasiliense* Cambess, *Handroanthus serratifolius* Vahl, *Handroanthus impetiginosa* Mart, *Simarouba amara* Aubl e *Swietenia macrophylla* King) em função de suprimento de água no solo e observaram que as espécies *Swietenia macrophylla* King, *Calophyllum brasiliense* Cambess e *Handroanthus serratifolius* Vahl. mostraram-se mais sensíveis, se comparadas com as demais, uma vez que apresentaram redução na eficiência fotoquímica do fotossistema II, assim como na fotossíntese.

Com relação a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos do fotossistema II (F0/Fm), os maiores valores foram observados no tratamento do déficit hídrico (E) na 2ª F0 e na recuperação nos tratamentos sob déficit hídrico. Souza (2012) encontrou resultados semelhantes em cultivares de milho submetidos ao estresse hídrico, de modo que os tratamentos irrigados apresentaram menores médias.

Durante o período de estresse hídrico pode ocorrer à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que danificam as células podendo levar a morte celular. As espécies reativas de oxigênio são produzidas normalmente durante o metabolismo da planta, se as plantas não estão em condição estressante, há um equilíbrio na formação e remoção das ROS (REBOUÇAS, 2011).

Os tratamentos de *O. arborea* submetidos ao estresse hídrico apresentaram aumento das enzimas antioxidantes durante os períodos de suspensão hídrica (1ª F0 e 2ª F0). Quando as plantas estão em condição de estresse hídrico, há tendência de aumento das enzimas CAT, POD e SOD. No entanto, os tratamentos irrigados com ou sem dose de ABA também apresentaram elevação em mudas irrigadas. O aumento da produção de enzimas em plantas

irrigadas pode estar relacionado a temperatura elevada (RIBEIRO et al., 2012), sendo que nos períodos T0 e 1ª F0 as temperaturas estavam elevadas (Figura 2A).

O ABA também pode aumentar a atividade das enzimas antioxidantes assim como observado por Jiang & Zang (2002) em folhas de milho (*Zea mays* L.) submetidas ao estresse hídrico que apresentaram aumento na produção de ROS o que, conseqüentemente promoveu aumento na defesa antioxidante, sendo uma regulação positiva desse sistema.

Souza (2012) avaliou cultivares de *Zea mays* L. submetidos ao estresse hídrico com e sem ABA durante dez dias; a aplicação de ABA elevou a atividade da catalase, sendo que no 5º dia o tratamento com ABA apresentou maior média, porém no 10º dia a atividade da CAT diminuiu. A atividade da SOD apresentou aumento no 5º dia de estresse, porém não foi diferente estatisticamente entre os tratamentos estressados.

Para SOD na raiz, as mudas do tratamento estressado que receberam a maior dose de ABA (E 100 µM ABA) foram as que apresentaram o maior valor em relação aos demais tratamentos na 2ª F0 (Figura 10B). A aplicação exógena de ABA pode aumentar o teor interno de ABA, e assim promover o acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sendo esta uma molécula sinalizadora para ativar as enzimas antioxidantes (SOUZA, 2012).

Em uma condição de déficit hídrico, existe uma grande variabilidade entre as espécies no que se refere ao grau de tolerância a essa condição (LINO, 2011). O escape, retardo e tolerância são mecanismos que as plantas apresentam para resistir ao déficit hídrico, sendo que no escape, as plantas completam seu ciclo de vida antes que o déficit hídrico se torne severo; o retardo está relacionado à manutenção do turgor e volume celular (SEIXAS et al., 2015) e a tolerância permite a planta manter seu metabolismo, mesmo sob déficit hídrico (VERSLUES et al., 2006).

*O. arborea* em condição de déficit hídrico apresentou redução significativa nas trocas gasosas. No entanto, sobretudo as mudas que receberam a dose 10 µM de ABA mantiveram uma taxa fotossintética superior aos demais tratamentos do déficit hídrico nos períodos de fotossíntese nula, e portanto, provavelmente o ABA promoveu maior tolerância a essas mudas durante tempo de exposição ao déficit hídrico que essas mudas foram submetidas. As mudas dos tratamentos do déficit hídrico apresentaram aumento na produção de enzimas antioxidantes e compreender o sistema antioxidativo das plantas é fundamental para a seleção de acessos que apresentam menor sensibilidade ao déficit hídrico e maior tolerância à seca (MORAES, et al., 2015), sendo que a aplicação de ABA pode ter promovido aumento da produção dessas enzimas nas mudas do déficit hídrico. As mudas do déficit hídrico reestabeleceram a fotossíntese quando foram reirrigadas, apresentando valores semelhantes as



irrigadas, sugerindo que o tempo de exposição ao déficit hídrico que essas mudas estiveram submetidas não acarretaram danos irreversíveis ao aparelho fotossintético.

#### 4.5. Conclusões

A dose de 10  $\mu$ M ABA para os tratamentos não irrigados de *Ormosia arborea* proporcionou maior tolerância ao déficit hídrico, não atingindo valores nulos na taxa fotossintética.

Quando reirrigadas, as mudas do déficit hídrico restabeleceram a fotossíntese, apresentando valores semelhantes ao das mudas irrigadas.

Houve aumento das enzimas antioxidantes durante os períodos de suspensão hídrica, com aumento significativo da catalase na folha e raiz e peroxidase na raiz.

#### 4.6. Referências bibliográficas

- ALLEN, D.J.; ORT, D.R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. **Trends Plant Science**. v. 6, p. 36-42, 2001.
- BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; SANTOS, A. O. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n. 8, p.1531-1540, 2000.
- BERTOLLI, S. C.; SOUZA, J.; SOUZA, G. M. Caracterização fotossintética da espécie isohídrica pata – de - elefante em condições de deficiência hídrica. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 3, p. 196 –205, 2015.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v.170, p. 61-66, 1987.
- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LONG, S.P., BAKER, N.R., et al. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v.3, p.497-514, 1989.
- BOUTRAA, T.; AKHKHA, A.; AL-SHOAIBI, A. A.; ALHEJELI, A. Effect of water stress on growth and water use efficiency (WUE) of some wheat cultivars (*Triticum durum*) grown in Saudi Arabia. **Journal of Taibah University for Science**, Taibah, v. 3., p. 39-48, 2010.
- CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Fotossíntese, condutância estomática, transpiração e ajustamento osmótico de plantas de buriti submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 117-123, 1997.
- CAMPELO, D. H.; LACERDA, C. F.; SOUSA, J. A.; CORREIA, D.; BEZERRA, A. M. E.; ARAÚJO, J. D. M.; NEVES, A. L. R. Trocas gasosas e eficiência do fotossistema II em plantas adultas de seis espécies florestais em função do suprimento de água no solo. **Revista Árvore**, Viçosa, v.39, n. 5, p.973-983, 2015.
- CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER,S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol. 33, n. 4, p. 752 - 761, 2011.
- COSTA, A. S.; FREIRE, A. L. O.; BAKKE, I. A.; PEREIRA, F. H. F. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) Allemão ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga**, Botucatu, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.

- COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazônica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007.
- DONATO, S. L. R.; COELHO, E. F.; MARQUES, E. F.; ARANTES, A. M.; SANTOS, M. R.; OLIVEIRA, P. M. Ecofisiologia e eficiência de uso da água em bananeira. **XX Reunião Internacional da Associação para a Cooperação em Pesquisa e Desenvolvimento Integral das Musáceas (Bananas e Plátanos)**. Fortaleza, CE, 2013.
- EMPRAPA. Avaliação da sustentabilidade e planejamento ambiental em propriedade do setor silvicultural. Disponível em: <https://www.cnpem.br/projetos/silvicultura/index.html>. Acesso em 20/01/2016. 2012.
- FERRARI, E.; PAZ, A.; SILVA, A. C. Déficit hídrico no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas no Mato Grosso. **Nativa**, Sinop, v.03, n. 1, p.67-77, 2015.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system**. Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FILHO, J. R.; AMARAL, L.R.; MACHADO, D. F. S. P.; MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranjeira ‘Valência’ sobre dois tipos de porta-enxerto. **Bragantia**, Campinas, vol.67, n. 1, p. 75-82, 2008.
- GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; GUIMARÃES, D. G. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 8-14, 2009.
- INÁCIO, M. C.; SILVA, E. S.; SOUZA, M. E.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Mensageiros secundários relacionados à ação dos hormônios vegetais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 4, p. 438-446, 2011.
- JADOSKI, S. O.; KLAR, A. E.; SALVADOR, E. D. Relações hídricas e fisiológicas em plantas de pimentão ao longo de um dia. **Ambiência**, Paraná, v. 1, n. 1, p. 11-19, 2005.
- JIANG, M; ZHANG, J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. **Journal Experimental Botany**. v. 53, p. 2401-10, 2002.
- KALAJI, M.,H.; LOBODA, T. Photosystem II of barley seedlings under cadmium and lead stress, **Plant Soil Environmental**. v. 53, p. 511-516, 2007.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. São Paulo, Editora Guanabara Koogan, 2004.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa. 531 p., 2004.
- LINO, L. O. Características anatômicas e fisiológicas de genótipos de sorgo contrastantes para tolerância à seca. **Dissertação**. Universidade Federal de Lavras – MG, 2011.

- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil** - Vol. 01- 5. edição. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p.384, 2008.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, 2002.
- MMA- Ministério do Meio Ambiente/IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite - monitoramento do bioma Cerrado 2008-2009**. Brasília, 2011. Disponível em:[http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/relatoriofinal\\_cerrado\\_2008\\_2009\\_72.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatoriofinal_cerrado_2008_2009_72.pdf). Acesso em: 10/12/2016.
- MORAES, P. F.; LAAT, D. M.; SANTOS, M. E. A. H. P.; COLOMBO, C. A.; KIIHL, T. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia**, Campinas, v.74, n. 1, p.25-32, 2015.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.13, p.75-87, 2001.
- OKASABE, Y.; OKASABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRANS, L. S. P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, Japan, v. 5, p. 1-8, 2014.
- OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A.; HEBERMANN, G.; RODRIGUES, J. D. Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 59, n. 1, p. 59-63, 2002.
- PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. P. CASTRO; SOUZA, G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, p. 275-281, 2011.
- PANTIN, F.; MONNET, F.; JANNAUD, D.; COSTA, J. M.; RENAUD, J.; MULLER, B.; SIMONNEAU, T.; GENTY, B. The dual effect of abscisic acid on stomata. **New Phytologist**. v. 197, p. 65-72, 2012.
- PERBONI, A. T.; MARTINAZZO, E. G.; SILVA, D. M. ; BACARIN, M. A. Baixas temperaturas sobre a fluorescência da clorofila a em plantas de diferentes híbridos de canola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n. 2, p. 215-222, 2015.
- QUEIROZ, C. G. S.; GARCIA, Q. S.; FILHO, J. P. L. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após

