



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ESTRUTURAIS EM PLANTAS
SUBMETIDAS A ESTRESSE HÍDRICO RECORRENTE EM
DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUZ**

ANGÉLICA LINO RODRIGUES

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica Vegetal.

Botucatu - SP

2018



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ESTRUTURAIS EM PLANTAS
SUBMETIDAS A ESTRESSE HÍDRICO RECORRENTE EM
DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUZ

ANGÉLICA LINO RODRIGUES

PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA

ORIENTADOR

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica Vegetal.

Botucatu – SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Rodrigues, Angélica Lino.

Respostas fisiológicas e estruturais em plantas submetidas a estresse hídrico recorrente em diferentes condições de luz / Angélica Lino Rodrigues. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luiz Fernando Rolim de Almeida

Capes: 20303033

1. Secas. 2. Leguminosa. 3. Aclimação (Plantas). 4. Desidratação (Hídrica). 5. Plantas - Efeito da luz.

Palavras-chave: Copaifera langsdorffii; aclimação; luminosidade; marca de estresse; seca.

DEDICATÓRIA

“A nossa recompensa está no esforço, não no resultado. Um esforço total é uma vitória completa (Mahatma Gandhi)”.

*Aos meus pais, Sebastião e Célia.
Meus irmãos Luís Fernando e Mariana.
Minha cunhada quase irmã Luciene
Minha madrinha Maria Helena.
Pelo apoio incondicional, paciência e acreditarem em mim.
Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre abençoar e guiar os meus passos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Fernando Rolim de Almeida que sempre acreditou em mim, por me incentivar, participar ativamente deste trabalho, pelo bom exemplo e pela amizade. Obrigada por não me deixar desistir.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu - Universidade Estadual Paulista – Júlio de Mesquita Filho e à seção de pós-graduação.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

À Profa. Dra. Tatiane Maria Rodrigues pela parceria e grande ajuda na confecção do primeiro capítulo da tese.

Aos docentes Dra. Elizabeth Orika Ono e Dra. Gisela Ferreira pela disponibilidade com os equipamentos nos laboratórios.

A Profa. Dra. Camila Kissmann e Prof. Dr. Fernando Broetto pela amizade e apontar temas essenciais para o desenvolvimento deste e de outros trabalhos científicos.

Aos queridos amigos do Laboratório de Ecofisiologia, Angelo Bertholdi, Danilo Miralha, Felipe Yamashita, Gabriela Vasconcellos, Luís Paulo Mantoan, Roberto Portella, Thais Arruda e Thayssa Schley, pela parceria, apoio e amizade tornando o ambiente de trabalho bem mais prazeroso. Também agradeço o Felipe Giroto e Carla Corrêa pelo auxílio nas coletas de dados de trocas gasosas.

Aos amigos do Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal, Diana Seixas, Fernanda Palermo, Juan de Nicolai e Stefany Cristina que me ajudaram durante a confecção do primeiro capítulo. Principalmente a Diana que pacientemente me ensinou e acompanhou todo o processo desde a coleta do material até a escrita.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica do IB, em especial à Shelly Favorito de Carvalho e Luciana Nascimento.

Aos amigos do Departamento de Botânica (novos e antigos), sempre que solicitados, contribuíram prontamente a este trabalho e principalmente nos momentos de descontração do dia a dia.

Aos outros docentes e funcionários do Departamento de Botânica que de alguma forma tornaram o ambiente de trabalho mais agradável.

Aos grandes amigos Caroline, Jennifer, Ricardo e Talita pela sólida amizade, me conhecerem tão bem e participar ativamente desta etapa.

À Cristiane e Ronaldo pela amizade e cuidarem tão bem de mim.

Aos amigos de Bauru, Ângelo, Araken, Cinthia, Lucas, Maria Clara e Thais pelos conselhos, o fiel apoio nesta e em todas as fases da minha vida.

E finalmente à minha família, mãe, pai, irmãos, cunhados, sobrinhos, avó, tios e primos, por entenderem a minha ausência em vários momentos, por me apoiarem e me incentivarem a ir atrás do meu sonho.

Nada seria possível sem vocês, muito obrigada!

SUMÁRIO

Resumo	08
Abstract.....	10
INTRODUÇÃO GERAL	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO 1	20
Resumo	20
Abstract:.....	20
1. Introdução.....	22
2. Material e métodos	24
3. Resultados.....	27
4. Discussão.....	28
5. Referências bibliográficas	32
CAPÍTULO 2	45
Resumo.	45
Abstract:.....	46
1. Introdução.....	47
2. Material e métodos	49
3. Resultados.....	55
4. Discussão.....	60
5. Referências bibliográficas	68
CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
APÊNDICES	106

RODRIGUES, A.L. **Respostas fisiológicas e estruturais em plantas submetidas a estresse hídrico recorrente em diferentes condições de luz.** 2018. 114p. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

Resumo: As plantas estão expostas à seca extrema e cada vez mais frequente devido aos cenários das mudanças climáticas. A superação dos períodos de estresse hídrico e a rápida recuperação com o retorno da estação chuvosa são características de ajuste importantes para o estabelecimento e distribuição dos vegetais. Para amenizar os danos causados pela seca e intensa radiação, o metabolismo vegetal dispõe de mecanismos bioquímicos, anatômicos e epigenéticos que auxiliam na eliminação de radicais livres, no transporte e reserva de água e garantem respostas mais rápidas à reidratação assim que a água estiver novamente disponível no ambiente. Neste contexto, estudos baseados na deficiência hídrica se limitam em expor plantas a apenas um ciclo de déficit, o que não acontece normalmente no ambiente. Os vegetais armazenam informações de estresses precedentes que não se resumem a padrões de sinalização isolados, mas funcionam como marcas deixadas anteriormente que auxiliam nas respostas a adversidades futuras. Deste modo, as consequências da seca de forma recorrente relacionando o estresse e a reidratação pós-estresse ainda não são bem compreendidos. A espécie utilizada para este estudo foi a *Copaifera langsdorffii* Desf. que possui folhas com mecanismos anatômicos e fisiológicos para superação das alterações ambientais. É conhecida pelas propriedades medicinais por meio do óleo amplamente consumido pela população em geral. *Copaifera langsdorffii* que ocorre em ambientes de diferentes regimes hídricos e luminosos é uma espécie chave para compreender a influência das variações ambientais extremas devido ao seu potencial adaptativo de ajuste ao ambiente de acordo com a exposição aos estresses hídricos de forma recorrente. Para isso temos os objetivos; a) avaliar quais os mecanismos fisiológicos, estruturais e bioquímicos que foram diferenciados em plantas

submetidas ao estresse hídrico recorrente ao longo da reidratação, comparado a plantas que foram submetidas a evento único de estresse; b) testar se a diferença na intensidade luminosa favorece ou inibe as estratégias de aclimatação da espécie.

Palavras-chave: seca, marca de estresse, luminosidade, *Copaifera langsdorffii*, aclimatação.

Physiological and structural responses in plants under recurrent water stress in different light conditions

Abstract: Plants are exposed to extreme drought increasingly frequent due to climate change scenarios. Overcoming periods of water stress and fast recovery with the rainy season return are characteristics of important adjustment for the establishment and wide vegetables distribution. To mitigate the damages caused by drought and intense radiation, plant metabolism features biochemical, anatomical and epigenetic mechanisms that assist in scavenging free radicals, increase the transport and water supply and ensure faster response to rehydration as soon as water is available in the environment again. In this context, studies based on water deficiency are limited to exposing plants only in one deficit cycle, which does not normally happen in the environment. Vegetables store information from previous stresses that are not limited to isolated signaling patterns, but function as previously left imprint that assist in responses to future adversities. Thus, the consequences of recurrent drought form related to stress and post-stress rehydration are not well understood yet. The species used for this study was *Copaifera langsdorffii* Desf. which has leaves with anatomical and physiological mechanisms to overcome environmental changes. The species has medicinal properties through the oil widely consumed by Brazilian population. It is present in several vegetation types in Brazil and South America that have different water and light pattern. These factors, among others, make this one of the most important tree species, from the floristic point of view, in Cerrado. Therefore, *C. langsdorffii* is a key species to understand the influence of extreme environmental variations due to its adaptive potential to adjust to the environment according to exposure to water stress recurrently. For this we have the objectives; a) to evaluate the physiological, morphological, anatomical and biochemical mechanisms that were differentiated in plants submitted to recurrent water stress during rehydration, compared to plants that were submitted to a single stress event; b) also test

whether the difference in light intensity favors or inhibits the acclimatization strategies of the species.

Keywords: acclimation, *Copaifera langsdorffii*, drought, luminosity, stress imprint.

INTRODUÇÃO GERAL

Conforme alterações nos cenários globais, os períodos de seca podem aumentar na frequência, intensidade e duração. Conseqüentemente, a tolerância das plantas aos períodos de estresse hídrico e a rápida recuperação com o retorno da estação chuvosa são características de ajuste frequentemente encontradas em plantas de regiões expostas às mudanças extremas (VAZ et al., 2010), sendo indispensável incluir os estudos relacionados com vários ciclos de estresse. Como está prevista para as próximas décadas maior constância de eventos de seca, serão necessárias maior número de pesquisas para elucidar os mecanismos de recuperação pós-seca que irão auxiliar as previsões de produtividade do ecossistema e otimizar os sistemas de irrigação (RODRIGUES et al., in press). Ainda, no contexto das mudanças climáticas globais e padrões irregulares de precipitação e temperatura que afetam diretamente a queda foliar, pesquisas que examinam a relação de fatores como o déficit hídrico e o estresse luminoso são fundamentais. Como por exemplo, o desenvolvimento da planta pode ser prejudicado pela seca e alteração na disponibilidade de luz em longo prazo devido às causas dos efeitos sinérgicos desses fatores estressantes (CARNEIRO; PEREIRA; SOUZA, 2015).

Nas regiões tropicais, os níveis de irradiação ultrapassam daqueles que as plantas realmente utilizam na fotossíntese. Sob intensa irradiação, o fotossistema II é o primeiro complexo proteico afetado. Portanto, é essencial a organização do aparato fotossintético para dissipar o excesso de energia absorvida. Essa regulação é vista com parâmetros de fluorescência da clorofila *a* através da dissipação fotoquímica e não fotoquímica (FRANCO; MATSUBARA; ORTHEN, 2007; COSTA et al., 2015). Ambientes com maior incidência luminosa geralmente apresentam temperaturas mais elevadas e conseqüentemente maiores índices de déficit de pressão de vapor, intensificando os efeitos da falta d'água no metabolismo vegetal. Nestas condições, os estômatos normalmente se fecham para diminuir perda de água para o ambiente, resultando na menor captação de CO₂ e conseqüentemente

menor taxa fotossintética (FAVARETTO et al., 2011). Outra importante defesa das plantas frente aos estresses ambientais é o metabolismo antioxidante que desempenha um papel importante na proteção contra os danos causados pela seca, temperaturas extremas, poluentes, radiação ultravioleta e altos/baixos níveis de luz. O aprimoramento da defesa antioxidante nas plantas pode aumentar a tolerância a esses fatores estressantes (ZHU et al., 2017). A variação de qualquer fator ambiental, a partir da condição ideal, não provoca necessariamente estresse em plantas devido à plasticidade e capacidade de aclimação dos vegetais. O estresse inicia-se com a restrição ou variação imprevisível dos fatores biótico e/ou abióticos que prejudicam o desempenho de alguma função vital para a planta e têm como consequência a perturbação da homeostase fisiológica (LARCHER, 2000). Portanto, a compreensão da dinâmica das respostas fisiológicas e estruturais aos diferentes regimes de luz, associadas a outros fatores ambientais limitantes como o déficit hídrico, é importante para explicar a distribuição ecológica e a sucessão de espécies.

Estudos com restrição na disponibilidade hídrica são utilizados para testar as respostas das plantas que apresentam melhor tolerância/resistência em relação à seca. No ambiente onde muitas vezes a seca se desenvolve durante o período de crescimento da planta, os indivíduos aclimatados conseguem sobreviver e completar o ciclo de crescimento (WALTER et al., 2013). No entanto, esses estudos se limitam a investigar o impacto de apenas eventos únicos de seca sobre plantas. Deste modo, as consequências da seca de forma recorrente relacionando o estresse e a reidratação pós-estresse ainda não são bem compreendidos (WALTER et al., 2011). As respostas ecofisiológicas da seca recorrente, simulando as reais condições que ocorrem no ambiente, fornecem subsídios para a compreensão do processo de aclimação (HARB et al., 2010). A aclimação auxilia na rápida resposta a um evento de estresse recorrente, como “marca de estresse” deixado pela pressão ambiental anterior (BRUCE et al., 2007).

Há evidências para a existência de “marca” ou “memória” de estresse ambiental. No entanto, os mecanismos e as consequências ainda não são bem investigados. A memória de estresse das plantas individuais pode auxiliar na estabilização das comunidades de plantas em situações frequentes de extremos climáticos e resultar no aumento da resiliência (WALTER et al., 2013). Existem mecanismos nas plantas que armazenam informações de exposição prévia que não são apenas cascatas de sinalização por eventos de estresse. Foi definido “marca de estresse” como uma modificação genética ou bioquímica que ocorre na planta após a exposição ao estresse anterior e que, conseqüentemente, possibilita à planta respostas mais rápidas aos eventos de estresses futuros (BRUCE et al., 2007; WALTER et al., 2011). Possíveis mecanismos básicos na memória de estresse ecológico encontrado nas plantas são, por exemplo, o acúmulo de proteínas para a diminuição do potencial osmótico, fatores de transcrição, modificações epigenéticas ou alterações morfológicas (WALTER et al., 2013).

A espécie utilizada para este estudo foi a *Copaifera langsdorffii* Desf. pertencente à família Fabaceae, subfamília Detarioideae (LPWG, 2017) e popularmente conhecida como copaíba ou pau-óleo. A espécie possui grande importância na diversidade vegetal, além de suas propriedades medicinais por meio do bálsamo ou óleo de copaíba (LORENZI, 2002). *Copaifera langsdorffii* é uma espécie arbórea, crescimento lento a moderado e com grande plasticidade fenotípica. Na Floresta Ombrófila Densa, na idade adulta, pode atingir 35 m de altura e 100 cm de diâmetro à altura do peito (DAP), e no Cerrado e na Caatinga, apresenta porte menor, variando de 1,80 a 10 m de altura (CARVALHO, 2003). É caracterizada como uma espécie semidecídua, pois perde parte das folhas durante a época seca diminuindo a perda de água para o ambiente (GOUVEIA; FELFILI, 1998). A chegada do período chuvoso em setembro pode ser um estímulo para o início do crescimento vegetativo quando ocorre a renovação das copas (MIRANDA, 1995). Outra característica marcante da espécie é a capacidade de alterar a alocação de biomassa entre parte aérea e subterrânea de acordo com o estresse hídrico e disponibilidade de luz, uma vez que a espécie pode ser encontrada em

ambientes de pouca e/ou muita luz. Durante a primeira estação seca há maior acúmulo de biomassa nas raízes. Em seguida, com a disponibilidade hídrica favorável, as plantas jovens apresentam translocação de recursos para as folhas, o que resulta em aumento da eficiência fotossintética (RONQUIM; PRADO; SOUZA, 2009). Outra importante característica fisiológica da espécie é a rápida reidratação e maior eficiência fotoquímica mesmo após restrição hídrica. Mostrando que esta espécie pode ser utilizada como modelo em estudos fisiológicos devido ao seu ajuste desenvolvido em resposta a diferentes regimes ambientais (RODRIGUES et al., in press).

A espécie apresenta alterações anatômicas nas folhas em relação às diferenças encontradas em solos, relacionando os fatores nutricionais e na capacidade de retenção de água, bem como nas diferentes temperaturas e intensidade luminosa (RODRIGUES; TEIXEIRA; MACHADO, 2011; MELO JUNIOR; BONA; CECCANTINI, 2012; RODRIGUES et al., 2014). A ampla distribuição geográfica de *C. langsdorffii* é um reflexo da plasticidade potencial exibida pela espécie em resposta aos diferentes regimes climáticos, produzindo diferenças fisiológicas, morfológicas e anatômicas intraespecíficas em suas populações. Portanto, *C. langsdorffii* é uma espécie chave para compreender a influência das alterações climáticas atuais sobre seu potencial adaptativo de ajuste ao ambiente de acordo com a exposição aos estresses hídricos de forma recorrente.

Visando identificar estratégias na aclimação de *Copaifera langsdorffii* Desf. ao déficit hídrico recorrente, este estudo tem como hipótese: as plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente apresentarão respostas mais rápidas de reidratação do que as plantas submetidas ao ciclo único de estresse. Plantas submetidas a exposição prévia de estresse terão melhor desempenho fisiológico pelas trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, sinais químicos de estresse ou mudanças estruturais mesmo em diferentes situações de luminosidade. Deste modo, os objetivos deste estudo serão: a) avaliar quais os mecanismos fisiológicos e estruturais que foram diferenciados ao longo da reidratação nas plantas de *C.*

langsdorffii submetidas ao estresse hídrico recorrente, comparado às plantas de evento único de estresse; b) testar se a diferença na intensidade luminosa favorece ou inibe a estratégia de aclimação da *C. langsdorffii* ao estresse hídrico recorrente alterando algum padrão nas respostas avaliadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUCE, T.J.A.; MATTHES, M.C.; NAPIER, J.A.; PICKETT, J.A. Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science*, v.173, p.603-608, 2007.
- CARNEIRO, I.C.S.; PEREIRA, E.G.; SOUZA, J.P. Combined effects of low light and water stress on *Jatropha curcas* L. promotes shoot growth and morphological adjustment. *Acta Botanica Brasilica*, v.29, p.467-472, 2015.
- CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v.1. 1039p. 2003.
- COSTA, A.C.; REZENDE-SILVA, S.L.; MEGGUER, C.A.; MOURA, L.M.F.; ROSA, M.; SILVA, A.A. The effect of irradiance and water restriction on photosynthesis in young jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa*) plants. *Photosynthetica*, v.53, p.118-127, 2015.
- FAVARETTO, V. F.; MARTINEZ, C. A.; SORIANI, H. H.; FURRIEL, R. P. M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. *Environmental and Experimental Botany*. v. 70, p. 20-28, 2011.
- FRANCO, A.C.; MATSUBARA, S.; ORTHEN, B. Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree Physiology*, v.27, p.717-725, 2007.

- GOUVEIA, G. P.; FELFILI, J. M. Fenologia de comunidades de cerrado e de mata de galeria no Brasil central. *Revista Árvore*, v.22, n.4, p. 443 – 450,1998.
- HARB, A.; KRISHNAN, A.; AMBAVARAM, M.M.R.; PEREIRA, A. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth. *Plant Physiology*, v.154, p.1254-1271, 2010.
- LARCHER, W. 2000. A Planta sob Estresse. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. p.341-478.
- LORENZI, H. 2002. Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Plantarum: Nova Odessa, São Paulo. 2ª Ed. 349p.
- LPWG - The Legume Phylogeny Working Group. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, v. 66, p. 44-77, 2017.
- MELO JUNIOR, J.C.F.; BONA, C.; CECCANTINI, G. Anatomia foliar de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae): interpretações ecológicas em diferentes condições edáficas de Cerrado. *Biotemas*, v.25, n.4, p. 29-36, 2012.
- MIRANDA, I.S. Fenologia do estrato arbóreo de uma comunidade de cerrado em Alter-do Chão, PA. *Revista Brasileira de Botânica*, v.18,n. 1, p.235 – 240, 1995.
- RODRIGUES, A.L.; LIMA, L.; SCHLEY, T.R.; ALMEIDA, L.F.R. Water deficit ensures the photochemical efficiency of *Copaifera langsdorffii* Desf. *Revista Árvore*, in press.
- RODRIGUES, T.M.; BUARQUE, P.F.S.M.; CONEGLIAN, A.G.; REIS, D.C. Light and temperature induce variations in the density and ultrastructure of the secretory spaces in the diesel-tree (*Copaifera langsdorffii* Desf.—Leguminosae). *Trees*, v.28, p.613-623, 2014.
- RODRIGUES, T.M.; TEIXEIRA, S.P.; MACHADO, S.R. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae—Caesalpinioideae). *Flora*, v. 206, p. 585–594, 2011.

- RONQUIM, C.C.; PRADO, C.H.B.A.; SOUZA, J.D. Growth, photosynthesis and leaf water potential in young plants of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpinaceae) under contrasting irradiances. *Brazilian Society of Plant Physiology*, v.21,n.3,p.197-208. 2009.
- VAZ, M.; PEREIRA, J.S.; GAZARINI, L.C.; DAVID, T.S.; DAVID, J.S.; RODRIGUES, A.; MAROCO, J.; CHAVES, M.M. Drought-induced photosynthetic inhibition and autumn recovery in two Mediterranean oak species (*Quercus ilex* and *Quercus suber*). *Tree Physiology*, v.30, p.946-956, 2010.
- WALTER, J.; JENTSCH, A.; BEIERKUHNLEIN, C.; KREYLING, J. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. *Environmental and Experimental Botany*, v.94, p.3– 8, 2013.
- WALTER, J.; NAGY, L.; HEIN, R.; RASCHER, U.; BEIERKUHNLEIN, C.; WILLNER, E.; JENTSCH, A. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environmental and Experimental Botany*, v.71, p.34–40, 2011.
- ZHU, H.; LI, X.; ZHAI, W.; LIU, Y.; GAO, Q.; LIU, J.; GAO, Q.; LIU, J.; REN, L.; CHEN, H.; ZHU, H. Effects of low light on photosynthetic properties, antioxidant enzyme activity, and anthocyanin accumulation in purple pak-choi (*Brassica campestris* ssp. *Chinensis* Makino). *PLoS ONE*, v.12, p. 1-17, 2017.

Conforme estabelecido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do IBB, UNESP, os resultados obtidos durante a execução deste Projeto de Doutorado foram reunidos em dois artigos científicos para publicação.

CAPÍTULO 1

Alterações morfológicas e anatômicas no limbo foliar de *Copaifera langsdorffii* sob estresse hídrico recorrente e diferentes condições de luminosidade

CAPÍTULO 2

Diferentes condições de luz modulam respostas ao estresse hídrico recorrente

CAPÍTULO 1

Alterações morfológicas e anatômicas no limbo foliar de *Copaifera langsdorffii* sob estresse hídrico recorrente e diferentes condições de luminosidade

Angélica Lino Rodrigues, Diana Pacheco Seixas, Tatiane Maria Rodrigues, Luiz Fernando Rolim de Almeida

Resumo: Existem marcas provenientes de estresses anteriores deixadas no metabolismo e na estrutura do vegetal. Essas marcas refletem em processos fisiológicos e estruturais que garantem maior tolerância aos novos ciclos de estresse. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi verificar se as marcas do estresse hídrico recorrente refletiram em características morfológicas e anatômicas que repercutem na melhor distribuição e sobrevivência de *Copaifera langsdorffii* Desf. em ambientes com seca frequente nas diversas condições luminosas. Para isso, grupos de plantas em casa de vegetação foram submetidos à deficiência hídrica pela interrupção total de irrigação por único ciclo de estresse hídrico (estresse único) e por três ciclos de estresse hídrico (estresse recorrente), ambos devidamente reidratados até que as taxas de condutância estomática se mantivessem constante. Como a espécie está presente tanto no interior ou nas bordas das vegetações, foram distribuídos os grupos em situação de maior e menor disponibilidade de luz. Foram encontrados em plantas de estresse recorrente ajustes morfológicos e anatômicos como marca dos estresses hídricos anteriores que facilitaram a captação de luz e o transporte de água. Sugerimos que as marcas de estresse deixadas pelas pressões ambientais anteriores podem estar relacionadas à ampla distribuição da espécie em locais com a sazonalidade marcante.

Palavras-chave: seca, transporte de água, captação de luz, aclimação, distribuição.

Morphological and anatomical changes in *Copaifera langsdorffii* leaf blade under recurrent water stress and different light conditions

Abstract: There are marks from previous stresses in metabolism and plant structure. These marks reflect in physiological and structural processes that ensure greater tolerance to new stress cycles. Therefore, the objective of this study was to verify if the marks of the recurrent water stress were reflected in morphological and anatomical characteristics that have repercussion in the better distribution and survival of *Copaifera langsdorffii* Desf. in environments with frequent droughts in various light conditions. For this, plants groups cultivated in greenhouse were submitted to water deficiency by total interruption of irrigation (single stress) and three water stress cycles (recurrent stress), both properly rehydrated until the stomatal conductance rates remained constant. As the species is present in the interior and vegetation edges, the groups were distributed in situations of maximum and minimum light availability. Morphological and anatomical adjustments were found in plants under recurrent stress as a mark of previous water stresses that facilitated the light capture and water transport. We suggest that the stress imprint left by the previous environmental pressures may be related to the wide species distribution in places with marked seasonality.

Keywords: acclimation, distribution, drought, light capture, water transport.

1. Introdução

As condições climáticas em ambientes naturais variaram temporariamente e espacialmente influenciando o estabelecimento e o desenvolvimento da vegetação podendo, em alguns casos, ocasionar estresse nos organismos (ROSSATTO et al., 2009). Estudos apontam que as plantas têm a capacidade de armazenar informações referentes aos estresses ambientais anteriores, o que é conhecido como memória ou marca de estresse (WALTER et al., 2011). Nesse sentido, “marca de estresse” é considerada uma modificação genética ou bioquímica que ocorre na planta após a exposição desta a algum estresse anterior, o que consequentemente gera respostas mais rápidas aos eventos de estresses futuros (BRUCE et al., 2007; WALTER et al., 2011). Possíveis mecanismos básicos na memória de estresse encontrados nas plantas são, por exemplo, o acúmulo de proteínas para a diminuição do potencial osmótico, fatores de transcrição, modificações epigenéticas ou até alterações morfológicas (WALTER et al., 2013). Segundo Valladares et al., (2000), uma nova abordagem sobre plasticidade fenotípica das plantas indica que algumas características vegetais podem apontar especialização sobre determinado ambiente, permitindo extensa colonização pelas espécies (MELO JUNIOR; BOEGER, 2016). Assim, alterações estruturais em resposta a fatores externos podem ser observadas em todos os órgãos da planta, mas principalmente nas folhas que representam o órgão com maior plasticidade fenotípica no corpo vegetal (DICKISON, 2000).

Muitos processos metabólicos das plantas são influenciados por distintos fatores ambientais. Como exemplo, a variação de luz, que fornece energia para a fotossíntese, tem efeitos imediatos no metabolismo, enquanto que a deficiência hídrica tem efeitos indiretos na condutância estomática e, consequentemente, na entrada de CO₂, alterando o balanço entre a fotossíntese e fotorrespiração (CHAVES et al., 2002; ZHANG et al., 2010). Alterações na luminosidade influenciam no crescimento e distribuição das espécies vegetais. As espécies

mais aclimatadas aos diferentes regimes de luz apresentam adaptações que otimizam a fotossíntese. Essas plantas são capazes de se ajustar ao habitat através de alterações morfológicas e fisiológicas, por exemplo, a mudança no tamanho das folhas ou na densidade estomática, os quais refletem diretamente nas trocas gasosas (DICKISON, 2000; WONG et al., 2012).