- reidratação. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 59-63, 2002.
- REBOUÇAS, D. M. Efeito do ácido abscísico nas bombas de prótons vacuolares e enzimas antioxidantes em *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Tese**. Universidade Federal do Ceará. 2011.
- RIBEIRO, G.; PIMENTE, A. J. B. ; SOUZA, M. A. ; ROCHA, J. R. A. S.; FONSECA, W. B. Estresse por altas temperaturas em trigo: impacto no desenvolvimento e mecanismos de tolerância. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.18, n. 2-4, p.133-142, 2012.
- ROCHA, A. M. S.; MORAES, J. A. P. V. Influência do estresse hídrico sobre as trocas gasosas em plantas jovens de envasadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 41-46, 1997.
- SANCHES, R. F. E. Relações hídricas e respostas ao déficit hídrico da espécie *Bauhinia forficata* Link: mecanismos de manutenção do status hídrico. **Dissertação**. Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2012.
- SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado Ecologia e Flora**. Vol 2, Embrapa Cerrados, Brasília, DF, 2008.
- SCARIOT, A.; SILVA, J. C. S.; FELFILI, J. M. **Cerrado: ecologia biodiversidade e conservação**. In: FELFILI, J. M.; SILVA. J. C. S.; (ed.). Biodiversidade, ecologia e conservação do Cerrado: avanços no conhecimento. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005.cap. 1, p.27-44.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMINGSEN, E.A.; BRADSTREET, E.D. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy Science**, v.51, p.119-125, 1965.
- SEIXAS, A. A.; GOMES, V. M.; SERAFIM, V. F; VIANA, W. A. Déficit hídrico em plantas forrageiras – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 24, n. 0, 2015.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. **Plant Physiology**, v. 115, p. 327-334, 1997.
- SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; LACERDA, C. F.; FILHO, J. V. P.; FREITAS, C. A. S. Trocas gasosas em plantas de girassol submetidas à deficiência hídrica em diferentes estádios fenológicos. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 86-93, 2013.
- SILVA, M. M. P.; VASQUEZ, H. M.; SMITH, R. B.; SILVA, J. F. C.; ERBESDOBLER, E. D.; JUNIOR, P. S. C. A. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 67-74, 2006.

- SOUZA, T. C. Aplicação de ácido abscísico (ABA) e caracterização fisiológica e anatômica em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca. **Tese**. Lavras, MG. 2012.
- STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.104, p. 236–257, 2011.
- TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª edição. Editora Artmed, 2013.
- VALLADARES, F.; PEARCY, W. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*, **Plant Cell Environ**, v. 20, n. 1, p. 25-36, 1997.
- VERSLUES, P.E.; AGARWAL, H. KATIYAR-S, A. ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v. 45, p. 523–539, 2006.
- WANG, X; CAI, J.; JIANG, D.; LIU, F.; DAI, T. ; CAO, W. Pre-anthesis high-temperature acclimation alleviates damage to the flag leaf caused by post-anthesis heat stress in wheat, **Journal Plant Physiol**, v. 168, p. 585- 93, 2011.
- YIN, C.; DUAN, B.; WANG, X.; LI, C. Morphological and physiological responses of two contrasting *Poplar* species to drought stress and exogenous abscisic acid application. **Plant Science**, v. 167, n. 5, p. 1091-1097, 2004.
- ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-73, 2002.

## **CAPÍTULO II**

### **CRESCIMENTO INICIAL E ANATOMIA FOLIAR DE MUDAS DE *Ormosia arborea* (VELL.) HARMS SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO**



**Resumo:** Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do ácido abscísico (ABA) no crescimento inicial e anatomia foliar de mudas de *Ormosia arborea* submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e consistiu em seis tratamentos: 1) irrigação diária sem ABA; 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$ ; 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$ ; 4) suspensão da irrigação diária; 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  e 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$ . Durante o período analisado, observa-se que o ABA não induziu mudanças morfoanatômicas expressivas em *O. arborea* em condição de déficit hídrico, sendo observado principalmente estímulo no crescimento das raízes em mudas não irrigadas tratadas com ABA. Em relação a anatomia foliar, as principais alterações foram aumento da espessura da cutícula, epiderme e no parênquima paliçádico. Os tratamentos do déficit que receberam as doses de ABA apresentaram aumento na espessura da epiderme e na cutícula, principalmente na face adaxial, sobretudo no segundo período de fotossíntese nula.

**Palavras-chave:** hormônio, morfoanatomia, índice de Dickson

## 5.1. Introdução

O estresse hídrico pode ocorrer durante o crescimento da planta e pode resultar na diminuição temporária do crescimento e da biomassa, limitando a produtividade, além de causar modificações anatômicas, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (SEIXAS, et al., 2015). A duração e a intensidade do estresse influenciam a adaptabilidade das plantas, além da variabilidade genética (SILVA, et al., 2002).

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio que está ligado às mudanças morfológicas e fisiológicas na planta sob estresse hídrico e nessa condição, a concentração de ABA aumenta (DUTRA et al., 2012). Assim, as plantas desenvolveram mecanismos para se adaptar e sobreviver sob os diversos tipos de estresse abióticos, que envolvem modificações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas (WANG et al., 2016). As respostas ao estresse hídrico podem incluir a diminuição da área foliar, abscisão foliar, fechamento estomático, maior crescimento de raízes em profundidade, limitação da fotossíntese e aumento do depósito de cera nas folhas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

As modificações anatômicas e morfológicas podem ocorrer em qualquer órgão (SILVA et al., 2014). No entanto, dentre os órgãos vegetais, Morretes & Ferri (1959) afirmaram que a folha é o órgão que mais se modifica em meio a alterações ambientais, sendo de grande importância o seu estudo.

*Ormosia arborea* (Vell.) Harms, é uma espécie arbórea encontrado no Cerrado; há ocorrência em Matas de Galeria do Brasil Central (FELFILI et al., 2000) e também em floresta pluvial atlântica e latifoliada semidecídua; pode ser destinada a recuperação de áreas degradadas através de plantios mistos (LORENZI, 2008).

Considerando a ocorrência de *O. arborea* em matas de galeria e em floresta pluvial, acredita-se que o déficit hídrico limita seu crescimento e qualidade de suas mudas, o que pode ser superado com a aplicação prévia de ácido abscísico (ABA).

Estudos relacionados à tolerância das espécies a deficiência hídrica são de grande importância, a fim de obter conhecimentos relacionados aos efeitos que essa condição promove na planta. Assim, o objetivou-se com este trabalho avaliar a influencia do estresse hídrico e das doses de ABA no crescimento inicial e na anatomia foliar de *Ormosia arborea*.

## 5.2. Material e métodos

### 1. Implantação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com início em 13 de março de 2016 à 22 de setembro de 2016. Nesse ambiente protegido, a temperatura e umidade não foram controladas. As plantas foram mantidas sob sombrite 30% de sombra e protegidas da precipitação pluviométrica sob cobertura plástica durante o experimento. As mudas de *O. arborea* com 19 meses foram cultivadas em vasos com capacidade de oito kg, sendo uma muda por vaso. O experimento consistiu em seis tratamentos, sendo eles: 1) irrigação diária sem ABA (I); 2) irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (I 10); 3) irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (I 100); 4) suspensão da irrigação diária sem ABA (E); 5) suspensão da irrigação diária + ABA 10  $\mu\text{M}$  (E 10); 6) suspensão da irrigação diária + ABA 100  $\mu\text{M}$  (E 100). Cada tratamento foi composto por 24 mudas, além de quatro mudas separadas para caracterização no tempo zero. As avaliações foram realizadas em cinco períodos: T0- tempo zero (início do experimento), 1ª F0- primeira fotossíntese nula (aos 29 dias), 2ª F0- segunda fotossíntese nula (aos 105 dias), REC- recuperação (aos 127 dias) e FINAL- avaliação final (aos 191 dias).

Para os tratamentos de irrigação, as mudas foram divididas em dois grupos; o primeiro foi irrigado diariamente durante todo o período do experimento, mantido o solo com 70% da capacidade de retenção de água e o segundo, foi submetido a restrição hídrica equivalente a 40% da capacidade de retenção de água durante 19 dias e em seguida, a irrigação foi totalmente suspensa até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero (1ª F0). A partir da 1ª F0 todos os vasos foram irrigados diariamente, e as plantas mantidas com 70% da capacidade de retenção de água até a recuperação, quando as mudas do déficit hídrico apresentarem fotossíntese semelhante as irrigadas. Após a recuperação, outro ciclo de suspensão hídrica foi realizado e as mudas avaliadas até que a taxa fotossintética se aproximasse de zero (2ª F0), momento que foram reirrigadas até a recuperação (REC), com avaliações até o 191º dia (FINAL).

Foram realizadas duas aplicações de ABA, sendo que a primeira ocorreu no tempo zero (T0 – início do experimento) e a segunda, realizou-se aos 25 dias após a segunda suspensão hídrica (94º dia), com base na taxa fotossintética próxima a um, conforme Figura 1.

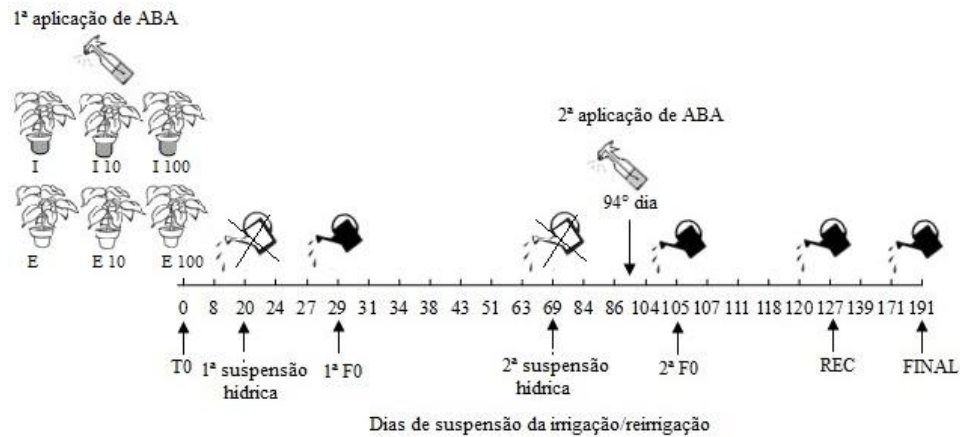


Figura 1. Períodos de avaliação do experimento. T0- tempo zero e primeira aplicação de ABA; 1ª suspensão hídrica (20º dia); 1ª F0- primeira fotossíntese nula (69º dia); 2ª suspensão hídrica (105º dia); 2ª aplicação de ABA (94º dia); REC – recuperação (127º dia) e FINAL – avaliação final (191º dia).