A ocorrência de espécies generalistas quanto a ambientes contrastantes de luz e água é importante para a colonização florestal. *Copaifera langsdorffii* Desf. apresenta grande tolerância à exposição ao sol, atuando como espécie pioneira, mesmo apresentando crescimento lento (PINHEIRO; MONTEIRO, 2006). Pertencente à família Fabaceae, subfamília Detarioideae (LPWG, 2017), esta espécie é popularmente conhecida como copaíba ou pau-óleo, além de propriedades medicinais por meio do bálsamo ou óleo de copaíba (LORENZI, 2002) produzido por canais e cavidades secretoras presentes no eixo vegetativo da planta (RODRIGUES; MACHADO, 2009; RODRIGUES; TEIXEIRA; MACHADO, 2011). Amplamente distribuída pelo Brasil, *C. langsdorffii* tem como característica a senescência parcial das folhas na época seca mantendo folhas ativas durante todo o ano (GOUVEIA; FELFILI, 1998). Segundo os mesmos autores, a perda das folhas na época seca resulta em trocas gasosas menos intensas e economia de água durante este período. O pico de renovação das copas de *C. langsdorffii* ocorre em sequência à perda das folhas, no final da época seca e início da úmida, o que pode ser relacionado com a precipitação. Para Miranda (1995), o período da seca, seguido das primeiras chuvas de setembro, parece ser um estímulo para o início do crescimento vegetativo.

Plantas que apresentam mecanismos de aclimatação às alterações ambientais e também ajustes na economia e melhora no uso da água de acordo com a luminosidade são importantes para estudos que interpretam o arranjo das plantas ao ambiente. No entanto, pesquisas que apresentam um único estímulo de estresse hídrico sem considerar a variação na disponibilidade da luz não referenciam realmente o que acontece no ambiente. Dessa forma, é

importante avaliar em diferentes intensidades luminosas a possível marca de um estresse recorrente que reflete a estabilização dos ecossistemas e comunidades inteiras em tempos de mudanças climáticas, principalmente quando relacionadas a um estresse hídrico.

O presente trabalho teve como hipótese que plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente, quando comparadas às plantas submetidas ao estresse hídrico uma só vez, apresentam ajustes morfológicos e anatômicos que facilitam o armazenamento de água em seus tecidos, e proporcionam o melhor aproveitamento de luz em ambientes sombreados.

2. Material e métodos

2.1. Material biológico: plantas jovens de *Copaifera langsdorffii* Desf. com aproximadamente 50 cm de altura foram obtidas a partir do viveiro do departamento de Ciência florestal, Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP *campus* Botucatu/SP, germinadas a partir de sementes coletadas na região. As plantas foram colocadas em vasos de aproximadamente 4L, em solo do tipo médio, caracterizado entre argiloso e arenoso. O solo foi devidamente preparado quanto à secagem, correção química do pH e adubação (75 mg N – uréia, 50 mg P – NaH₂PO₄, 75 mg K – KCl, por kg de solo).

2.2. Local do experimento: casa de vegetação do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da UNESP *campus* de Botucatu/SP. A casa de vegetação possui sistema controlado com umidade relativa do ar de 50 - 70%, temperatura de 25 - 29°C e Densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) até 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.3. Delineamento experimental: O experimento foi aplicado em duas intensidades luminosas: até DFFFA 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (tratamento com 100% de luz) e abaixo de DFFFA 300 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (tratamento com 30% de luz) que equivale aos valores coletados

em na borda e sub-bosque de ambientes naturais que contêm representantes da espécie. O ambiente referente a 30% de luz foi coberto com *sombrite*®. As intensidades luminosas de DFFFA foram verificadas com auxílio do medidor de radiação acoplado no fluorômetro WALZ. As duas condições de luz incluíram três diferentes tratamentos em relação à deficiência hídrica (Desenho experimental – Apêndice 1):

- **Controle (C)**, com irrigação constante por todo o experimento, com a reposição de água a cada dois dias até a capacidade de campo;
- **Estresse único (EU)**, plantas submetidas a um único evento de estresse hídrico, através da suspensão total de irrigação até a queda da condutância estomática (g_s) das plantas se aproximar a valores quase nulos e com posterior reidratação até a capacidade de campo; e
- **Estresse recorrente (ER)**, plantas expostas a situações de deficiência hídrica através da suspensão total de irrigação por três vezes recorrentes e posteriores reidratação de cada período de estresse. Cada período de restrição hídrica variou em aproximadamente 30 dias. A reidratação deste tratamento se deu pela adição de água nos vasos até níveis constantes de g_s e próximos ao grupo controle, então iniciar novamente ao período de suspensão de irrigação. Cada período de reidratação variou em aproximadamente 10 dias.

As medidas de monitoramento de g_s ($\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) foram efetuadas com o auxílio de um porômetro em estado de equilíbrio dinâmico Leaf Porometer (Decagon/EUA) às 10:00h.

De cada tratamento, foram amostrados quatro indivíduos ($n=4$) para análises morfológicas e anatômicas das folhas.

2.4. Análise morfológicas

Folhas do terceiro nó caulinas abaixo do ápice, contendo folíolos completamente expandidos que emergiram após a reidratação de cada grupo submetido à deficiência hídrica

foram coletadas para as medidas morfológicas. Foram mensuradas: comprimento da folha, comprimento da raque, comprimento e largura dos folíolos medianos.

2.5. Análises anatômicas

Microscopia de luz – campo claro: foram coletadas amostras da região mediana do limbo de folíolos intermediários voltados para o lado direito da folha. As amostras foram fixadas em FAA 50 (JOHANSEN, 1940), desidratadas em série etílica, incluídas em resina glicol-metacrilato e posteriormente seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo; as secções com 6µm de espessura foram coradas em Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'BRIEN et al., 1964) e montadas entre lâmina e lamínula com resina sintética Erv-mount. Os cortes foram analisados com auxílio do microscópio Olympus BX 41 equipado com uma câmera fotográfica digital.

Foram mensuradas a espessura do limbo, espessura da epiderme na face adaxial do limbo, espessura do mesofilo, espessura do parênquima paliçádico, número de camadas do parênquima paliçádico, número de camadas do parênquima lacunoso, densidade dos espaços secretores, área do lume dos espaços secretores e distância entre os feixes vasculares de 3ª ordem. Na região da nervura principal foram mensuradas: a área da nervura principal, espessura do anel de fibras nas faces adaxial e abaxial do limbo, área do xilema, densidade de elementos de vaso e área do lume dos elementos de vaso. As medições foram realizadas em secções transversais. Para análise da densidade estomática das folhas hipostomáticas, foram realizadas impressões em cola da face abaxial do limbo foliolar. A contagem dos estômatos foi realizada em uma área de 0,025 mm². As análises quantitativas foram realizadas ao microscópio de luz com auxílio do software CellB Olympus-Imaging for Life Science Microscopy no Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal (LaPAV) do Departamento de Botânica, IBB, UNESP.

Microscopia de luz - confocal: Amostras da porção mediana do limbo foliolar de material recém-coletado foram seccionadas à mão livre. Lâminas temporárias foram montadas com água e analisadas ao microscópio de fluorescência Axioskop 40 - Zeiss com sistema de imagens digital AxioVision 4.7.2, junto ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME), IBB, UNESP. Medidas espectrais da autofluorescência de lignina no xilema e no anel de fibras na nervura principal do limbo foliolar foram contabilizadas pelos pixels referentes à área dos quadrados de $5 \mu\text{m}^2$ em aumento de 40x no microscópio nas porções periféricas de cada região citada.

2.6. Análise dos dados

Após o teste de normalidade Shapiro-Wilk ($P < 0,05$) dos dados para verificar a interação entre os tratamentos submetidos ao estresse hídrico nas duas condições de luz, os resultados foram submetidos a ANOVA de dois fatores com medidas repetidas (tratamentos hídricos x luz), seguido do teste Tukey com um nível de significância de 5% (SigmaPlot versão 12.0). Quando a precisão do teste Tukey não indicou a diferença apontada pelo ANOVA de dois fatores, foi realizado teste Fisher (LSD).

Os índices de plasticidade (IP) que variam de 0 a 1 foram calculados através das médias das variáveis analisadas seguindo a metodologia de Valladares et al., (2000), por meio da diferença entre os valores mínimo e máximo das médias, divididos pelo valor máximo.

3. Resultados

As medidas morfológicas das folhas de *C. langsdorffii* sob as diferentes condições experimentais mostraram variações quanto ao comprimento dos folíolos. Folíolos com maior comprimento foram observados em plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente independente das condições de luminosidade (Tabela1).

Quanto aos aspectos anatômicos, plantas mantidas em condição de maior luminosidade apresentaram densidade estomática e espessura do mesofilo maior em comparação com plantas com 30% de luz (Tabela 1 e Figura 2). Apenas a espessura do parênquima paliçádico apresentou interação para os fatores estresse hídrico x luz. Plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente e à maior luminosidade apresentaram maior espessura do parênquima paliçádico; entretanto, esses valores foram similares aos obtidos para plantas do tratamento controle e plantas submetidas ao estresse único, ambos em 100% de luz (Figuras 1, 3 e Tabela 2). Plantas do tratamento controle mantidas sob maior luminosidade apresentaram maior espessura do parênquima paliçádico que plantas do grupo controle com 30% de luz. Correlação entre a espessura do parênquima paliçádico e a condutância estomática (g_s) medida após a reidratação foi observada (Figura 4); plantas dos diferentes tratamentos de estresse hídrico mantidas sob maior luminosidade apresentam maior g_s e maior espessura do parênquima paliçádico.

Com base nas características anatômicas da nervura central, plantas mantidas sob maior intensidade luminosa apresentaram maior área ocupada pelo xilema em comparação com plantas mantidas sob menor luminosidade (Tabela 3). Plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente apresentam elementos de vaso com maior área do lume em relação ao tratamento controle e evento único de estresse (Tabela 3). As outras variáveis, incluindo medidas realizadas no microscópio fluorescente confocal para quantificação de lignina no xilema e nas fibras perivasculares, não mostraram diferenças entre os tratamentos (Tabela 3).

Os maiores índices de plasticidade fenotípica foram encontrados na área total da nervura principal em plantas em 100% de luz, tanto no tratamento submetido ao estresse único quanto ao tratamento submetido à deficiência hídrica recorrente com índices de 0.93 em ambos os grupos (Tabela 4).

4. Discussão

De acordo com os dados obtidos neste trabalho, *C. langsdorffii* apresenta alterações morfológicas e anatômicas em suas folhas, quando exposta a diferentes condições de luz e estresse hídrico recorrente, apresentando marca dos estresses anteriores. Portanto, *C. langsdorffii* pode representar uma espécie chave para compreender a influência das alterações climáticas atuais sobre o potencial de ajuste ao ambiente de acordo com a exposição aos estresses hídricos de forma recorrente. Melo Junior, Bona e Ceccantini (2012) apontaram alterações anatômicas nas folhas de *C. langsdorffii* em relação aos tipos de solo em áreas de Cerrado com distintas características referentes aos fatores nutricionais e capacidade de retenção de água. Os dados encontrados indicaram que as variações estruturais no mesófilo dos indivíduos de *C. langsdorffii* foram provocadas também pelas distintas condições de exposição à luminosidade. Os autores ainda sugerem que a ampla distribuição geográfica de *C. langsdorffii* em áreas de Cerrado é um reflexo da plasticidade potencial exibida pela espécie em resposta aos diferentes regimes climáticos, produzindo diferenças morfológicas e anatômicas intraespecíficas em suas populações.

Em relação aos dados morfológicos avaliados no presente trabalho, o comprimento dos folíolos foi maior em plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente, uma marca de estresse em relação à frequência de restrição hídrica. A maior área foliar em espécies do Cerrado ou ambientes com restrição hídrica pode compensar a menor assimilação líquida de CO₂ por unidade de área foliar (HOFFMANN; FRANCO, 2003; MELO JUNIOR; BOEGER, 2016). Segundo Ronquim et al. (2009), *C. langsdorffii* apresenta capacidade de investir em biomassa da parte aérea ou subterrânea de acordo com o estresse hídrico e a disponibilidade de luz, o que auxilia na explicação da ampla distribuição da espécie no Cerrado. O déficit hídrico pode induzir as plantas a desenvolverem folhas com aspectos xeromórficos, os quais auxiliam na resistência destas à seca diminuindo a perda de água, refletindo a irradiação excessiva e conseqüentemente as cargas de calor e, assim diminuindo a fotoinibição que pode

ocorrer em períodos de falta d'água (DEMMING-ADAMS; ADAMS, 1992; CAO, 2000). Dentre as principais características xeromórficas observadas em folhas, merecem destaque a maior densidade estomática e o aumento na espessura do mesofilo e do parênquima paliçádico (MELO JUNIOR; BOEGER, 2016). Conforme observado neste estudo, em situação de exposição total à luz, conseqüentemente maior perda de água pelo aumento de temperatura e/ou transpiração, os indivíduos de *C. langsdorffii* exibiram aumento na densidade estomática, espessura do mesofilo e do parênquima paliçádico. O maior investimento em estômatos garante maior captura de CO₂ desde que as plantas possuam água nas raízes para poder aumentar o fluxo de água do *continuum* solo-planta-atmosfera (CHAVES et al., 2003). Nesse estudo, a maior densidade estomática resultou na máxima condutância estomática em plantas de *C. langsdorffii* na condição luminosa total disponibilidade; esse resultado apresentou correlação com a maior espessura do parênquima paliçádico. O parênquima paliçádico tem papel importante em plantas expostas à luz. Quando em ambientes com maior luminosidade o parênquima paliçádico é mais desenvolvido, pois o formato colunar das células possibilita o maior aproveitamento dos feixes de luz que incidem diretamente no limbo, bem como facilita sua distribuição uniforme para os cloroplastos no interior das células otimizando o início da atividade fotossintética (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Plantas submetidas à deficiência hídrica recorrente apresentaram impressão dos estresses anteriores aumentando a área do lume dos elementos de vaso em relação às plantas submetidas ao evento único de estresse, independente da condição de luz. Segundo Jacobsen et al. (2005) plantas submetidas ao estresse hídrico tendem a diminuir o calibre dos elementos de vaso do xilema para amenizar possíveis cavitações como resultado da deficiência hídrica. Uma vez que plantas de *C. langsdorffii* apresentaram “marca” dos estresses anteriores, nós podemos sugerir que houve um investimento na formação de elementos de vaso com maior calibre, o que proporcionaria a otimização do fluxo de água quando reidratadas. Sob condição de estresse hídrico recorrente, os indivíduos de *C. langsdorffii* apresentaram outros

mecanismos de economia de água que não foram comprometidos pela maior área do lume dos elementos de vaso, como por exemplo, a diminuição da abertura estomática. No entanto, Jacobsen et al., (2005) apontam que a resistência à cavitação dos vasos pode ser aumentada pela diminuição no diâmetro do lume do vaso que pode ser resultante do aumento na espessura da parede; apesar disso, em *C. langsdorffii* parece não ter ocorrido aumento da espessura das paredes dos elementos de vaso, uma vez que não registamos alterações nas medidas deste parâmetro.

As respostas morfológicas e anatômicas registradas para folhas de *C. langsdorffii* fornecem informações sobre a plasticidade fenotípica dessa espécie quando em estresse recorrente e em diferentes condições de luz. O índice de plasticidade fenotípica é importante para apontar especialização sobre determinado ambiente, ou seja, quanto maior a plasticidade, maior a aclimatação em ambientes favoráveis, e quanto menor a plasticidade, menor a especialização da planta em ambientes menos favoráveis (VALLADARES et al., 2000). Dentre as variáveis aqui analisadas, o maior índice de plasticidade fenotípica foi registrado para a área total da nervura principal em plantas submetidas ao estresse hídrico, independentemente se em evento único ou recorrente, em condições máxima de luminosidade, quando comparados ao controle. Ou seja, a luz parece ser o fator abiótico que se sobressai à deficiência hídrica recorrente nas variáveis avaliadas quanto ao índice de plasticidade fenotípica. Esse fato pode estar relacionado às diferenças morfoanatômicas entre folhas de sol e sombra observadas num mesmo indivíduo (NOBEL et al., 1975). Por outro lado, situações onde as características avaliadas não indicam maiores índices de plasticidade não implicam na ausência de ajustes da espécie às condições ambientais. As diferentes estratégias utilizadas pela espécie podem ser apontadas através de outras avaliações, como bioquímicas e fisiológicas discutidas no capítulo a seguir.

Portanto, concluímos que plantas de *C. langsdorffii* submetidas ao estresse hídrico recorrente exibiram ajustes morfológicos e anatômicos como marca dos estresses hídricos

anteriores que facilitaram a captação de luz e o transporte de água. Os dados deste estudo reforçam a discussão inicial sobre a capacidade de *C. langsdorffii* de se aclimatar em locais com diferentes condições hídricas e de luminosidade contrastante. Sugerimos que as marcas de estresse deixadas pelas pressões ambientais anteriores podem estar relacionadas à ampla distribuição da espécie em locais com a sazonalidade marcante.

5. Referências bibliográficas

- BRUCE, T.J.A.; MATTHES, M.C.; NAPIER, J.A.; PICKETT, J.A. Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science*, v.173, p.603-608, 2007.
- CAO, K-F. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Canadian Journal of Botany*, v. 78, p. 1245-1253, 2000
- CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.P. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, v. 30, p.239-264. 2003.
- 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.
- DEMMING-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 43, p. 599-626, 1992.
- DICKISON, W.C. Integrative plant anatomy. San Diego: Harcourt Academic Press, 533 p. 2000
- GOUVEIA, G. P.; FELFILI, J. M. Fenologia de comunidades de cerrado e de mata de galeria no Brasil central. *Revista Árvore*, v.22, n.4, p. 443 – 450, 1998.

- HOFFMANN, W.A.; FRANCO, A.C. Comparative growth analysis of tropical forest and savanna woody plants using phylogenetically independent contrasts. *Journal of Ecology*, v. 91, p. 475-484, 2003.
- JACOBSEN, A.L.; EWERS, F.W.; PRATT, R.B.; PADDOCK, W.A.; DAVIS, S.D. Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology*, v. 139, p. 546-556, 2005.
- JOHANSEN, D. A. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw Hill, New York.
- LORENZI, H. 2002. Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Plantarum: Nova Odessa, São Paulo. 2ª Ed. 349p
- LPWG - The Legume Phylogeny Working Group. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, v. 66, p. 44-77, 2017.
- MELO JUNIOR, J.C.F.; BONA, C.; CECCANTINI, G. Anatomia foliar de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae): interpretações ecológicas em diferentes condições edáficas de Cerrado. *Biotemas*, v.25, n.4, p. 29-36, 2012.
- MELO JUNIOR, J.C.F.; BOEGER, M.R.T. Leaf traits and plastic potential of plant species in a light-edaphic gradient from Restinga in Southern Brazil. *Acta Biológica Colombiana*, v.21, p. 51-62, 2016.
- MIRANDA, I.S. Fenologia do estrato arbóreo de uma comunidade de cerrado em Alter-do Chão, PA. *Revista Brasileira de Botânica*, v.18,n. 1, p.235 – 240, 1995.
- NOBEL, P.S.; ZARAGOZA, L.J. SMITH, W.K. Relation between mesophyll surface area, photosynthetic rate, and illumination level during development for leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel. *Plant Physiology*, v. 55, p.1067-1070, 1975.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma*, v.59, p. 368-373, 1964.

- PINHEIRO, M.H.O.; MONTEIRO, R. Contribution of forest species to the floristic composition of a forested savanna in southeastern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 49, p. 763-774, 2006.
- RODRIGUES, T.M.; MACHADO, S.R. Developmental and structural features of secretory canals in root and shoot wood of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae–Caesalpinioideae). *Tress*, v.23. p. 1013–1018, 2009.
- RODRIGUES, T.M.; TEIXEIRA, S.P.; MACHADO, S.R. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae–Caesalpinioideae). *Flora*, v. 206, p. 585–594, 2011.
- RONQUIM, C.C.; PRADO, C.H.B.A.; SOUZA, J.D. Growth, photosynthesis and leaf water potential in young plants of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpiniaceae) under contrasting irradiances. *Brazilian Society of Plant Physiology*, v.21,n.3,p.197-208. 2009.
- ROSSATTO, D.R.; HOFFMANN, W.A.; FRANCO, A.C. Características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central. *Acta Botanica Brasílica*, v. 23, p. 499-508, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal 5.ed. Artimed, Porto Alegre. 820p. 2013.
- VALLADARES, F.; WRIGHT, J.; LASSO, E.; KITAJIMA, K.; PEARCY, R. W. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology*, v. 81, n. 7,p. 1925-1936, 2000.
- WALTER, J.; JENTSCH, A.; BEIERKUHNLEIN, C.; KREYLING, J. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. *Environmental and Experimental Botany*, v.94, p.3– 8, 2013.
- WALTER, J.; NAGY, L.; HEIN, R.; RASCHER, U.; BEIERKUHNLEIN, C.; WILLNER, E.; JENTSCH, A. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environmental and Experimental Botany*, v.71, p.34–40, 2011.

WONG, S-L.; CHEN, C-W.; HUANG, H-W.; WENG, J-H. Using combined measurements for comparison of light induction of stomatal conductance, electron transport rate and CO₂ fixation in woody and fern species adapted to different light regimes. *Tree physiology*, v.32, n. 5, p. 535-44, 2012.

ZHANG, Y.H.; CHEN, L.J.; HE, J.L.; QIAN, L.S.; WU, L.Q.; WANG, R.F. Characteristics of chlorophyll fluorescence and antioxidative system in super-hybrid rice and its parental cultivars under chilling stress. *Biologia Plantarum*. v.54, n.1, p.164-168.2010.

Tabela 1. Dados do tamanho foliar (cm) de plantas de *Copaifera langsdorffii* submetidas a diferentes condições hídricas e luminosidade ($n=4$).

			Comprimento da folha	Comprimento da raque	Largura dos folíolos medianos	Comprimento dos folíolos medianos direitos	Largura dos folíolos medianos direitos
Tratamentos hídricos	C		8.91	5.06	7.75	4.43 b	1.98
	EU		9.53	5.43	7.43	4.54 b	2.08
	ER		10.96	5.93	9.20	5.50 a	2.49
Luz	100%		9.92	5.45	7.57	4.85	2.26
	30%		9.68	5.49	8.68	4.79	2.10
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	9.20	4.98	7.20	4.48	2.26
		EU	9.98	5.53	7.03	4.80	2.10
		ER	10.58	5.85	8.48	5.28	2.17
Luz	30%	C	8.63	5.15	8.30	4.38	2.10
		EU	9.08	5.33	7.83	4.28	2.53
		ER	11.35	6.00	9.93	5.73	1.80
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
		L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente. Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T × L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Fisher (LSD) com nível de significância de 5% ($P < 0,05$) para comparar se houve interação. *, ** e *** indica diferença significativa onde $P < 0,05$, $P < 0,01$ ou $P < 0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras minúsculas indicam diferença entre os tratamentos hídricos.

Tabela 2. Aspectos anatômicos do limbo foliar de plantas de *Copaifera langsdorffii* submetidas a diferentes condições hídricas e luminosidade ($n=4$)

		Densidade estomática (n°/mm ²)	Espessura do limbo (µm)	Espessura da epiderme adaxial (µm)	Espessura do mesofilo (µm)	Espessura do parênquima paliçádico (µm)	Número de camadas do parênquima paliçádico	Número de camadas do parênquima lacunoso	Densidade dos ES	Área do lume dos ES (µm ²)	Distância entre feixes vasculares de 3ª ordem (µm)	
Tratamentos hídricos	C	2020	66.55	8.40	90.80	44.15	1	3	2.38	2038	685.2	
	EU	2110	55.49	8.23	89.28	43.08	1	3	2.88	2556	572.5	
	ER	2400	48.28	8.73	92.29	45.89	1	3	2.75	3401	550.9	
Luz	100%	2520 A	46.01	8.70	98.00 A	50.36	1	3	2.67	2830	563.7	
	30%	1830 B	67.54	8.21	83.57 B	38.38	1	3	2.67	2500	642.1	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	2080	50.24	8.60	103.31	54.31 Aa	1	3	2.25	2447	642.7
		EU	2450	47.95	8.20	90.76	44.72 Ab	1	3	3.00	2098	543.1
		ER	3030	39.85	9.29	99.94	52.07 Aab	1	3	2.75	3945	505.1
Luz	30%	C	1960	82.86	8.20	78.30	33.99 Ba	1	3	2.50	1630	727.7
		EU	1770	63.03	8.27	87.80	41.45 Aa	1	3	2.75	3014	601.9
		ER	1770	56.72	8.17	84.63	39.71 Ba	1	3	2.75	2857	596.7
Significância	P	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
		L	*	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

ES: espaços secretores. C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente. Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T × L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação. *, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferenças entre tratamentos hídricos.

Tabela 3. Aspectos anatômicos da nervura principal foliar de plantas de *Copaifera langsdorffii* submetidas a diferentes condições hídricas e luminosidade ($n=4$)

		Área total da nervura principal (μm^2)	Espessura do anel de fibras (face adaxial) (μm)	Espessura do anel de fibras abaxial (μm)	Espectrometria da autofluorescência da lignina no anel de fibras (face abaxial) (Pixels)	Área total do xilema (μm^2)	Densidade de elementos de vaso	Área do lume dos elementos de vaso (μm^2)	Espectrometria da autofluorescência da lignina no xilema (Pixels)	
Tratamentos hídricos	C	74570	22.15	42.13	77.52	14536	5.63	101.11 ab	66.55	
	EU	73353	27.68	44.31	57.70	12926	6.88	75.35 b	55.49	
	ER	79386	31.29	44.77	48.88	15713	6.25	116.72 a	48.28	
Luz	100%	81770	29.50	44.48	51.68	15377 A	5.92	101.07	46.01	
	30%	69773	24.58	42.99	71.05	13406 B	6.58	94.38	67.54	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	78970	24.09	41.24	60.76	15955	5.00	109.30	50.24
		EU	82653	31.65	47.37	53.36	14612	7.00	85.93	47.95
		ER	83682	32.77	44.82	40.92	15563	5.75	107.98	39.85
Luz	30%	C	70177	20.21	43.03	94.28	13116	6.25	92.91	82.86
		EU	64053	23.71	41.24	62.04	11240	6.75	64.77	63.03
		ER	75090	29.81	44.72	56.84	15862	6.75	125.46	56.72
Significância	P	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
		L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente. Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação ($T \times L$) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P < 0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P < 0,05$, $P < 0,01$ ou $P < 0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo; n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 4. Índice de plasticidade fenotípica das variáveis morfológicas e anatômicas em plantas de *Copaifera langsdorffii* (n=4) submetidas ao estresse hídrico recorrente e único em relação ao tratamento controle em condição de claro e sombra.