## 2. Parâmetros de crescimento e biomassa

As avaliações de foram realizadas no tempo zero (T0- dia 13/03), na primeira e segunda fotossíntese nula (1ª F0 e 2ª F0- dias 13/04 e 28/06, respectivamente), recuperação (REC- dia 20/07) e avaliação final (FINAL- dia 22/09), sendo utilizados quatro indivíduos por tratamento para as avaliações. Foram determinados os *comprimentos de raiz e parte aérea*, mensurada com uma régua graduada em centímetros (cm) e os resultados expressos em centímetros; *área foliar* medida através do aparelho Li 3100 – Area Meter; *massa fresca* (folha, caule e raiz) a partir das pesagens de cada órgão utilizando balança analítica de precisão (0,0001g) e os resultados expressos em gramas (g); *massa seca* (folha, caule e raiz) a partir da secagem de cada órgão em estufa de circulação forçada de ar, regulada a 70°C por 72 horas ou até atingir massa constante e posteriormente pesadas em balança analítica de precisão (0,0001g) e os resultados expressos em gramas (g); *diâmetro do caule* com auxílio de paquímetro digital Digimess (0,001 mm) e os resultados expressos em milímetros (mm); *índice de clorofila* a utilizando o clorofilômetro Spad 502 MINOLTA. Também foi determinado o *Índice de Qualidade de Dickson* (Dickson et al., 1960) em função da altura da parte aérea (PA), do diâmetro do colo (D), massa seca total (PMST) que é dado pela soma da massa seca da parte aérea (PMSPA) e das raízes (PMSR), através da seguinte equação  $IQD = PMST / [(H/D) + (PMSR/PMSPA)]$ .

## 3. Anatomia foliar

As avaliações de anatomia foliar foram realizadas no tempo zero (T0- dia 13/03), na primeira e segunda fotossíntese nula (1ª F0 e 2ª F0- dias 13/04 e 28/06, respectivamente),

recuperação (REC- dia 20/07) e avaliação final (FINAL- dia 22/09). Foram selecionadas uma folha expandida de três mudas por tratamento e realizados cortes paradérmicos na região mediana do limbo na face adaxial e abaxial, a mão livre, com lâmina de aço. Os cortes transversais foram submetidos a clarificação em hipoclorito de sódio 2%, neutralização em água cética 1%, triplica lavagem com água destilada e coloração com safrablau (5mL de solução aquosa de safranina 1% - 95 mL de solução aquosa azul de Astra 1% - duas gotas de ácido acético glacial), para em seguida a montar as lâminas com água glicerinada. A partir da secção transversal foram determinados a espessura dos seguintes tecidos/estruturas do limbo: cutícula da face adaxial e abaxial, epiderme da face adaxial e abaxial, parênquima paliçádico e lacunoso.

Também foram preparadas secções paradérmicas com impressões em cola Super Bonder<sup>®</sup>, amostrando-se a região mediana do limbo e determinando as seguintes variáveis estomáticas: diâmetro polar e equatorial, abertura do ostíolo e índice estomático que foi calculado através da seguinte fórmula  $S_i (\%) = [S_n / (S_n + E_m)] \times 100$ , sendo ( $S_n$ ) o número de estômatos e ( $E_m$ ) o número de células da epiderme, segundo a fórmula proposta por Wilkinson (1979). Os resultados obtidos foram documentados através de fotomicrografia feitas em microscópio óptico modelo Olympus BX 60 acoplado à câmera digital Canon A630. As imagens foram analisadas em software para análise de imagens UTHSCSA Imagetool.

Para determinação das dimensões da célula guarda, foi considerado o comprimento (eixo longitudinal, entre os dois polos da célula) e largura (eixo transversal, na porção média da célula). Para determinação das dimensões do poro também foram considerados os eixos longitudinal e transversal.

#### *4. Delineamento estatístico e análise dos dados*

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (tratamentos X períodos de avaliações). Os resultados foram submetidos à análise de variância e havendo efeito estatístico as médias dos tratamentos foram submetidas ao teste Scott knott a 5% de probabilidade e as médias dos tempos de avaliação submetidas ao teste Tukey a 5% de probabilidade, ambos com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

### **5.3. Resultados**

De maneira geral, as características de crescimento inicial apresentaram interação entre os tratamentos e os períodos de avaliação. As mudas do tratamento E 10  $\mu$ M ABA apresentaram valores superiores aos demais tratamentos do déficit hídrico na 1ª F0 para massa

fresca de raiz e massa seca de raiz (Figura 2). As mudas irrigadas apresentaram valores superiores aos tratamentos sob déficit hídrico na 1ª F0 e na 2ª F0, assim como na recuperação e avaliação final (Figura 2A e B).

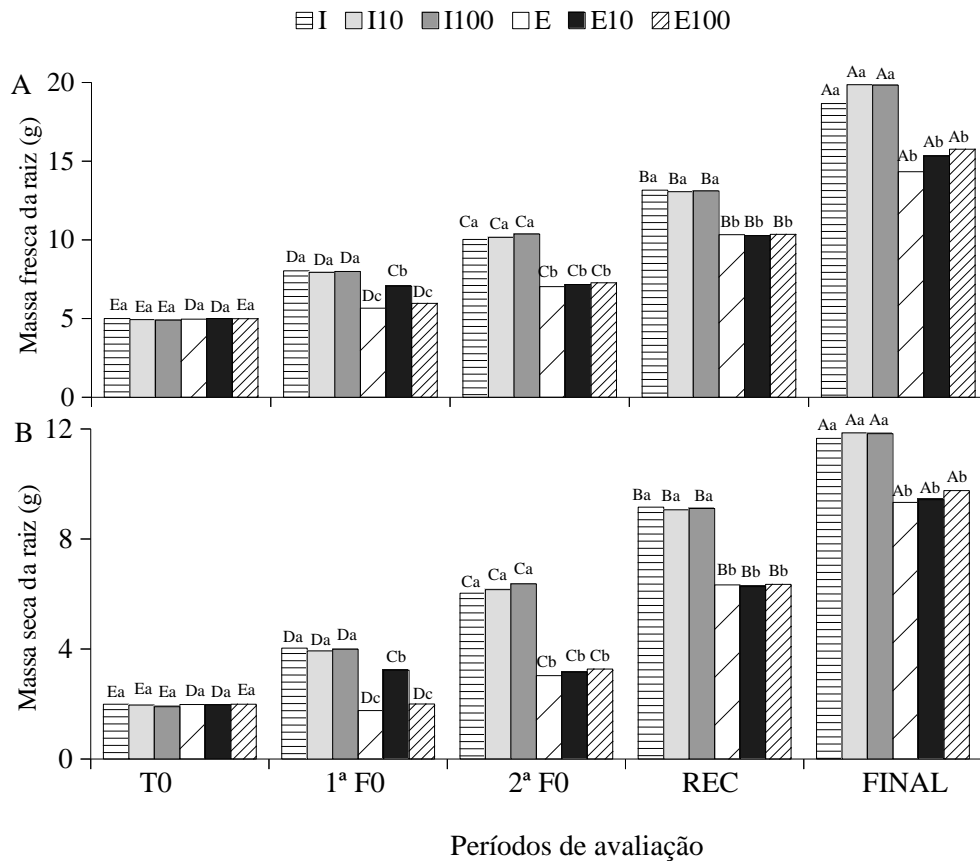


Figura 2. Valores médios de dados de crescimento: massa fresca da raiz – A , massa seca da raiz - B de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes períodos de avaliação; letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo período de avaliação. T0 –tempo zero; 1ª F0- 1ª fotossíntese nula; 2ª F0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

A massa seca e fresca da parte aérea não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos na 1ª F0. Porém, na 2ª F0 os tratamentos irrigados apresentaram valores superiores aos do déficit hídrico, assim como na recuperação e avaliação final (Figura 3).

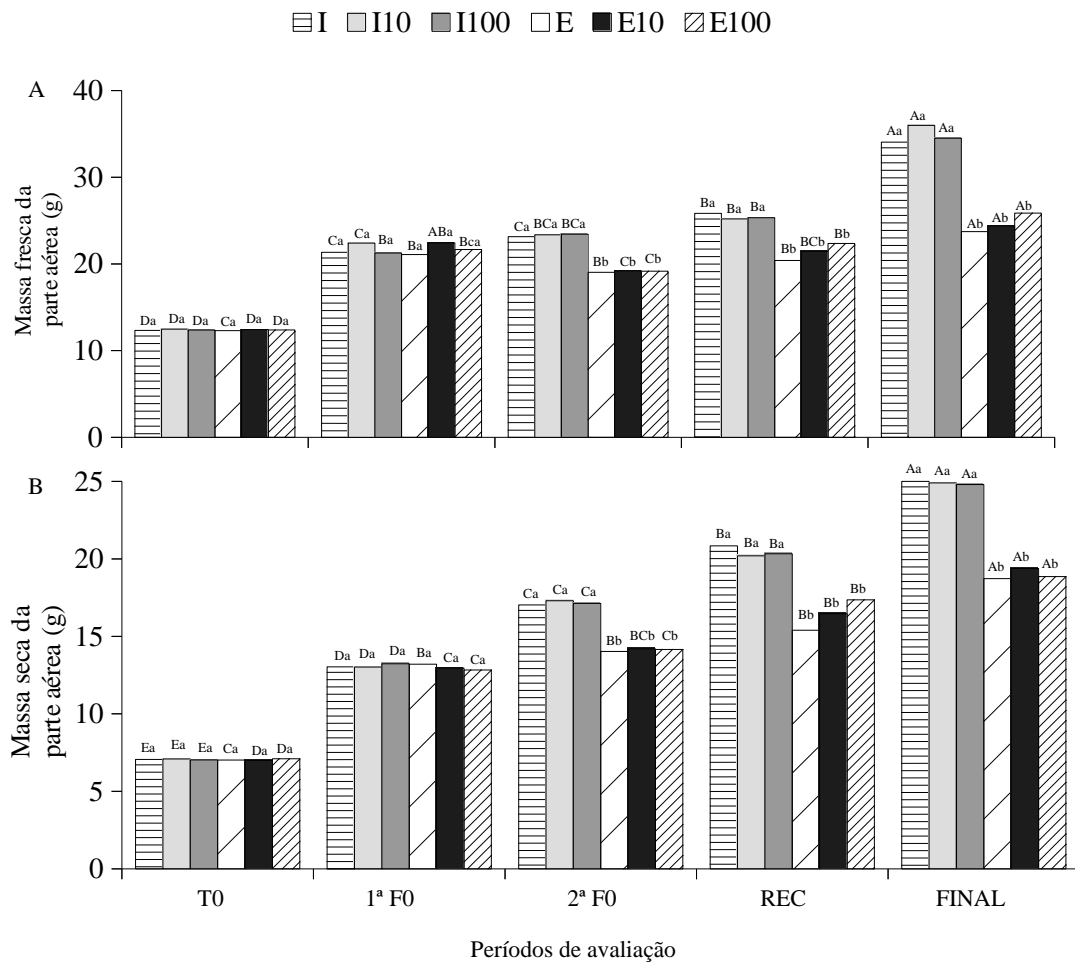


Figura 3. Valores médios de dados de crescimento: massa fresca da parte aérea – A, massa seca da parte aérea – B e de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I10µM ABA e I100µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10µM ABA e E 100 µM ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes períodos de avaliação; letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo período de avaliação. T0 –tempo zero; 1ª F0- 1ª fotossíntese nula; 2ª F0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Em relação ao comprimento da raiz, as mudas sob déficit hídrico apresentaram valores superiores aos tratamentos irrigados nos dois períodos de fotossíntese nula, sendo que na 1ª F0 o tratamento E foi inferior aos tratado com ABA (E 10 e E 100); na 2ª F0 não apresentaram diferença entre si. Em relação à parte aérea, as mudas mudas do déficit hídrico E e E 10 apresentaram menor parte aérea na 1ª F0 comparados aos demais tratamentos, enquanto que as mudas irrigadas do tratamento I 10 µM de ABA foram superiores aos demais tratamentos nesse período. No entanto, a partir da 2ª F0, as mudas dos tratamentos irrigados apresentaram valores superiores as do déficit hídrico até o último período de avaliação (FINAL) (Figura 4B).

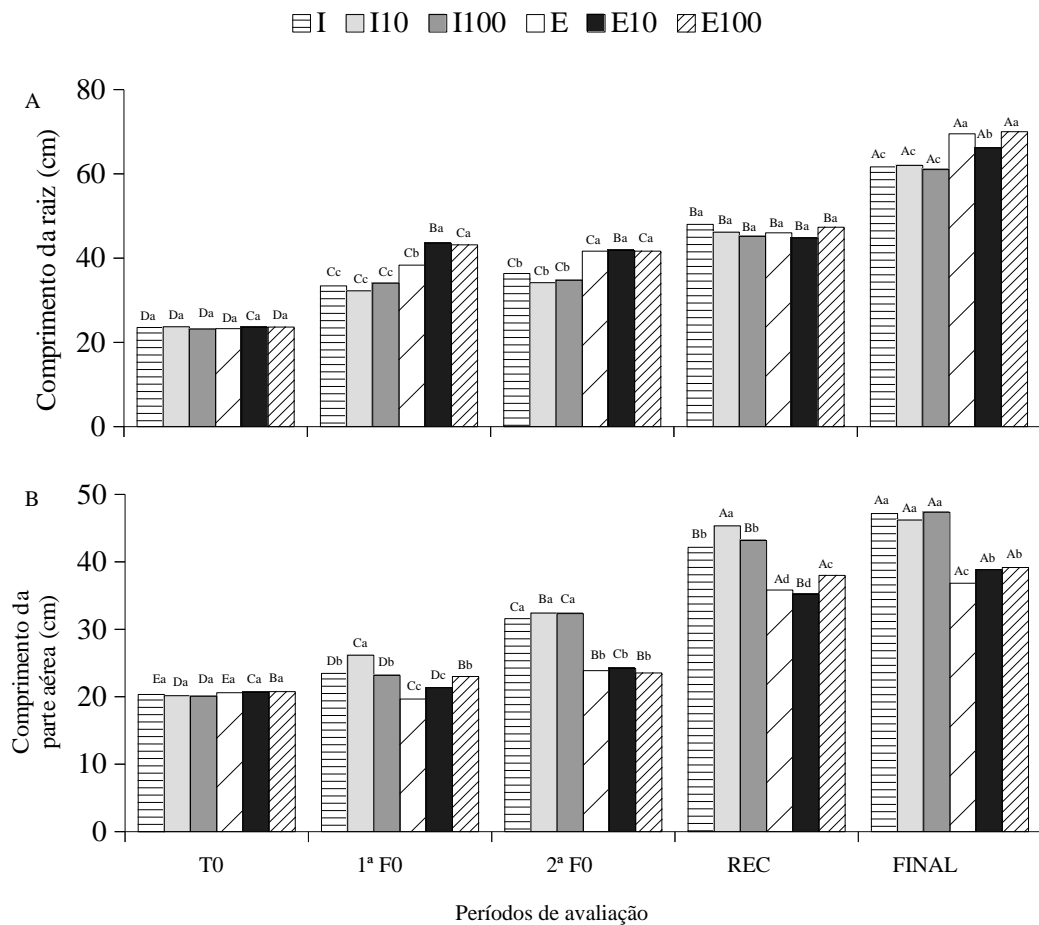


Figura 4. Valores médios de dados de crescimento: comprimento da raiz – A e comprimento da parte aérea - B de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 μM ABA e I 100 μM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 μM ABA e E 100 μM ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes períodos de avaliação; letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo período de avaliação. T0 –tempo zero; 1<sup>a</sup> F0- 1<sup>a</sup> fotossíntese nula; 2<sup>a</sup> F0- 2<sup>a</sup> fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Com relação ao número de folhas, as mudas dos tratamentos do déficit hídrico E e E 10 apresentaram redução significativa na 2<sup>a</sup> F0 e a partir da REC, as mudas dos déficit hídrico foram inferiores as irrigadas (Figura 5A). Entretanto, se recuperaram na avaliação final. Para área foliar, as mudas do tratamento estressado E 100 μM ABA apresentaram menores valores na 1<sup>a</sup> F0 e a partir da 2<sup>a</sup> F0, os tratamentos do déficit hídrico proporcionaram foram inferiores em relação aos irrigados. Na avaliação final (FINAL), as mudas do déficit hídrico apresentaram valores inferiores as irrigadas (Figura 5B).



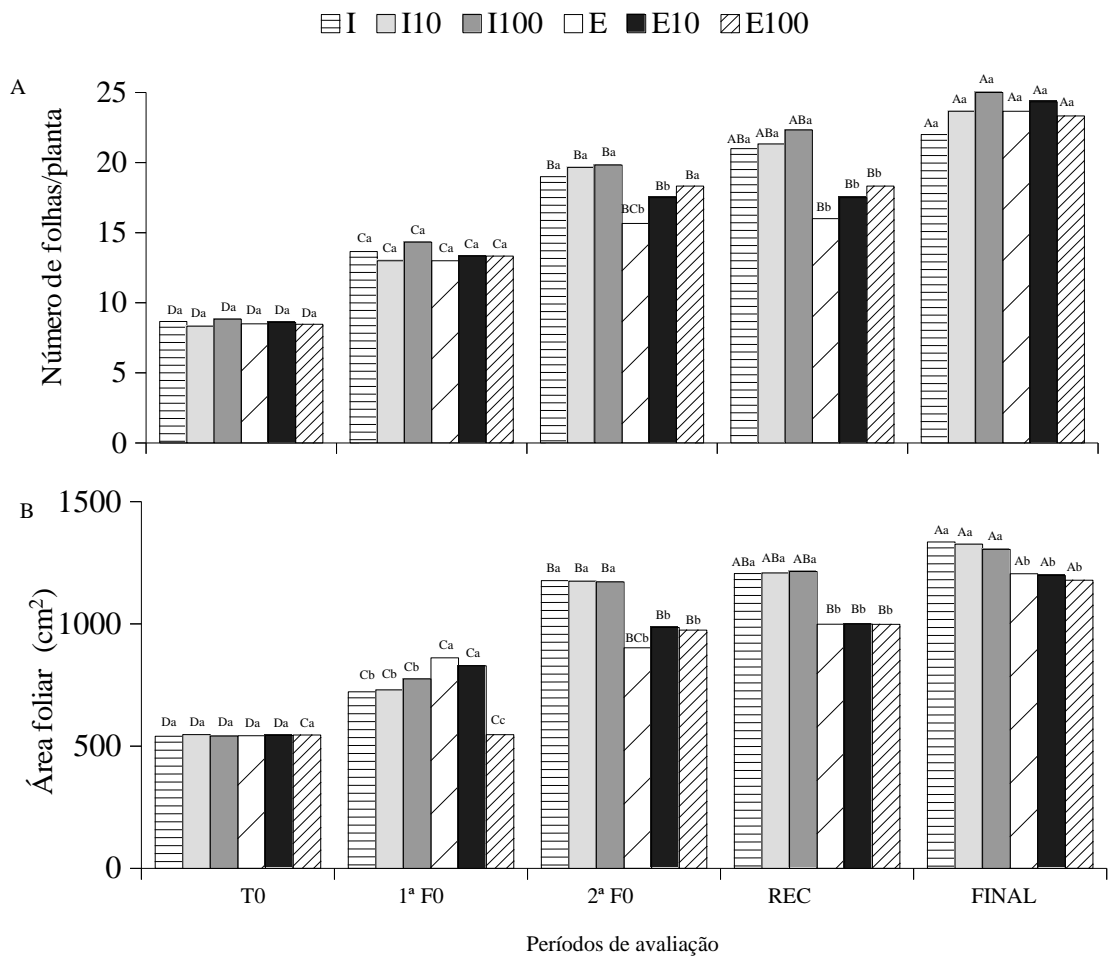


Figura 5. Valores médios de dados de crescimento: número de folhas – A e área foliar - B e de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Letras maiúsculas comparamo mesmo tratamento em diferentes tempos de avaliação; letras minúsculas comparam tratamentos no mesmo tempo de avaliação. T0 –tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

O índice de clorofila apresentou redução significativa na 1ª F0 nas mudas dos tratamentos do déficit hídrico E e E 100 µM ABA, enquanto que o E 10 µM ABA e o I 100 µM ABA não diferiram entre si. Na 2ª F0, o índice de clorofila reduziu nos tratamentos do déficit hídrico, principalmente no tratamento E. As mudas tratadas com doses de ABA (E 10 µM ABA e E 100 µM ABA) apresentaram índices superiores à do tratamento sem ABA (E), porém inferior às irrigadas. Nos períodos de REC e FINAL, os índices de clorofila nos tratamentos do déficit hídrico não diferiram com os irrigados (Figura 6A).

As mudas dos tratamentos do déficit hídrico apresentaram redução do diâmetro do caule a partir da 2ª F0 e permaneceram com valores inferiores às irrigadas até a avaliação final (FINAL) (Figura 6B).

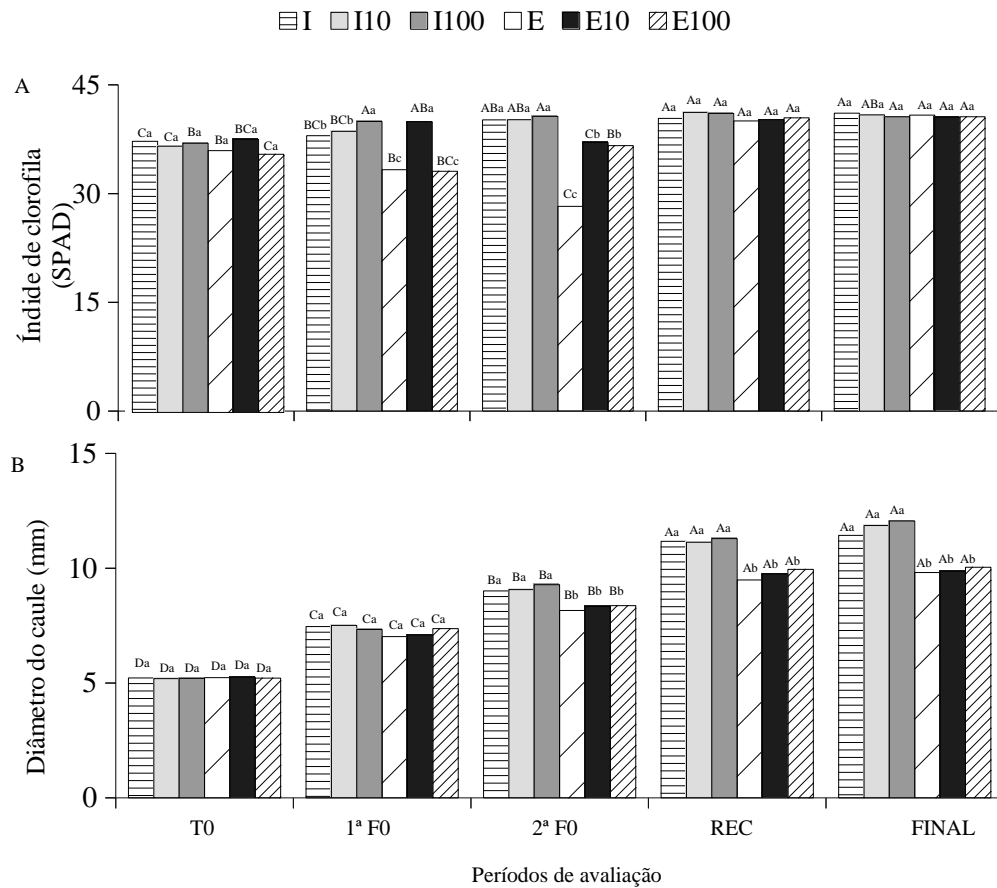


Figura 6. Valores médios de dados de crescimento: índice de clorofila – A e diâmetro do caule - B de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 μM ABA e I 100 μM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 μM ABA e E 100 μM ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes tempos de avaliação; letras minúsculas comparam tratamentos no mesmo tempo de avaliação. T0 –tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Em relação ao Índice de Qualidade de Dickson, as mudas dos tratamentos irrigados apresentaram valores ligeiramente inferiores as estressadas na 1ª F0. Porém, na recuperação e na avaliação final, o IQD das mudas irrigadas foram superiores as submetidas ao déficit hídrico (Figura 7).