	100% luz		30% luz	
	Único	Recorrente	Único	Recorrente
Comprimento da folha	0.08	0.13	0.05	0.24
Comprimento da raque	0.10	0.15	0.03	0.14
Largura entre folíolos medianos	0.02	0.15	0.06	0.16
Comprimento do folíolo mediano	0.07	0.15	0.02	0.24
Largura do folíolo mediano	0.03	0.14	0.12	0.27
Densidade estomática	0.15	0.31	0.10	0.10
Espessura do limbo	0.11	0.02	0.08	0.06
Espessura da epiderme (face adaxial)	0.05	0.07	0.01	0.00
Espessura do mesofilo	0.12	0.03	0.11	0.07
Espessura do parênquima paliçádico	0.18	0.04	0.18	0.14
Número de camadas do parênquima paliçádico	0.00	0.00	0.00	0.00
Número de camadas do parênquima lacunoso	0.00	0.00	0.00	0.00
Densidade dos ES	0.25	0.18	0.09	0.09
Área do lume dos ES	0.14	0.38	0.46	0.43
Distância entre feixes vasculares de 3ª ordem	0.16	0.21	0.17	0.18
Área total da nervura principal	0.93	0.93	0.09	0.07
Espessura do anel de fibras (face adaxial)	0.24	0.26	0.15	0.32
Espessura do anel de fibras (face abaxial)	0.13	0.08	0.04	0.04
Espectrometria de autofluorescência da lignina no anel de fibras da nervura principal (face abaxial)	0.12	0.33	0.34	0.40
Área total do xilema na nervura principal	0.08	0.02	0.14	0.17
Densidade de elementos de vaso na nervura principal	0.29	0.13	0.07	0.07
Área do lume dos elementos de vaso na nervura principal	0.21	0.01	0.30	0.26
Espectrometria de autofluorescência da lignina no xilema na nervura principal	0.05	0.21	0.24	0.32

Índices calculados através das médias das variáveis analisadas seguindo a metodologia de Valladares et al. (2000), através da diferença entre os valores mínimo e máximo das médias, divididos pelo valor máximo.

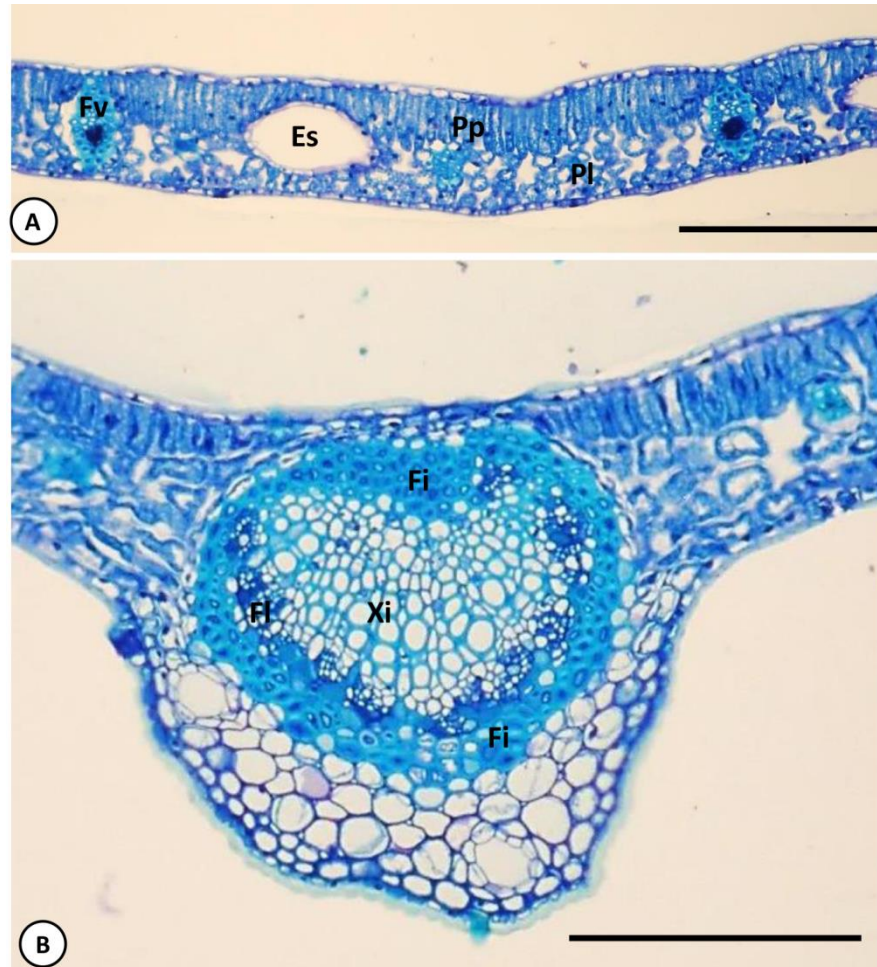


Figura 1 A-B. Fotomicrografias de secções transversais do limbo foliolar de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob tratamento hídrico controle em 100% de luz. **A**, Região mediana do limbo foliolar mostrando epiderme unisseriada, mesofilo constituído por parênquima paliçádico (Pp) e parênquima lacunoso (Pl), além de feixes vasculares (Fv) e espaços secretores (Es) imersos no mesofilo. **B**, Região da nervura principal. Observar fibras (Fi) perivasculares com paredes lignificadas, floema (Fl) e xilema (Xi). (Barras: 100 µm).

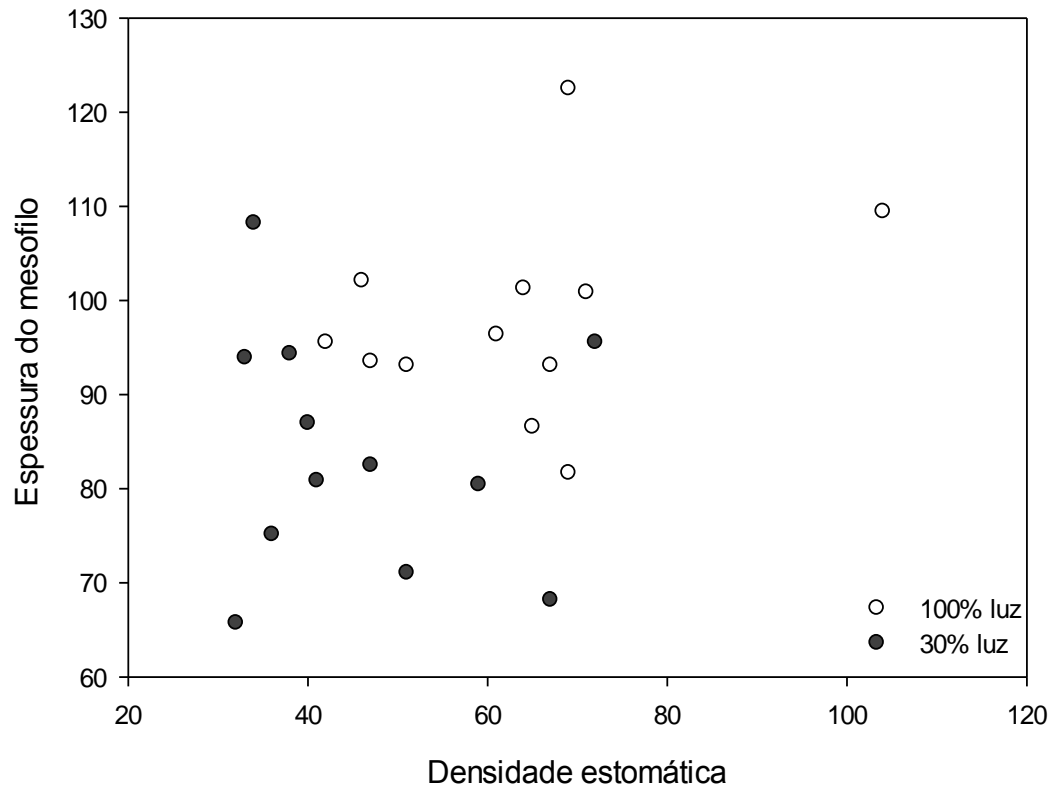


Figura 2 – Correlação entre espessura do mesofilo (μm) e densidade estomática em folhas de plantas de *Copaifera langsdorffii* em 100% e 30% de luz nos diferentes tratamentos.

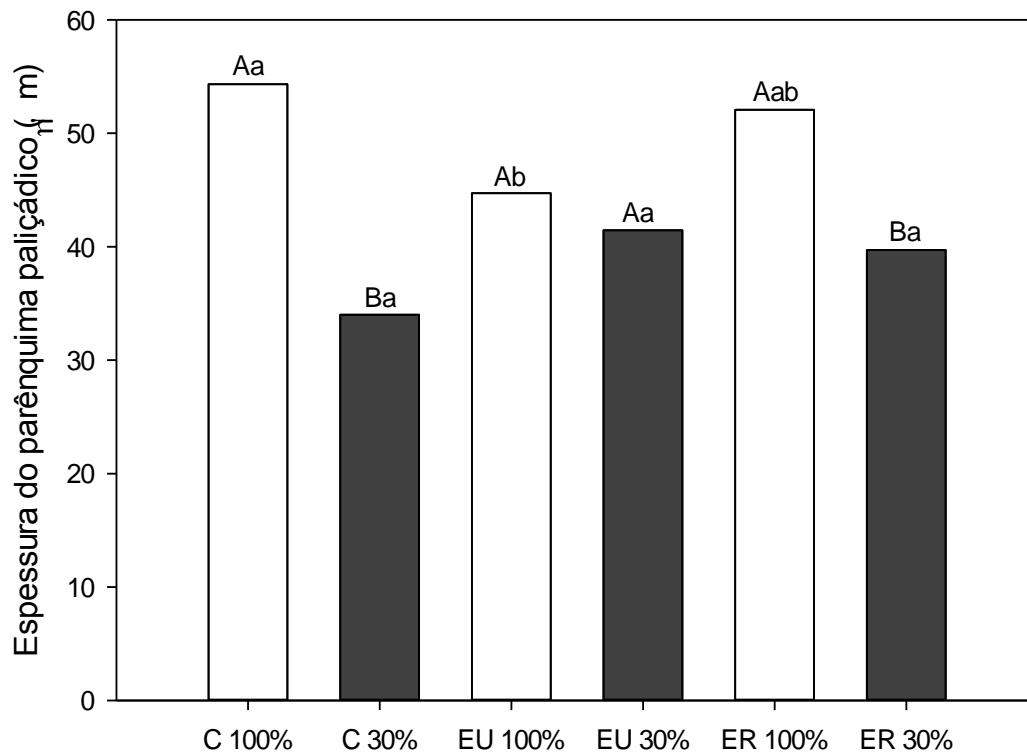


Figura 3 – Espessura do parênquima paliçádico (μm) representando a interação ($P < 0,05$) entre os fatores tratamento x luz (ANOVA dois fatores) e posterior teste Tukey (%5). Dados referentes às médias ($n=4$). **C**: controle; **EU**: estresse único; **ER**: estresse hídrico recorrente; nas situações de **100%** e **30% de luz**. Letras maiúsculas indicam diferenças entre luz. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

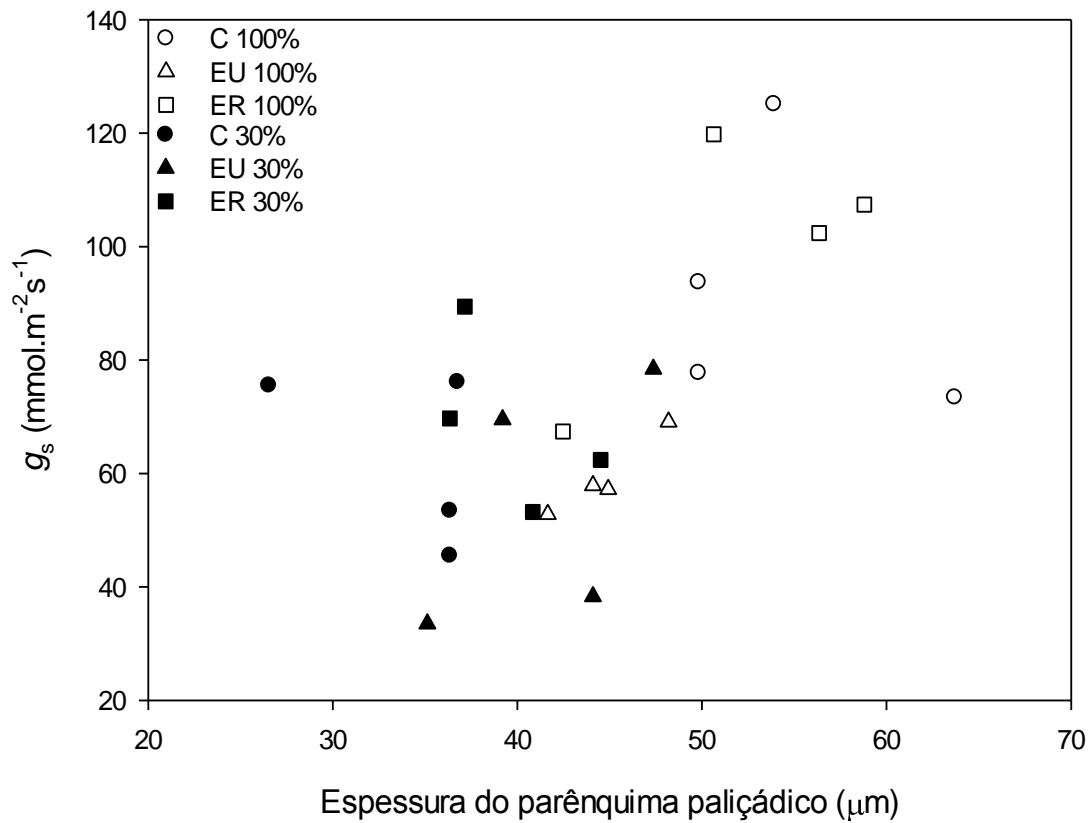


Figura 4 – Correlação entre a condutância estomática (g_s – mmol.m⁻².s⁻¹) após a reidratação em relação à espessura do parênquima paliçádico (μm). Símbolos brancos representam os tratamentos no claro. Símbolos pretos representam os tratamentos na sombra. **C**: Controle; **EU**: Estresse único; **ER**: Estresse recorrente. Controle 100% de luz r^2 0.081; Estresse único 100% de luz r^2 0.935; Estresse recorrente 100% de luz r^2 0.498; Controle 30% de luz r^2 0.270; Estresse único 30% de luz r^2 0.299; Estresse único 30% de luz r^2 0.360.

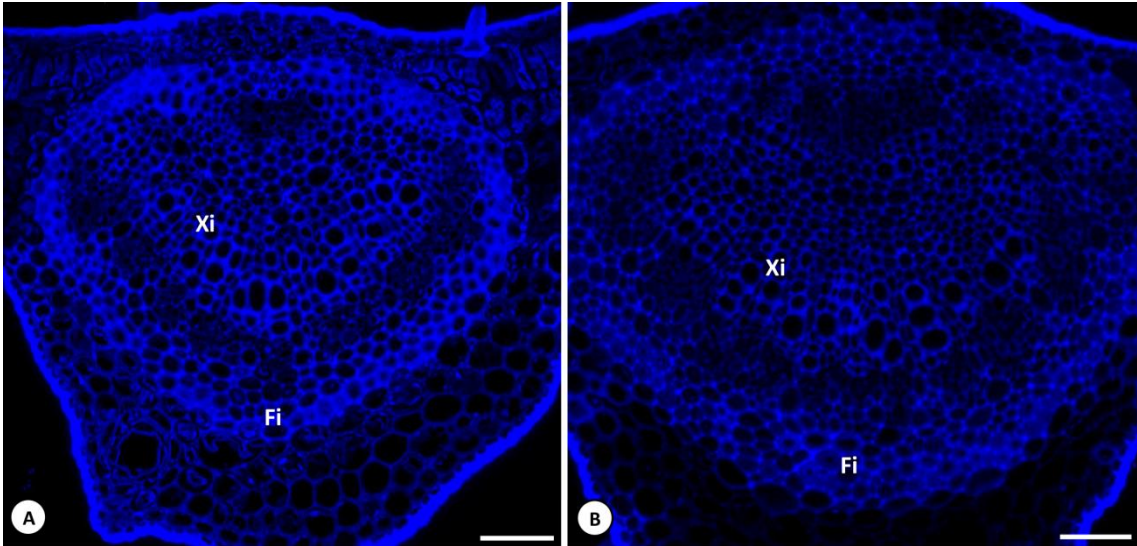


Figura 5 A–B. Fotomicrografias de secções transversais da região da nervura principal do limbo foliolar de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob fluorescência **A**, Tratamento hídrico controle em 30% de luz. **B**, Tratamento de estresse hídrico recorrente em 100% de luz. (**Fi**) fibras e (**Xi**) xilema. (Barras: 50 μm).

CAPÍTULO 2

Diferentes condições de luz modulam respostas ao estresse hídrico recorrente em *Copaifera langsdorffii*

Angélica Lino Rodrigues e Luiz Fernando Rolim de Almeida

Resumo: Estudos para avaliar as respostas ecofisiológicas relacionando o déficit hídrico em diferentes regimes de luz podem auxiliar na compreensão dos mecanismos de superação à época seca que aumentou com as mudanças climáticas. Existem mudanças fisiológicas, bioquímicas e moleculares nas plantas que armazenam informações de exposição prévia de estresse. *Copaifera langsdorffii* Desf. apresenta folhas com mecanismos de ajustes fisiológicos e estruturais que permitem a espécie superar o déficit hídrico sazonal sob diferentes intensidades de radiação. Portanto, visando identificar mecanismos de aclimação de *C. langsdorffii*, o objetivo foi avaliar se o estresse hídrico recorrente, e a intensidade luminosa interferem nas estratégias fisiológicas e bioquímicas da espécie ao longo da reidratação comparado com plantas submetidas ao estresse único. Os resultados indicaram manutenção do estado hídrico foliar e recuperação mais rápida da assimilação de carbono em plantas submetidas ao estresse recorrente em 100% de disponibilidade de luz, porém não houve total recuperação do estresse anterior uma vez que foram exibidos danos fotoquímicos. Verificamos que a condição luminosa interfere na aclimação e distribuição da espécie, mesmo passando por períodos de restrição hídrica. Esses resultados irão auxiliar na compreensão da ampla distribuição da espécie em ambientes de diferentes situações hídricas e luminosas. Devido às marcas deixadas pelos estresses anteriores, plantas na condição máxima de luz terão melhores respostas fisiológicas que irão resultar em processo de aclimação mais eficiente da espécie.

Palavras-chave: *Copaifera langsdorffii*, reidratação, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, enzimas antioxidantes.

Different light conditions modulate responses to recurrent water stress in *Copaifera langsdorffii*

Abstract: Methods to evaluate the ecophysiological responses relating to water deficit in different light pattern can help in understanding the mechanisms of overcoming to dry season that have increased with the climatic changes. There are physiological, biochemical and molecular changes in plants that store information from previous stress exposure. *Copaifera langsdorffii* Desf. presents leaves with physiological and morphological adjustments mechanisms, allowing the species to overcome seasonal water deficit in different intensity of radiation. Therefore, to identify adaptive mechanisms of *C. langsdorffii*, the objective was to evaluate whether recurrent drought stress, as well as the light intensity interfere with physiological and biochemical strategies of the species along the rehydration, compared to plants subjected to single stress. The results indicated maintenance of leaf water status and faster recovery of carbon assimilation in plants submitted to recurrent stress in greater light availability, but did not guarantee total recovery of the previous stress since photochemical damages were exhibited. We verified that the light condition interferes in the acclimatization and distribution of the species, even going through periods of water restriction. These results will aid in understanding the wide distribution in environments of different water and light conditions. Due to the marks left by previous stresses, plants in the maximum luminosity condition will have better physiological responses that will result in a more efficient adaptive process of the species.

Keywords: *Copaifera langsdorffii*, drought, fluorescence, gas exchange, rehydration.

1. Introdução

Quando avaliamos os efeitos da deficiência hídrica no metabolismo vegetal, não levamos em consideração as repetidas vezes que a planta é submetida à falta d'água no ambiente, condição que estimula mecanismos para tolerar o período de estiagem e para a rápida recuperação pós-seca. As respostas ecofisiológicas de plantas submetidas à seca de forma recorrente, em condições experimentais simulando as reais condições que ocorrem no ambiente, fornecem subsídios para compreensão do processo de aclimatação (HARB et al., 2010). A aclimatação auxilia na rápida resposta a um evento de estresse recorrente, como “marca de estresse” deixado pela pressão ambiental anterior (BRUCE et al., 2007).

A seca é um fator ambiental importante que afeta o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Os efeitos da seca aumentam com as alterações climáticas e a crescente escassez de água (ROGORA et al., 2018). Adicionado à falta d'água, as alterações na luminosidade influenciam no crescimento e distribuição das espécies vegetais. As espécies mais adaptadas aos diferentes regimes de luz apresentam diferencial nas características fotossintéticas (WONG et al., 2012). Assim, a compreensão na dinâmica das respostas ecofisiológicas aos diferentes regimes de luz, associadas a outros fatores ambientais limitantes como o déficit hídrico é importante para explicar a distribuição ecológica e sucessão de espécies.

As plantas são organismos sésseis e incapazes de mudar de ambiente conforme surgir alguma pressão ambiental, portanto, desenvolveram mecanismos químicos e anatômicos para lidar com a variabilidade da luz solar. Sem a capacidade de evitar às mudanças temporais da luz, a energia solar não utilizada destruiria o aparato fotossintético e potencialmente eliminaria a folha inteira (LIAO et al., 2017). Deste modo, conhecer a sensibilidade das plantas à fotoinibição e a capacidade de se aclimatar a diferentes condições de luz é importante quando os vegetais competem entre si por recursos espaciais e limitados (FAVARETTO et al., 2011).

A seca moderada tende a reduzir primeiramente a condutância estomática antes de reduzir a taxa fotossintética, assim, é possível que a planta assimile mais moléculas de CO₂ para cada unidade de água transpirada, significando mais eficiência na utilização da água disponível (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009). No entanto o estresse hídrico severo pode resultar na queda da fotossíntese, perturbação do metabolismo, e finalmente levar a morte do vegetal (SHAO et al., 2008). A redução na taxa fotossintética associada à diminuição da abertura dos estômatos devido às mudanças no potencial hídrico foliar, é observada normalmente nas plantas que crescem em condições de estiagem e alto déficit pressão de vapor (LIN et al., 2018). Outro dano frequente nos vegetais em condições de seca é que mesmo com a menor assimilação de CO₂, o transporte de elétrons continua operando no processo fotossintético levando ao aumento da formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (KUDOYAROVA; KHOLODOVA; VESELOV, 2013). Conseqüentemente, o aumento na concentração de ERO em função do estresse atua também como sinal de alarme em resposta a aclimação/defesa da planta (CARVALHO, 2008).

Para aliviar os danos oxidativos causados pelas ERO, as plantas protegem suas células com o auxílio das enzimas antioxidantes (ZHANG et al., 2010; SANTOS et al., 2013). Com relação a este fato, a estabilidade da membrana celular também tem sido amplamente utilizada para estudar os efeitos do estresse nas plantas, como por exemplo, o acúmulo de malondialdeído (MDA), um produto citotóxico da peroxidação lipídica que funciona como indicador da produção de radicais livres e consequentes danos nos tecidos do vegetal (SOFO et al., 2004).

A espécie utilizada para este estudo foi a *Copaifera langsdorffii* Desf., uma espécie semidecídua amplamente distribuída (PEDRONI et al., 2002). A perda das folhas na época seca resulta em trocas gasosas menos intensas e economia de água durante este período com renovação das copas em sequência, no final da época seca e início da úmida (GOUVEIA; FELFILI, 1998). A espécie apresenta alta capacidade de adaptação fisiológica, exibindo a

capacidade de alterar a alocação de biomassa entre parte aérea e subterrânea de acordo com o estresse hídrico e disponibilidade de luz, uma vez que a espécie pode ser encontrada em ambientes de pouca e/ou muita luz (RONQUIM; PRADO; SOUZA, 2009). Também se destaca na rápida reidratação e maior eficiência fotoquímica mesmo após restrição hídrica. Mostrando que esta espécie pode ser utilizada como modelo em estudos fisiológicos devido aos ajustes desenvolvidos em resposta a diferentes regimes ambientais (RODRIGUES et al., in press).

Em vista disso, mecanismos de economia e melhora no uso da água de acordo com a luminosidade local auxiliam do estabelecimento, desenvolvimento e ampla distribuição dos vegetais em ambientes de seca intensa e frequente. Deste modo, a marca dos eventos recorrentes de estresse precedentes que acontecem no ambiente induz a aclimação das plantas à ampla diversidade de locais com diferença na condição luminosa. Por tanto, este estudo tem como hipótese que plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente apresentaram respostas fisiológicas mais rápidas quando reidratadas, em comparação às plantas submetidas a evento único de estresse hídrico, ajustando-se de acordo com luminosidade estabelecida.

2. Material e métodos

2.1. Material biológico: plantas jovens de *Copaifera langsdorffii* Desf. com aproximadamente 50 cm de altura foram obtidas a partir do viveiro do Departamento de Ciência Florestal da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP *campus* Botucatu/SP, germinadas a partir de sementes coletadas na região. As plantas foram colocadas em vasos de aproximadamente 4L, em solo do tipo médio, caracterizado entre argiloso e arenoso. O solo foi devidamente preparado quanto à secagem, correção química do pH e adubado (75 mg N – uréia, 50 mg P – NaH₂PO₄, 75 mg K – KCl, por kg de solo).

2.2. Local do experimento: casa de vegetação do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da UNESP campus de Botucatu/SP. A casa de vegetação possui sistema controlado com umidade relativa do ar de 50 - 70%, temperatura de 25 - 29°C e Densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) até 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.3. Delineamento experimental: O experimento foi aplicado em duas intensidades luminosas: acima de DFFFA 1000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (tratamento com 100% de luz) e abaixo de DFFFA 300 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (tratamento com 30% de luz). O ambiente referente a 30% de luz foi coberto com *sombrite*. As duas condições luminosa incluíram 3 diferentes tratamentos em relação à deficiência hídrica (Desenho experimental – Apêndice 1):

- **Controle (C)**, com irrigação constante por todo o experimento, com a reposição de água a cada dois dias até a capacidade de campo;
- **Estresse único (EU)**, plantas submetidas a um único evento de estresse hídrico, através da suspensão total de irrigação até a queda da condutância estomática (g_s) das plantas se aproximarem a valores quase nulos e com posterior reidratação até a capacidade máxima de retenção de água nos vasos; e
- **Estresse recorrente (ER)**, plantas expostas a situações de deficiência hídrica através da suspensão total de irrigação por três vezes recorrentes e posteriores reidratação de cada período de estresse. Cada período de restrição hídrica variou em aproximadamente 30 dias. A reidratação deste tratamento se deu pela recuperação de níveis constantes de g_s e próximos ao grupo controle, então dar início novamente ao período de suspensão de irrigação. Cada período de reidratação variou em aproximadamente 10 dias. Os tratamentos foram dispostos aleatoriamente pela casa de vegetação e foram utilizadas 4 plantas por tratamento para cada análise.