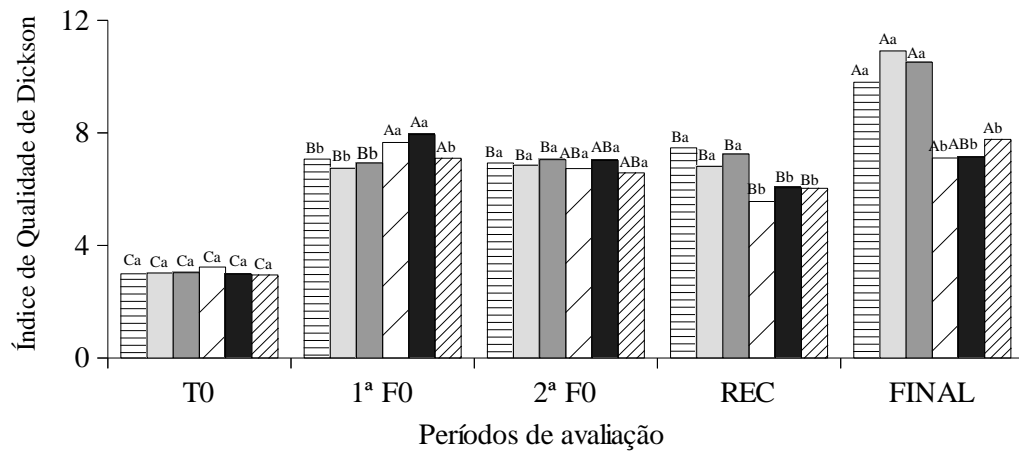


Figura 7. Índice de Qualidade de Dickson de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10  $\mu$ M ABA e I 100  $\mu$ M ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu$ M ABA e E 100  $\mu$ M ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes tempos de avaliação; letras minúsculas comparam tratamentos no mesmo tempo de avaliação. T0 –tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Em relação a anatomia foliar, a cutícula da face adaxial aumentou nos tratamentos do déficit hídrico na 1ª F0 e nos tratamentos com doses de ABA (E 10 $\mu$ M e E 100 $\mu$ M) na 2ª F0, sobretudo no E 10 $\mu$ M (Figura 8A). A cutícula da face abaxial apresentou variações nos tratamentos, sendo que na 1ª F0 os tratamentos I (irrigado) e E (déficit hídrico) não tratados com ABA apresentaram redução na espessura da cutícula da face abaxial em relação aos demais (Figura 8B).

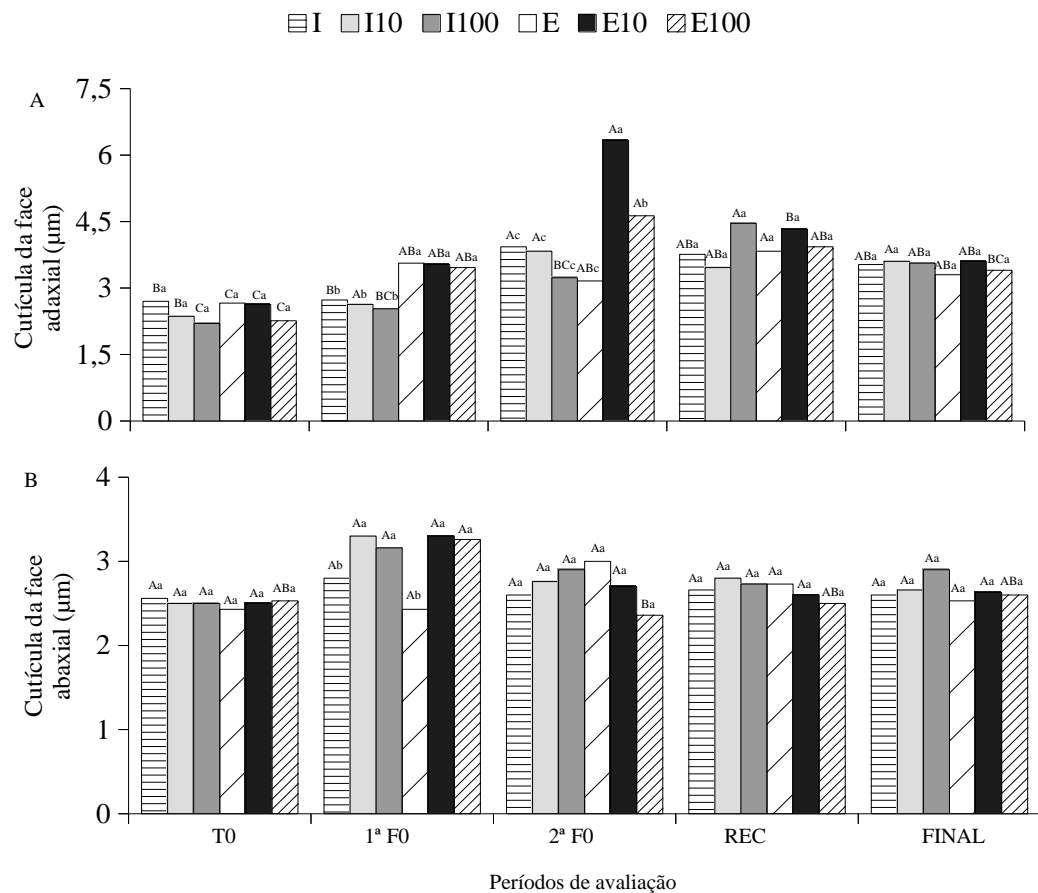


Figura 8. Cutícula da face adaxial (A) e abaxial (B) de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes tempos de avaliação; letras minúsculas comparam tratamentos no mesmo tempo de avaliação. T0 - tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Tanto a epiderme da face adaxial quanto da face abaxial das folhas aumentaram significativamente no tratamento do déficit hídrico com dose de ABA (E 10 µM) na 2ª F0, enquanto que o tratamento E sem ABA foi inferior aos tratamentos (Figura 9A). As mudas irrigadas não tratadas com ABA (I) e as do déficit hídrico sem ABA (E) não diferiram significativamente na 1ª F0, enquanto que as mudas irrigadas tratadas com ABA (I 10 e I 100) não diferiram significativamente das mudas do déficit hídrico tratadas com ABA (E10 e E 100) nesse período (Figura 9B). A partir da 2ª F0 os tratamentos não diferiram significativamente entre si.

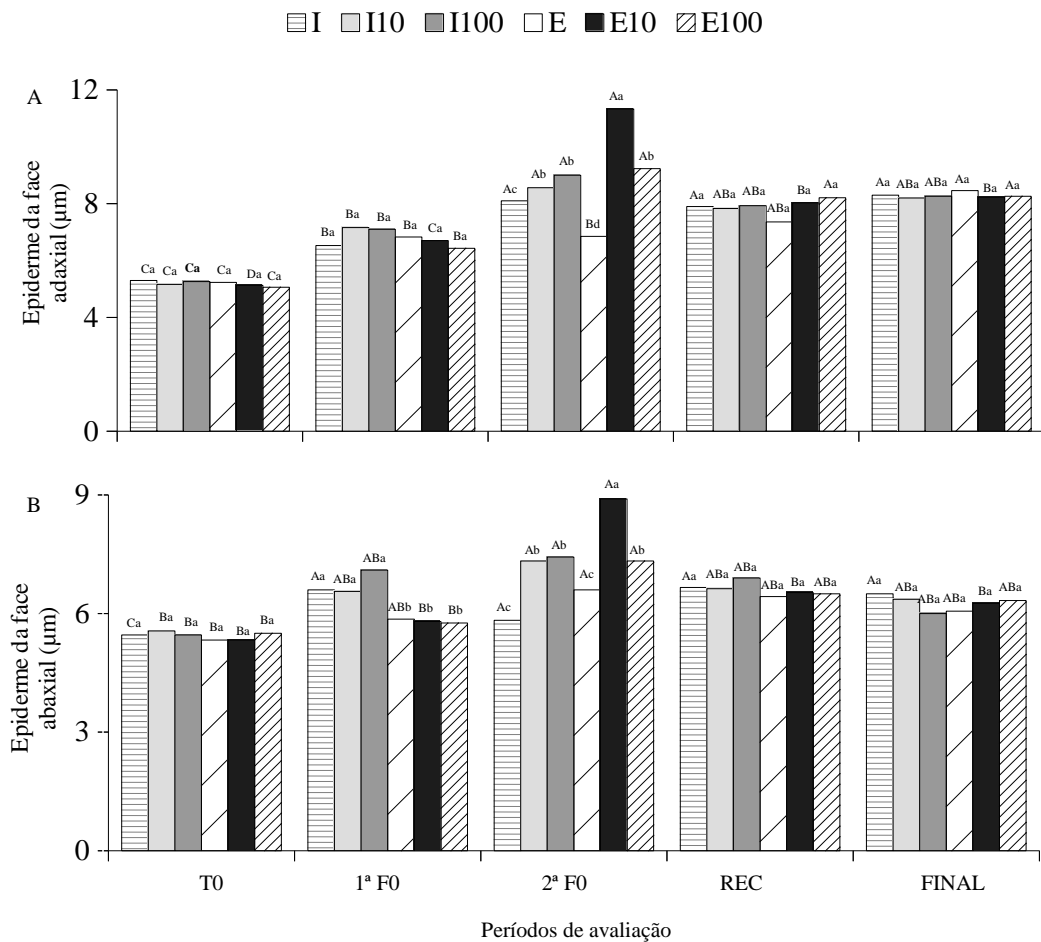


Figura 9. Epiderme da face adaxial (A) e epiderme da face abaxial (B) de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes tempos de avaliação; letras minúsculas comparam tratamentos no mesmo tempo de avaliação. T0 - tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

O parênquima paliçádico aumentou nos tratamentos do déficit hídrico na 1ª F0, com valores superiores aos tratamentos irrigados e nos demais períodos de avaliação, os tratamentos (irrigados e do déficit hídrico) não apresentaram diferença significativa (Figura 10A). O parênquima lacunoso reduziu em mudas sob déficit hídrico na 1ª F0 e nos demais períodos de avaliação, os tratamentos não diferiram entre si (Figura 10B).

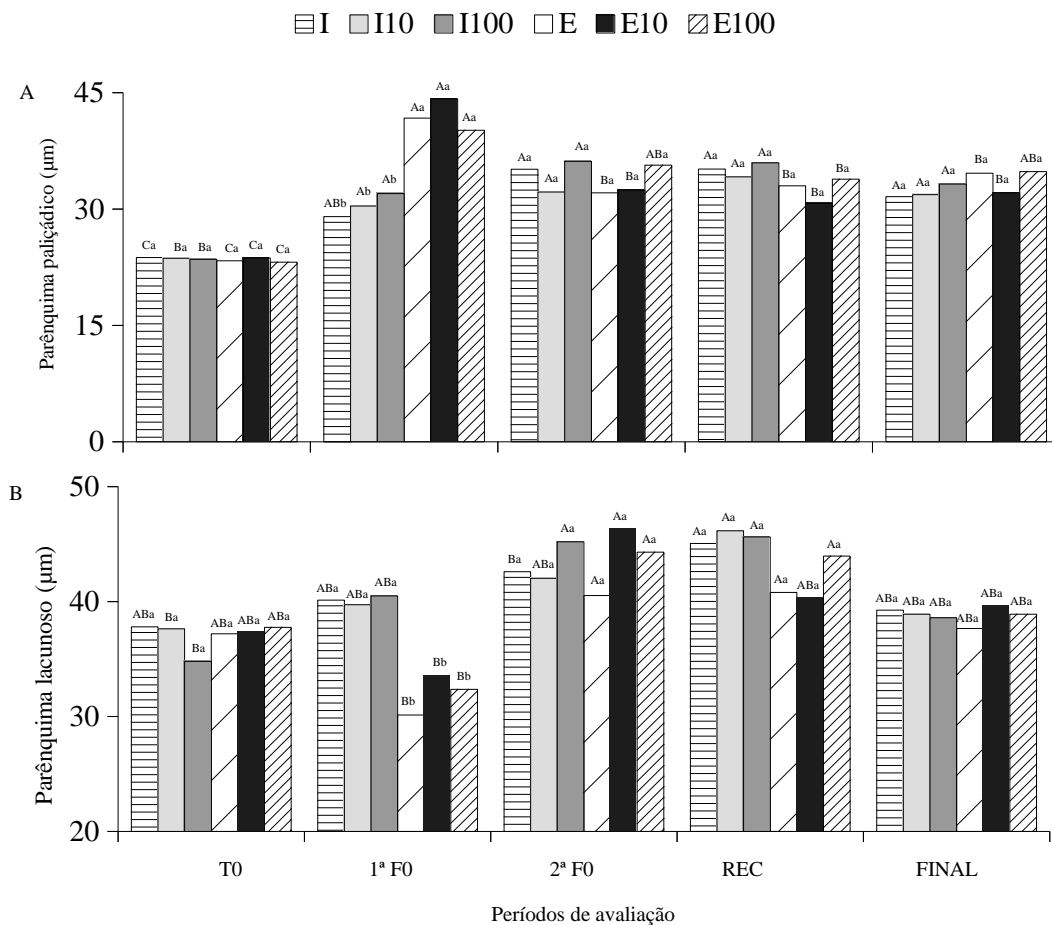


Figura 10. Parênquima paliçádico (A) e lacunoso (B) de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10  $\mu\text{M}$  ABA e I 100  $\mu\text{M}$  ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10  $\mu\text{M}$  ABA e E 100  $\mu\text{M}$  ABA). Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento em diferentes tempos de avaliação; letras minúsculas comparam tratamentos no mesmo tempo de avaliação. T0 - tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Para o comprimento total internervural, comprimento do feixe vascular e comprimento total do feixe vascular (da nervura), apenas o fator período de avaliação foi significativo (Figura 11A, B e C, respectivamente). Essas características apresentaram maiores valores nos períodos de fotossíntese nula e redução na recuperação e avaliação final, principalmente para o comprimento do feixe vascular e comprimento total do feixe vascular (nervura).

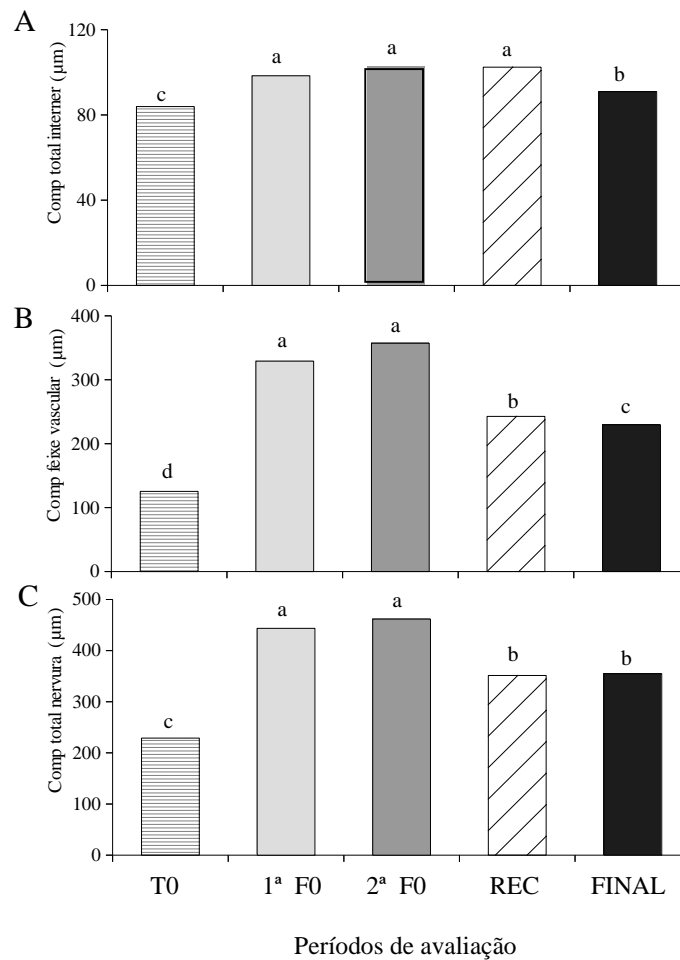


Figura 11. Comprimentos: total internervural – compreende o comprimento desde a cutícula adaxial até a abaxial (A), do feixe vascular – compreende o comprimento do xilema e floema (B) e total da nervura – compreende o comprimento total desde a cutícula adaxial, passando pelo feixe vascular até a cutícula da face abaxial (C) de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Letras minúsculas comparam diferentes períodos de avaliação; T0 - tempo zero; F0- 1ª fotossíntese nula; 2ªF0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

Em relação aos estômatos, a abertura do ostíolo, diâmetro polar e a relação DP/DE (diâmetro polar/diâmetro equatorial), não foi observada interação significativa entre os tratamentos e períodos de avaliação e nem entre os fatores isolados, com média geral de 2,81 µm; 10,67 µm e 8,68 µm, respectivamente. Apenas o diâmetro equatorial dos estômatos variou em função do tempo, no qual o período de avaliação final (FINAL) apresentou valor inferior aos demais períodos (Figura 12A).

As mudas de *O. arborea* irrigadas e submetidas ao déficit hídrico diferiram em função do tempo em relação ao índice estomático, apresentando maior índice na 1ª F0 (Figura 12B).

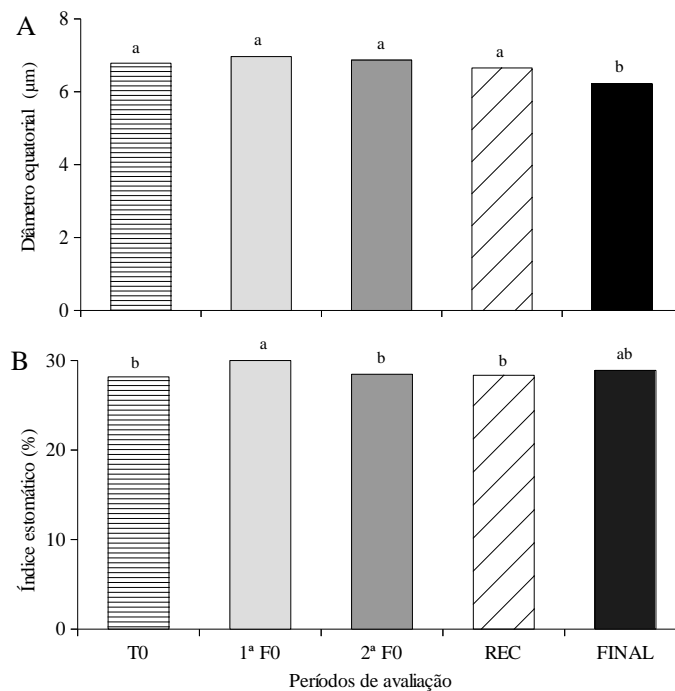


Figura 12. Diâmetro equatorial dos estômatos - A e índice estomático (%) – B de mudas irrigadas de *Ormosia arborea* (I, I 10 µM ABA e I 100 µM ABA) e submetidas a condições de déficit hídrico (E, E 10 µM ABA e E 100 µM ABA). Letras maiúsculas comparam diferentes tempos de avaliação; T0 - tempo zero; 1ª F0- 1ª fotossíntese nula; 2ª F0- 2ª fotossíntese nula; REC – recuperação e avaliação final – FINAL.

#### 5.4. Discussão

De maneira geral, os tratamentos irrigados de *O. arborea* apresentaram valores superiores para as características de crescimento inicial nos períodos de fotossíntese nula, exceto o comprimento da raiz (Figura 3A). O suprimento hídrico é um importante fator que influencia as trocas gasosas, promovendo funcionamento do processo fotossintético e assim, assimilação de CO<sub>2</sub> e acúmulo de biomassa. Praticamente, essa matéria orgânica acumulada numa planta durante seu crescimento tem origem no processo fotossintético de fixação de carbono atmosférico, o que representa cerca de 95% de toda sua fitomassa seca (MACHADO et al., 2005). Assim, se a fotossíntese é afetada por um fator ambiental, o crescimento e acúmulo de biomassa também serão influenciados. Além dessa resposta, em condição de déficit hídrico, a diminuição da turgescência é a primeira alteração que ocorre, levando imediatamente a redução do crescimento (FERRARI et al., 2015).