2.4. Avaliação final de reidratação: todos os tratamentos submetidos ao período de suspensão de irrigação (único e recorrente) foram avaliados desde o momento da reidratação até 96 h depois, concomitantemente ao tratamento controle. A primeira análise foi realizada antes da reidratação e foi identificada como 0 (zero) hora da avaliação de reidratação. A reidratação teve início logo após a primeira avaliação às 9:00h. As avaliações seguintes foram realizadas em 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, 48 e 96 horas após a reidratação nas variáveis relacionadas às trocas gasosas, relações hídricas e fluorescência da clorofila *a*. As coletas relacionadas à sinalização química do estresse foram medidas às 2, 4, 6, 24, 48 e 96 horas após a reidratação.

2.5. Variáveis analisadas

2.5.1 Trocas gasosas: As avaliações de trocas gasosas foram realizadas utilizando-se equipamento de sistema aberto com analisador de gás CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (Gas-Exchange and Fluorescence System, GFS-3000, Walz). As medidas foram realizadas durante a reidratação, selecionando-se uma planta para cada repetição, nas quais foram escolhidas e padronizadas as 2^a ou 3^a folhas com limbo totalmente expandido. As características de trocas gasosas analisadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$). A eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) foi determinada por meio da relação entre assimilação de CO₂ e taxa de transpiração (A/E) e a eficiência de carboxilação pela razão entre assimilação de CO₂ e concentração interna de CO₂ (A/C_i). As medidas de monitoramento de g_s ($\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) foram efetuadas com o auxílio de um porômetro em estado de equilíbrio dinâmico Leaf Porometer (Decagon/EUA) às 10:00h.

2.5.2 Fluorescência da clorofila *a*: As variáveis da fluorescência da clorofila *a* foram coletadas com um fluorômetro PAM – Junior, (WALZ/Alemanha). Diversas variáveis fotoquímicas foram calculadas com base em parâmetros de fluorescência da clorofila *a*: fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), a eficiência quântica máxima do fotossistema II - PSII (F_V/F_M), rendimento quântico efetivo do PSII ($\Phi_{PSII} = \Delta F/F_M'$) medido de acordo com Genty, Briantais e Baker (1989), taxa de transporte de elétrons ($ETR = \Delta F/F_M' \times DFFF \times 0,5 \times 0,84$), dissipação fotoquímica [$qP = (F_M' - F_S)/(F_M' - F_0')$], eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M') e dissipação não-fotoquímica [$NPQ = (F_M - F_M')/F_M'$] (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Para a estimativa ETR, 0,5 foi usada como a fração de energia de excitação distribuída entre os fotossistemas, e 0,84 como a fração de absorção de luz (BAKER, 2008). A fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas [$D = 1 - (F_V'/F_M')$] e dissipação de calor nos centros de reação [$E = (1 - qP)(F_V'/F_M')$] foram calculados de acordo com Demming-Adams et al., (1996). As folhas amostradas foram aclimatadas no escuro por 30 minutos. As análises foram realizadas através da curva de indução, utilizando o método da aplicação da medida de F_0 , seguido pelo tempo de espera de 40 segundos e aplicação de luz actínica com intensidade de $1500 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFFA.

2.5.3 Relações hídricas: O conteúdo relativo de água (CRA, %) das folhas foi determinado em limbos completamente expandidos e expostos. Folhas de cada planta tiveram seus limbos cortados em forma de quadrado (2 cm x 2 cm) e pesados para obtenção da massa fresca (MF). Em seguida as amostras foram colocadas em placas de Petri, com papel de filtro, imersos em água deionizada e acondicionados por 24 horas a 5°C para reidratação de acordo com Elsheery e Cao (2008). Após esse período as amostras foram pesadas obtendo a massa turgida (MT) e em seguida levadas a estufa (temperatura $\approx 60^\circ\text{C}$ até peso constante) para obtenção da massa seca (MS) das

amostras. Foi utilizada balança de precisão de 0,0001 g para determinação dos pesos fresco, túrgido e seco. A determinação do CRA foi feita de acordo com Smart e Bingham (1974), utilizando-se a fórmula: $CRA (\%) = (PF-PS)/(PT-PS)*100$. O potencial químico de água foliar (Ψ_{H_2O} , MPa) foi medido através das folhas que foram coletadas e analisadas em Analisador de Potencial Água com Controlador de Temperatura, WP4-T (Decagon/ EUA). As análises aconteceram imediatamente após a coleta do material biológico durante a reidratação das plantas.

2.5.4 Sinalização química de estresse: Foi determinada através da atividade das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) e ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11). Os extratos enzimáticos brutos, usados para as determinações das atividades foram obtidos a partir da ressuspensão do material vegetal (100 mg) em 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0.1 M, pH 6,8, suplementado com 100 mg de PVPP (polivinilpolipirrolidona). Após centrifugação a 5.000 xg, durante 20 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi coletado. A concentração de proteínas para todas as amostras foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando-se curva padrão com caseína, de 5 a 100 µg de proteína. Atividade de SOD foi determinada pelo ensaio contendo 25 µL do extrato enzimático bruto diluído em 25 µL de tampão de extração e 2,95 mL de um meio de reação constituído de: de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, 13 mM de metionina, 75 µM de azul de p-nitro tetrazólio (NBT), 100 nM de EDTA e 2 µM de riboflavina. Após 5 minutos de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT ($U\ mg^{-1}\ proteína$). A atividade da POD foi determinada através da diluição de 50µL de extrato bruto diluídos em 50 µL em tampão de extração e adicionados a 4,9 mL de solução tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8

contendo 20 mM de Pyrogallol e 20 mM H₂O₂. Após incubação por 1 minuto a reação foi paralisada com 0,5 mL de H₂SO₄ (5%) e a leitura da absorbância feita a 420 nm. A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) da enzima foi calculada usando-se um coeficiente de extinção molar de 2,47 mM⁻¹cm⁻¹ do pirogalol (PEIXOTO et al., 1999). A atividade da APX foi determinada adicionando uma alíquota de 100 μL de extrato bruto em 2,9 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, 0,8 ascorbato e 1,0 mM peróxido de hidrogênio. A determinação da variação da extinção (-) foi efetuada a 290 nm, sendo a atividade específica da enzima ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) calculada a partir de um coeficiente de extinção molar de 2,8 mM⁻¹cm⁻¹ (NAKANO; ASADA 1981, modificado por KOSHIBA 1993). Peroxidação lipídica foi adaptada de acordo com Heath e Packer (1968) e Rama Devi e Prasad (1998). O material vegetal (100 mg) já macerado em nitrogênio líquido foi homogeneizado em 2,5 ml de TBA a 0,25% em TCA a 10% e incubado a 95°C durante 1 h. As amostras foram centrifugadas e a absorbância do sobrenadante foi medida a 560 e 600 nm. Para os cálculos, utilizou-se o coeficiente de extinção molar do malondialdeído (155 mmol.L⁻¹.cm⁻¹). Os resultados foram expressos em nmol de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).g⁻¹ de matéria fresca.

A atividade enzimática foi avaliada antes da reidratação (0h) e 2, 4, 6, 24, 48 e 96 horas após a reidratação nos 3 tratamentos, nas duas condições de luz.

2.6. Análise dos dados

Após o teste de normalidade Shapiro-Wilk ($P < 0,05$) entre os dados, para verificar a interação entre os tratamentos submetidos ao estresse hídrico nas duas condições de luz, os dados foram submetidos a uma ANOVA de dois fatores com medidas repetidas (tratamentos x luz), seguido do teste de Tukey com um nível de significância de 5% (SigmaPlot versão

12.0). Quando a precisão do teste Tukey não indicou a diferença apontada pelo ANOVA de dois fatores, foi feito um teste Fisher (LSD).

3. Resultados

Para excluir interferências ambientais das comparações entre os tratamentos, foi feita análise da condutância estomática (ANOVA um fator, seguido por teste Tukey 5%) entre todas as avaliações do tratamento controle em condições de maior luminosidade, uma vez que são plantas completamente expostas as alterações do dia mesmo que em casa de vegetação. A partir dos resultados das análises estatísticas, usamos dados a partir das 4 horas de reidratação onde não houve variação nos parâmetros do controle na condutância estomática (Figura 1). As avaliações no ponto máximo de déficit hídrico, foram utilizadas com a finalidade de apresentar o máximo da deficiência hídrica de cada tratamento submetido ao estresse.

Na primeira avaliação antes da reidratação (último dia de seca = 0h), plantas submetidas aos tratamentos de deficiência hídrica (único e recorrente) exibiram interações com as condições de luminosidade e apresentaram valores baixos de g_s , A , E , EUA e A/Ci ; e maiores índices de Ci (Tabela 1). No que diz respeito às relações hídricas, o grupo de plantas que foi submetido ao déficit recorrente foi similar ao grupo controle em CRA e Ψ_{H_2O} nos momentos antes da reidratação (Tabela 8). Quanto às variáveis da fotoquímica da fotossíntese, Φ_{PSII} e ETR apontaram interação dos fatores (tratamentos x luz), onde plantas na condição máxima de luminosidade que passaram pelo estresse único e recorrente tiveram valores significativamente menores que as plantas do tratamento controle. No entanto, independente da condição luminosa, NPQ e F_V/F_M foram maiores no grupo controle. Já F_0 e F_M foram maiores no tratamento de estresse recorrente e sob 30% de luz. Diferentemente de qP , onde apenas plantas no situadas à 100% de luz apresentaram maiores valores (Tabela 15).

A menor disponibilidade luminosa também foi o fator que diferenciou na maior atividade de SOD e POD em todos os tratamentos (Tabela 22).

Com 4 horas de reidratação, g_s já está estabilizada, A , C_i , EUA e A/C_i não apresentam diferença entre os tratamentos com 30% de luz. Destacamos a similaridade estatística entre os grupos controle e recorrente em C_i e EUA , contrário ao tratamento de estresse único onde as plantas na condição de maior luminosidade apresentaram valores de EUA inferiores ao daquelas de outros tratamentos. No que diz respeito à E , apenas plantas que estão submetidas a 100% de luz apresentaram maiores taxas em relação aquelas sob 30% de luz (Tabela 2). O fator luz apresentou diferença com em relação ao CRA, onde plantas que estão situadas a maior disponibilidade luminosa apresentam valores superiores a plantas com 30% de luz (Tabela 9). O padrão nos parâmetros fotoquímico foi mantido mesmo após 4 horas de reidratação, com Φ_{PSII} , ETR e agora qP , que exibiu interação entre tratamentos e luz. Com 100% de luz os grupos que passaram pela restrição hídrica (única e recorrente) apresentaram menores taxas que o controle, mas não diferiram entre si quando expostos a menor condição luminosa. No que diz respeito apenas à condição luminosa, somente F_M apontou diferença com maiores valores em plantas com 30% de luz. Em relação apenas aos tratamentos, o estresse recorrente se destacou com maiores valores de F_V/F_M e F_V'/F_M' (Tabela 16). Em referência à sinalização química de estresse, SOD e POD continuaram maiores em plantas na menor condição luminosa e sem interação entre os tratamentos. Já APX apresentou interação entre os dois fatores (tratamento x luz), onde na maior luminosidade os tratamentos foram semelhantes entre si, mas com 30% de luz os grupos reidratados (estresse único e recorrente) foram menores que o grupo controle (Tabela 23).

No que diz respeito às 5h após a reidratação, nos parâmetros de trocas gasosas, apenas g_s apresentou interação entre os fatores de tratamento e luz, onde os grupos de plantas sob 100% de luz apresentaram diferença entre os tratamentos que foram reidratados (estresse

único e recorrente), mas este padrão não é visto em plantas em condição de menor intensidade luminosa (Tabela 3). Considerando os parâmetros de relações hídricas avaliados, CRA e Ψ_{H_2O} exibiram interação entre tratamentos e luz, onde plantas submetidas ao estresse recorrente em 100% de disponibilidade de luz apresentaram maior CRA, mas exibiram os menores índices quando situadas na menor condição luminosa. No entanto, para os dados de Ψ_{H_2O} a 30% de luz, o grupo submetido ao estresse recorrente apresentou menores valores em relação às plantas que sofreram apenas um único ciclo de estresse (Tabela 10). Em relação às variáveis relacionadas à fotoquímica, Φ_{PSII} , ETR, qP e NPQ apresentaram interação entre os fatores tratamentos e luz, onde em disponibilidade total de luz, os tratamentos reidratados foram inferiores ao grupo controle. Quanto à F_M , plantas submetidas ao estresse recorrente nas duas condições de luz apresentam os maiores valores em relação aos outros tratamentos. Com relação à F_V/F_M plantas dispostas a 100% de luz, quando reidratadas exibiram menores valores do que o grupo controle, mas quando situadas a 30% de luz, plantas reidratadas apresentaram maiores índices de F_V/F_M comparado às plantas constantemente irrigadas (Tabela 17).