As mudas de *Guazuma ulmifolia* Lam. (mutambo) sob diferentes regimes hídricos (100, 50, 25 e 12,5% cc) apresentaram redução significativa nas características de crescimento, como a massa seca de raiz e parte aérea, diâmetro do caule e altura quando submetidas a 12,5% cc (Scalon et al., 2011). Ressalta-se que, em *O. arborea* as doses de



ABA em mudas irrigadas não otimizaram no aumento do crescimento inicial, pois não apresentaram diferenças significativas entre si. No entanto, nos tratamentos do déficit hídrico associados às doses 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$  de ABA, o hormônio pode ter estimulado o aumento no comprimento da raiz, como observado na 1ª F0 (Figura 4A). Porém, na 2ª F0 os tratamentos sob déficit hídrico não diferiram entre si, embora foram superiores aos irrigados. O déficit hídrico pode promover um crescimento preferencial das raízes para regiões do solo que ainda estão úmidas, sendo que esse alongamento radicular ocorre devido à alocação de assimilados para esse órgão da planta (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O ABA induz o crescimento radicular e também estimula a emergência das raízes laterais, enquanto suprime o crescimento foliar. No caso de aplicação de ABA no sistema radicular, há o estímulo dos fluxos de água e íons, o que sugere que além do ABA regular o turgor pela diminuição da transpiração, esse hormônio também regula o aumento do influxo de água para raízes. Assim, os efeitos do ABA sobre as raízes e as folhas promovem um redução da área foliar (Figura 5B) e aumento de absorção de água pelas raízes, e dessa forma, auxilia a planta a enfrentar condições de seca (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Existem evidências de sinalização química entre as raízes e folhas sob déficit hídrico. Em algumas plantas, o ABA originado na raiz pode aparentemente influenciar a fisiologia e o crescimento na ausência de alguma perturbação relacionada a água na planta e provavelmente, o ABA esteja envolvido na sinalização entre diferentes órgãos da planta (DAVIES et al., 1990). Portanto, é possível que o ABA esteja envolvido nas respostas das plantas em relação ao déficit hídrico, embora ainda são poucos os experimentos relacionados a sinalização da raiz para promover respostas ao estresse hídrico (ZAINUDIM & AWANG, 2004).

A área foliar tende a reduzir em função da suspensão hídrica, assim como observado em *O. arborea*; a expansão foliar é um processo que depende do turgor, sendo sensível ao déficit hídrico (TAIZ & ZEIGER, 2013). Santiago et al. (2010) avaliaram o crescimento inicial de plantas jovens de *Mimosa caesalpinifolia* Benth submetidas ao estresse hídrico (moderado e severo) e observaram que as mudas sob deficiência hídrica apresentaram valores inferiores ao das mudas controle, em relação as características de crescimento, como altura, número de folhas, inclusive área foliar. Mudas de *Myracrodruon urundeva* Allemão submetidas ao estresse hídrico apresentaram redução significativa da área foliar, além de outras características de crescimento, como altura e o número de folhas (FIGUERÔA et al., 2004). Assim, a redução da área foliar envolve aspectos fisiológicos que refletem em modificações morfológicas (BELO, 2011). O fechamento estomático junto com a inibição da

expansão da área foliar está entre as primeiras respostas ao déficit hídrico, o que evita a perda de água, a qual pode resultar em desidratação celular e fechamento da cavidade xilemática (NASCIMENTO et al., 2011).

Portanto, sob condição de seca o alongamento celular é inibido pela redução do turgor devido a diminuição da absorção de água. A fotoassimilação também diminuiu, bem como os metabólitos para divisão celular, prejudicando a mitose, alongamento e expansão das células, resultando na diminuição do crescimento da planta (M. FAROOQ et al., 2009). Além disso, a deficiência hídrica pode afetar as concentrações de carboidratos, por alterar a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o desenvolvimento de partes novas da planta (MOURA et al., 2016).

O estresse hídrico pode promover nas plantas a redução dos teores de pigmentos fotossintéticos devido aos danos oxidativos e assim, as plantas se protegem sintetizando carotenóides e também aumentando o teor de enzimas, como as peroxidases (EGERT & TEVINI, 2002).

Em *O. arborea*, observou-se redução no índice de clorofila em mudas sob déficit hídrico. A deficiência no teor de clorofila limita o desenvolvimento das plantas (VIEIRA et al., 2014), sendo a clorofila um pigmento chave para o processo fotossintético e se esse processo é afetado, o crescimento da planta provavelmente também será. Além disso, sob déficit hídrico a absorção do nitrogênio pelas plantas é dificultada, sendo este um componente essencial não somente das clorofilas, mas também de proteínas, enzimas e ácidos nucleicos, sendo indispensável ao crescimento das plantas (UHART & ANDRADE, 1995).

A suspensão hídrica também afetou o índice de clorofila em clones de *Hevea brasiliensis* (Wild.) Muell. Arg. submetidas à deficiência hídrica (CORRÊA et al., 1987). Moura et al. (2016) avaliaram mudas de *Jatropha curcas* L. submetidas a diferentes regimes hídricos (100, 80, 60 e 40% da capacidade de pote); os autores observaram que o índice de clorofila estimado pelo SPAD aumentou no tratamento de 60% no período de 90 dias e também no tratamento de 40% aos 120 dias. Em relação ao aumento desses pigmentos fotossintéticos, os autores relacionaram esse comportamento a resistência que essa espécie ao déficit hídrico e assim, potencializar o desempenho da assimilação fotossintética do CO<sub>2</sub> das plantas e manter seu desenvolvimento.

As mudas irrigadas de *O. arborea* apresentaram maior Índice de Qualidade de Dickson a partir na recuperação, se comparada com as mudas do déficit hídrico, e portanto, nesses períodos (REC e FINAL) as mudas irrigadas apresentaram uma melhor qualidade. Mudas sob déficit hídrico tendem a apresentar o Índice de Qualidade de Dickson (IQD)

menor que mudas irrigadas, pois a suspensão hídrica limita o crescimento da planta, e portanto, diminui o acúmulo de biomassa. O IQD é um índice importante que leva em consideração para o seu cálculo a robustez e o equilíbrio da distribuição da biomassa da muda, ponderando vários parâmetros considerados importantes (MELO & CUNHA, 2008).

Morais et al. (2012) avaliaram mudas de *Schinus terebinthifolius* Raddi sob diferentes lâminas de irrigação (8, 10, 12 e 14 mm) e observaram que embora não houve diferença entre os tratamentos, as mudas as que receberam a menor quantidade de água, de 8 mm, apresentaram menor IQD.

Em relação as modificações anatômicas, as principais foram aumento da espessura cutícula, da epiderme e do parênquima paliçádico. Plantas sob déficit hídrico tendem a aumentar a espessura da cutícula, e nas mudas de *O. arborea* sob déficit hídrico apresentaram aumento principalmente da cutícula adaxial, sobretudo na 1ª F0. Segundo Riederer & Scheiber (2001), a cutícula é a principal barreira para evitar a perda de água; as plantas que estão em um ambiente atmosférico tem o desafio de desenvolver uma barreira contra a perda de água descontrolada. No entanto, a barreira tem de ser translúcida para radiação fotossinteticamente ativa, flexível e auto-cicatrizante, sendo a cutícula uma combinação dessas propriedades de forma econômica, composta de cutina e de ceras.

A inibição da expansão celular e modificação no acúmulo de componentes da cutícula são dois processos importantes que as plantas adotaram para responder ao déficit hídrico (COMINELLI et al., 2008). Esses autores estudando *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. caracterizaram gene com um fator de transcrição que são expressos especificamente em resposta ao estresse hídrico, onde a superexpressão deste gene provoca a redução no nível de RNAm de alguns genes envolvidos na expansão celular e também a acumulação de genes com função na síntese e deposição de cutícula. Além disso, em condições normais de crescimento este gene não é expresso, porém sua expressão é significativamente induzida por diferentes estímulos, sobretudo ao estresse pela seca, ao ABA e em plantas tratadas com sal.

O aumento da espessura da epiderme é uma estratégia para evitar a perda de água. Plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* MART. submetidas ao estresse hídrico, apresentaram aumento na espessura em ambas as faces da epiderme, com valores superiores as plantas controle. Também apresentam aumento na espessura do parênquima paliçádico, em relação as plantas controle e o parênquima lacunoso foi maior nas mudas controle. Embora essas plantas submetidas a deficiência hídrica aumentaram o parênquima paliçádico e a epiderme, o mesofilo foi menor se comparadas as plantas controle (MACHADO, 2004). A

epiderme é um tecido bastante responsivo às alterações da condição do ambiente (MELO et al., 2007).

Esse comportamento também foi observado em mudas de *O. arborea*, principalmente na 1ª F0 (Figura 10A), no qual as mudas dos tratamentos estressados aumentaram a espessura do parênquima paliçádico e reduziram do lacunoso. Nos demais períodos de avaliação, o parênquima paliçádico de *O. arborea* reduziu nas mudas do do déficit hídrico e, provavelmente, as folhas utilizadas nos cortes anatômicos na 2ª F0, REC e FINAL não se desenvolveram durante o déficit hídrico. O aumento do parênquima paliçádico pode aumentar o número de locais de assimilação de CO<sub>2</sub> por unidade foliar para manter a fotossíntese, mesmo com baixos valores de condutância estomática causado pela suspensão hídrica; além disso, o aumento do parênquima paliçádico provavelmente pode melhorar a difusão de CO<sub>2</sub> por meio da interconexão da cavidade sub estomática para a superfícies externa das células do mesofilo (ENNAJEH et al., 2010).

Embora o parênquima paliçádico tenha aumentado em mudas de *O. arborea* sob déficit hídrico, por outro lado, o mesofilo não diferiu significativamente entre os tratamentos, com variações em função dos períodos de avaliação (Figura 11). Melo et al. (2007) avaliaram *Paspalum paniculatum* L. em condição de estresse hídrico e observaram que não houve variação na espessura do feixe vascular e assim, dependendo da plasticidade anatômica, algumas espécies desenvolvem mudanças na espessura de tecidos do limbo foliar que possibilitam uma melhor adaptabilidade a diferentes condições de estresse.

Plantas sob déficit hídrico podem apresentar maior diâmetro polar e maior relação DP/DE; em *O. arborea*, além dessas características, a abertura do ostíolo também não apresentou nenhuma interação. No entanto, cultivares de café ‘Siriema’ e ‘Catuai’ (*Coffea* sp.) submetidas ao estresse hídrico por dez dias apresentaram aumento no diâmetro polar em mudas não irrigadas, sendo superior na cultivar ‘Siriema’ comparada à ‘Catuí’; diâmetro equatorial superior em mudas irrigadas para ambas as cultivares, maior relação DP/DE em mudas não irrigadas para cultivar ‘Siriema’ e o índice estomático não apresentou diferença entre os tratamentos e nem entre as cultivares (GRISI et al., 2008). Segundo os autores, o aumento do diâmetro polar no tratamento não irrigado é uma modificação relacionadas a uma maior funcionalidade dos estômatos, que adquiri um formato elipsóide em condição de restrição hídrica.

O diâmetro equatorial está relacionado a variação de turgidez, que determina a abertura e fechamento do estômato (TAIZ & ZEIGER, 2013) e portanto, as mudas irrigadas tendem a apresentar maior diâmetro equatorial, porém em *O. arborea* não houve diferença

entre os tratamentos irrigados e sob déficit hídrico, com interação em função dos períodos de avaliação. O aumento na relação DP/DE em mudas não irrigadas pode servir como um indicador de resposta da planta quanto ao seu estado hídrico (MELO et al., 2014). Em relação ao índice estomático, assim como no trabalho de Grisi et al (2008), *O. arborea* não apresentou diferença significativa entre os tratamentos irrigados e sob déficit hídrico, sendo essa variável pode ser afetada pela umidade, sendo razoavelmente constante para cada espécie (CUTTER, 1986; conforme citado por GRISI et al., 2008).

Em relação ao efeito do ácido abscísico nas alterações anatômicas da folha, os trabalhos ainda são escassos, sobretudo com espécies arbóreas. Franks & Farquhar (2001) avaliaram o efeito da aplicação exógena de ácido abscísico *Tradescantia virginiana* L., no qual as plantas foram cultivadas em condições bem regadas, tratadas diariamente ou com água destilada (controle) ou com 3  $\mu$ M de ABA para simular quimicamente condições de seca em plantas bem irrigadas. Plantas tratadas com ABA apresentaram estômatos significativamente menores, maior densidade estomática em sua epiderme inferior e fechamento estomático mais completo. Segundo os autores, o aumento na densidade de estômatos na epiderme inferior de folhas tratadas com ABA, poderia equivaler a uma mudança de maior controle de transpiração para a epiderme inferior, porém esse comportamento ainda não está claro. Existem várias adaptações morfológicas associadas ao crescimento sob estresse hídrico que podem contribuir para uma melhoria geral na eficiência do uso da água. Entretanto, ainda se sabe pouco sobre o papel potencial do ABA na promoção de mudanças no desenvolvimento da estrutura e arranjo estomático dentro das folhas ou do significado funcional dessas mudanças.

Portanto, a adaptação e a aclimatização das plantas ao estresse ambiental resultam de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o anatômico e morfológico até o celular, bioquímico e molecular (CAVALCANTE et al., 2009).

Em *O. arborea*, as mudas submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução nos parâmetros de biomassa nos períodos de fotossíntese nula, sendo que o ABA pode ter estimulado o crescimento das raízes nas mudas que receberam a aplicação deste hormônio. Em relação a modificações anatômicas, *O. arborea* apresentou pequenas modificações na estrutura/tecidos de suas folhas durante o déficit hídrico que as mudas foram submetidas, e provavelmente o ABA não desencadeou respostas expressivas na anatomia foliar.

## **5.5. Conclusões**

O déficit hídrico limita o crescimento das plantas, porém as mudas que estão nessa condição podem desencadear respostas que estão relacionadas a sobrevivência, como o crescimento das raízes, no qual a aplicação de ABA pode ter estimulado esse crescimento.

Em relação à anatomia foliar, os resultados sugerem que as modificações ocorreram em função do déficit hídrico e as doses de ABA, provavelmente não promoveram aumento expressivo nas estruturas do mesofilo.

## 5.6. Referências bibliográficas

- BELO, E. S.; Efeito do estresse hídrico no metabolismo de gabirobeira. **Dissertação**. Universidade Federal de Goiás – UFG, Câmpus Jataí – GO, 2011.
- CAVALCANTE, A. C. R.; CAVALLINI, M. C.; LIMA, N. R. C. B. **Estresse por déficit hídrico em plantas forrageiras**. Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, 2009.
- COMINELLI, E.; GALBIATI, M.; TONELLI, C. Integration of water stress response Cell expansion and cuticle deposition in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 8, p. 556-557, 2008.
- CORRÊA, A. F. ; RANZANI, G.; FERREIRA, L. G. R. Relações entre o déficit hídrico e alguns processos fisiológicos e bioquímicos em quatro clones de seringueira. **Acta Amazonica**, Manaus, v.17, n. p. 3-12, 1987.
- DAVIES, W. J.; MANSFIELD, T. A.; HETHERINGTON, A. M. Sensing of soil water status and the regulation of plant growth and development. **Plant, Cell & Environment**, v.13, p. 709-719.1990.
- DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **For. Chron.**, v. 36, p. 10-13,1960.
- DUTRA, C. C.; PRADO, E. A. F.; PAIM, L. R.; SCALON, S. P. Desenvolvimento de plantas de girassol sob diferentes condições de fornecimento de água. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 2657-2668, 2012.
- EGERT, M.; TEVINI, M. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, p. 43-49, 2002.
- ENNAJEH, M. ; VADEL, A. M.; COCHARD, H.; KHEMIRA, H. Comparative impacts of water stress on the leaf anatomy of a drought-resistant and a drought-sensitive olive cultivar. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 85, p. 289-294, 2010.
- FERRARI, E.; PAZ, A.; SILVA, A. C. Déficit hídrico no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas no Mato Grosso. **Nativa**, Sinop, v. 3, n. 1, p. 67-77, 2015.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system**. Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* (Allemão Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 18, n. 3, p. 573-580, 2004.

- FRANKS, P. J.; FARQUHAR, G. D. The Effect of Exogenous Abscisic Acid on Stomatal Development, Stomatal Mechanics, and Leaf Gas Exchange in *Tradescantia virginiana*. **Plant Physiology**, v. 125, p. 935-942, 2001.
- GRISI, F. A.; ALVES, J. D.; CASTRO, E. M.; OLIVEIRA, C.; BIAGIOTTI, G.; MELO, L. A. Avliações anatômicas foliares em mudas de café ‘Catuaí’ e ‘Siriema’ submetidas ao estresse hídrico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1730-1736, 2008.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil** - Vol. 01- 5. edição. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p.384, 2008.
- MACHADO, A. V. Efeitos do estresse hídrico em plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* MART. (CHLORANTHACEAE). **Dissertação**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- MACHADO, E. C.; SCHIMIT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.12, p.1161-1170, 2005.
- MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; SOARES, A. M.; MELO, L. A.; ALVES, D. A. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p.145-153, 2007.
- MELO, R. R.; CUNHA, M. C. L. Crescimento inicial de mudas de mulungu (*Erythrina velutina* Wild.) sob diferentes níveis de luminosidade. **Ambiência**, Guarapuava, v. 4, n. 1, p. 67- 77, 2008.
- MELO, E. F.; BRUM, C. N. F.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M.; JÚNIOR, A. C. Modificações anatômicas e fisiológicas em mudas de *Coffea arábica* cultivar Siriema submetidas ao déficit hídrico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 1, p. 25-33, 2014.
- M. FAROOQ, A. WAHID, N. KOBAYASHI D. FUJITA S.M.A. BASRA. Plant drought stress:effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Springe Verlag, EDP, Sciences/INRA, v. 29, n. 1, p.185-212, 2009.
- MORAES, W. W. C.; SUSIN, F.; VIVIAN, M. A.; ARAÚJO M. M. Influência da irrigação no crescimento de mudas de *Schinus terebinthifolius*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 69, p. 23-28, 2012.
- MORRETES, B. L.; FERRI, M. G. **Contribuição ao estudo da anatomia de folhas de plantas do cerrado**. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP 16:7-70. 1959.



- MOURA, A. R.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, J. A. A.; LIMA, T. V. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 345-354, 2016.
- NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; FILHO, F. R. F.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 853–860, 2011.
- RIEDERER, M.; SCHEIBER, L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 363, p. 2023-2032, 2001.
- SANTIAGO, A. M. P.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; LOPES, E. C. Crescimento em plantas jovens de *Mimosa caesalpinifolia* Benth, cultivadas sob estresse hídrico. **Revista Ecossistema**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 23-30, 2001.
- SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 655-662, 2011.
- SEIXAS, A. A.; GOMES, V. M.; SERAFIM, V. F.; VIANA, W. A. Déficit hídrico em plantas forrageiras – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 24, n. 0, 2015.
- SILVA, C. R. A.; LEITE, K. R. B.; FERREIRA, L. M. S. L.; SILVA, M. S.; SILVA, L. B. Influência da altitude na plasticidade foliar de *Clusia obdeltifolia* Bittrich (Clusiaceae). **Revista Nordestina de Biologia**, Paraíba, v. 23, n.1, p. 29-48, 2014.
- SILVA, S. R. S.; DEMUNER, A. J.; BASRBOS, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A.; PINHEIRO, A. L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, p. 1363-1368, 2002.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª edição. Editora Artmed, 2013.
- UHART, S.A.; ANDRADE, F.H. Nitrogen deficiency in maize. II. Carbon-nitrogen interaction effects on kernel number and grain yield. **Crop Science**, v.35, p.1384-1389, 1995.
- VIEIRA, G. H. S.; MANTOVANI, E. C.; SEDIYAMA, G. C.; DELAZARI, F. T. Indicadores morfo-fisiológicos do estresse hídrico para a cultura da cana-de-açúcar em função de lâminas de irrigação. **Bioscience Journal**, Unerlândia, v. 30, n. 1, p. 65-75, 2014.
- ZAINUDIM, S. R.; AWANG, K. Abscisic acid (ABA) and the regulation of seedling under stress. **Journal of Arboriculture**, v. 30, p. 231-237, 2004.

WANG, Y.; YANG, L.; YE, T.; ZHONG, B.; LIU, R.; WU, Y.; CHAN, Z. Major latex protein-like protein 43 (MLP43) functions as a positive regulator during abscisic acid responses and confers drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 421–434, 2016.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estresse hídrico é um dos fatores ambientais que afeta a planta em vários aspectos; na literatura, os trabalhos relacionados ao déficit hídrico ainda são poucos e este estudo pode contribuir com informações a respeito do comportamento de *Ormosia arborea* submetida ao déficit hídrico.

Em resposta ao déficit hídrico, ocorre o fechamento estomático para evitar a perda de água, processo mediado pelo hormônio ácido abscísico (ABA). Nas mudas não irrigadas tratadas com ABA, aquelas que receberam a dose 10  $\mu\text{M}$  foram as que toleraram o déficit hídrico, pois não atingiram fotossíntese nula nos dois períodos de suspensão hídrica. Assim, a transpiração, condutância estomática também reduziram em condição de déficit hídrico.

Nessa condição, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio, que podem até causar a morte celular e assim, são combatidas pelas enzimas antioxidantes (CAT, POD e SOD). As mudas de *O. arborea* sob estresse hídrico apresentaram valores superiores dessas enzimas em relação as mudas irrigadas, sobretudo a catalase na folha e raiz, e peroxidase na raiz.

Como a fotossíntese tende a reduzir em mudas do déficit hídrico, o acúmulo de biomassa também reduz, refletindo na redução da área foliar, comprimento da parte aérea, numero de folhas, porém, a aplicação de ABA pode ter estimulado o crescimento das raízes em mudas sob déficit hídrico.

Em relação a anatomia, os trabalhos sugerem que a aplicação de ABA aumenta a densidade estomática, porém esse efeito não ocorreu em *O. arborea*.

Portanto, para *Ormosia arborea* a dose mais indicada para aplicação de ABA é a dose 10  $\mu\text{M}$ , pois as mudas do déficit hídrico tratadas com essa dose foram as que não atingiram fotossíntese nula, ou seja, as que toleraram por mais tempo a suspensão hídrica. No entanto, as doses de ABA não promoveram respostas expressivas relacionadas as modificações morfoanatômicas.