Às 6 horas após a reidratação, A e C_i em plantas na maior condição luminosa são semelhantes entre os tratamentos, mas quando em 30% de luz, plantas reidratadas são diferentes ao grupo controle (menores em A e maiores em C_i). O contrário ocorreu em E , plantas na menor condição luminosa não diferiram entre os tratamentos, mas em 100% de luz os tratamentos reidratados foram inferiores ao grupo controle. Em relação a A/C_i plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente com alta disponibilidade luminosa apresentaram maiores taxas que os outros tratamentos, mas em 30% de luz os tratamentos reidratados apresentaram menores valores que o grupo de plantas controle (Tabela 4). No que diz respeito às relações hídricas, houve interação entre os dois fatores (tratamentos e luz) no CRA, visto que em 100% de luz, plantas pertencentes ao grupo de estresse recorrente apresentaram maiores índices que os outros tratamentos, mas quando foram expostas a 30% de luz não

diferiram entre si. Contrário aos dados apontados pelo Ψ_{H_2O} , onde apenas o tratamento de estresse hídrico recorrente apontou os menores índices em relação aos outros grupos (Tabela 11). No contexto das variáveis fotoquímicas avaliadas, o padrão encontrado até então foi alterado, dentre as quais Φ_{PSII} , ETR e qP não apresentaram mais interação entre os fatores (tratamento x luz) e apontaram maiores valores na condição máxima de luz, assim como em F_V/F_M , F_V'/F_M' e E. A condição luminosa foi também o fator diferenciado em F_0 e D, mas neste caso os maiores valores ocorreram em plantas em 30% de luz. A interação entre tratamentos e luz apenas apareceu em F_M , onde plantas em maior disponibilidade de luz tem menor F_M apenas no grupo submetido ao estresse único (Tabela 18). No que se refere à sinalização bioquímica de estresse, apenas a enzima SOD apresentou interação entre tratamentos e luz, visto que somente plantas em situação de menor disponibilidade de luz apontaram diferença estatística entre os tratamentos, consistindo os menores índices apenas no grupo submetido ao evento único de estresse (Tabela 24).

Com 24 horas da reidratação das plantas submetidas à deficiência hídrica (estresse único e recorrente), as trocas gasosas continuaram comprometidas nas diferentes condições luminosas. A interação entre os tratamentos e luz foi exibida em A , C_i , EUA e A/C_i . Todas essas variáveis avaliadas nas plantas situadas a 30% de luz não apresentaram diferença entre os tratamentos, mas quando comparadas na condição de maior disponibilidade luminosa, plantas submetidas ao estresse hídrico recorrente se destacaram com maior A , A/C_i , menor C_i , e EUA semelhante ao grupo controle (Tabela 5). Assim como com os valores de CRA, onde quando as plantas são cultivadas a 100% de luz e submetidas ao estresse recorrente apontam maior conteúdo de água na folha em relação ao grupo controle. No que diz respeito às variáveis fotoquímicas avaliadas, Φ_{PSII} , ETR e qP exibiram interação entre os tratamentos e luz, onde plantas dos grupos que foram reidratadas a 100% de luz exibiram menores índices que o grupo controle. No entanto, observaram-se respostas opostas nas plantas cultivadas a 30% de luz, onde o tratamento constantemente irrigado foi significativamente menor que os

grupos que passaram pela deficiência hídrica única e recorrente (Tabela 19). Na sinalização química do estresse, SOD e POD exibiram interação entre tratamentos e luz, onde plantas reidratadas a 30% de luz apontaram menor atividade enzimática do que as plantas que permaneceram irrigadas (Tabela 25).

As avaliações feitas às 48 horas após a reidratação dos tratamentos submetidos à deficiência hídrica, g_s e A tiveram diferença apenas na condição luminosa, onde plantas com maior disponibilidade de luz exibiram maiores taxas que plantas a 30% de luz. Com relação aos tratamentos, o grupo de plantas que sofreram estresse hídrico recorrente exibiram respostas semelhantes ao controle em A , E e C_i . No que diz respeito a EUA e A/C_i , os dados exibiram interação entre os fatores avaliados e a maior disponibilidade de luz no grupo de plantas de estresse recorrente foram maiores que os outros tratamentos avaliados (Tabela 6). Nos parâmetros de relações hídricas, Ψ_{H_2O} apresentou interação entre os tratamentos e luz, uma vez que somente plantas a 30% de luz do estresse único diferiram dos outros tratamentos hídricos da mesma condição luminosa (Tabela 13). Nas avaliações fotoquímicas qP , F_V/F_M , F_V'/F_M' , D e E apresentaram interação entre os fatores estudados. As plantas cultivadas na máxima intensidade luminosa exibiram qP e D menores no tratamento de estresse recorrente em relação aos outros grupos. No entanto, apresentaram valores maiores de F_V/F_M , F_V'/F_M' e E (Tabela 20). Com relação às enzimas avaliadas, apenas exibiram diferença nas condições luminosas, onde SOD, POD e APX foram maiores em plantas a 30% de luz, independente do tratamento (Tabela 26).

Com 96 horas de reidratação, as plantas submetidas ao estresse recorrente se destacaram em g_s , A , C_i e EUA independente da condição luminosa. Nos dados de A/C_i , os fatores tratamento e luz apresentaram interação, onde na condição de maior luminosidade, plantas do estresse recorrente foram superiores aos outros grupos, mas quando em 30% de luz os tratamentos não diferenciaram entre si (Tabela 7). Neste momento de reidratação não houve mais diferença estatística nos parâmetros de relações hídricas (Tabela 14). Mas com

relação às respostas fotoquímicas, Φ_{PSII} , F_M , D e E diferenciaram apenas na condição luminosa (maiores Φ_{PSII} e D, menores F_M e E em 100% de luz). No entanto NPQ e F_V/F_M apontaram diferença apenas entre os tratamentos, onde os maiores valores foram do grupo controle. A interação entre os fatores de tratamento e luz apareceu apenas em F_V'/F_M' , no qual plantas com maior disponibilidade de luz do estresse hídrico recorrente se igualaram aos valores do grupo controle (Tabela 21). Por último, maiores atividades de SOD e POD continuaram em plantas a 30% de luz. Com relação à peroxidação lipídica, o grupo controle apresentou aumento, mas sem interação com a condição luminosa (Tabela 27).

Com a finalidade de verificar a reidratação dos tratamentos, foram comparados estatisticamente os parâmetros que se destacaram nas avaliações: A, *EUA*, Φ_{PSII} e ETR ao longo das horas avaliadas. Nas variáveis de trocas gasosas, o tratamento submetido ao estresse recorrente em 100% de disponibilidade de luz apresentou maiores taxas comparado aos outros grupos que foram submetidos à restrição hídrica superando o grupo controle na mesma condição luminosa a partir de 24 horas de reidratação (Figuras 2 e 3). Mas no que diz respeito às variáveis fotoquímicas destacadas a partir de 24 horas de reidratação, os grupos submetidos à deficiência hídrica quando dispostos a 30% de luz apresentaram maiores taxas que o grupo de plantas que permaneceu constantemente irrigado (Figuras 4 e 5).

4. Discussão

Através das avaliações durante a deficiência hídrica e ao longo da reidratação foi possível comparar a recuperação das plantas que foram submetidas a único evento de estresse hídrico com plantas submetidas a estresse hídrico recorrente em diferentes condições de luz. A recuperação hídrica, fotoquímica e bioquímica das plantas pode ser discutida através dos parâmetros apresentados.

Antes da reidratação, todas as plantas submetidas à restrição hídrica responderam com alterações nos parâmetros trocas gasosas. A estratégia de economia de água através do ajuste estomático (g_s menor que 10% em relação ao grupo controle) refletiram também na queda da assimilação de CO_2 (A), transpiração (E), eficiência no uso da água (EUA), eficiência de carboxilação (A/C_i) e concentração interna de carbono (C_i). O controle de perda de água pelos estômatos altera a incorporação do CO_2 no ciclo de Calvin nas plantas que foram submetidas ao estresse hídrico. O estudo dessas respostas estomáticas relacionando variações ambientais e fisiológicas da planta nos permite compreender a tolerância ao estresse, pois os estômatos possuem papel importante nas trocas gasosas, interferindo no balanço entre água perdida e carbono assimilado (LIN et al., 2018).

No entanto, os ajustes nas relações hídricas apresentaram diferença entre os tratamentos submetidos à restrição hídrica. Plantas sob deficiência hídrica recorrente exibiram ajustes na retenção de água nos tecidos foliares (Tabela 8). Mesmo com as alterações nos índices de trocas gasosas, plantas em estresse recorrente, independente da condição luminosa, exibiram melhor retenção de água que plantas submetidas ao estresse único. O potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O}) e conteúdo relativo de água na folha (CRA) são os primeiros a exibir alterações assim que a planta diminui o acesso à água (CHAVES; MAROCO; PEREIRA, 2003; GIMENEZ; GALLARDO; THOMPSON, 2005; SHAO et al., 2008; KUDOYAROVA; KHOLODOVA; VESELOV, 2013). Portanto, os ajustes no controle do status hídrico observados em plantas em estresse hídrico recorrente são vistos como respostas de aclimação relevantes quando as plantas passam por sucessivos ciclos de seca.

Com relação às variáveis da etapa fotoquímica da fotossíntese, podemos destacar o efeito da luminosidade interferindo nas marcas do estresse recorrente, uma vez que plantas de *C. langsdorffii* a 30% de luz apresentaram melhores índices fotoquímicos que plantas na condição máxima de luz, mesmo sob déficit hídrico. O rendimento quântico efetivo (Φ_{PSII}) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) são responsivos às diferentes condições luminosas

mesmo em condição de menor acesso a água pelas plantas. O maior Φ_{PSII} representa o rendimento quântico que chega ao PSII, o qual se encontra em funcionamento com os centros de reação oxidados e contínuo fluxo de elétrons ao longo das membranas dos tilacóides (BAKER, 2008). Este fluxo depende da demanda de elétrons na condição luminosa e hídrica que reflete na conversão da radiação fotossinteticamente ativa em energia química para a fotossíntese. Deste modo, a luz modula respostas ao estresse hídrico otimizando a transformação da energia luminosa.

A menor disponibilidade luminosa que resultou na maior defesa antioxidante em *C. langsdorffii* neste estudo. As enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD) apresentaram menores atividades enzimáticas em plantas na condição máxima de luz. Ou seja, mesmo com a maior luminosidade. *Copaifera langsdorffii* apresenta menor sinalização química de estresse através das enzimas antioxidantes avaliadas. A produção das espécies reativas de oxigênio em células vegetais é aumentada em condições que limitam a fixação de CO_2 , como estresse hídrico, salino e/ou térmico quando combinados com diferentes condições de luz (FAVARETTO et al., 2011). Neste estudo, a menor disponibilidade de luz foi determinante para a maior atividade antioxidante, uma vez que a menor intensidade luminosa resultou nas menores taxas de trocas gasosas, conseqüentemente houve menor consumo de NADPH/ATP e gerou em maior acúmulo de ERO (AHANGER et al., 2017).

Após quatro horas, a reidratação dos grupos de plantas submetidos à restrição hídrica (única e recorrente), situadas a 100% de luz, g_s é estabilizada e ressaltamos a similaridade estatística entre os grupos de plantas controle e submetidas ao estresse recorrente em C_i e EUA . O grupo de plantas que passaram pelo único evento de estresse hídrico na condição de máxima luminosidade destaca-se a maior concentração de carbono interno (C_i). Esta é outra consequência da diminuição da abertura estomática, a qual pode estar relacionado à limitação não-estomática da fotossíntese devido aos vários processos metabólicos fotossintéticos que são restringidos pela baixa disponibilidade hídrica e não à menor oferta de carbono (RAKÍC

et al., 2015). Portanto, a maior concentração de carbono interno do tratamento que passou por um ciclo de estresse não foi o fator limitante para as menores taxas de assimilação.

Esses pequenos ajustes nas trocas gasosas do tratamento sob déficit hídrico recorrente comprovaram que os danos causados pelas experiências anteriores de seca auxiliaram na resposta mais rápida das plantas submetidas a ciclos de estresse na maior condição luminosa em relação ao grupo de evento único de estresse. Segundo Walter et al., (2011) pode ser uma “marca ou impressão do estresse” como resultado da plasticidade fenotípica da espécie que facilitou resposta rápida com valor adaptativo ao evento de estresse recorrente. Essa vantagem do grupo de plantas que foi submetido a eventos anteriores de estresse garante maior eficiência nas respostas fisiológicas propiciando o estabelecimento da espécie após eventos ambientais sazonais. Este padrão de resposta garante maiores taxas de fotossíntese, consequentemente otimiza o estabelecimento da espécie em ambientes que passam por períodos de estiagem e apresentam pequenas precipitações ao longo do período de seca, garantindo maior acúmulo de fotoassimilados durante o período desfavorável. A recuperação fotossintética após a reidratação da planta é de importância crucial e repercute na sobrevivência da planta em ambientes caracterizados pelo fornecimento esporádico de água (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009). Segundo Crespo-Salvador et al. (2007), a exposição inicial ao estresse pode ativar o conjunto de genes como uma marca epigenética que pode ser deixada, facilitando as respostas mais rápidas e mais eficientes aos estresses futuros.

Entretanto, danos fotoquímicos ainda foram observados em plantas que passaram pelo déficit hídrico e na condição de maior luminosidade. A menor disponibilidade de água para as plantas resultou em danos no aparato fotoquímico em ambos os tratamentos mesmo após 4 horas de reidratação, mas comprometeram mais efetivamente as plantas na condição máxima de luz, não havendo diferença entre os tratamentos que passaram pela restrição hídrica (única e recorrente). Esse comprometimento não é tão evidente em plantas na

condição de menor luminosidade, visto que o acesso à luz para a fase inicial da fotossíntese é limitado. A queda em g_s induzida pelo estresse ambiental afeta o metabolismo do CO_2 e consequentemente interfere nos processos de transporte de elétrons que diminuem a eficiência fotoquímica dos centros de reação do PSII (F_V'/F_M') e menor oxidação das quinonas (qP) (BAKER, 2008). O ETR diminui nestas condições, principalmente porque o estresse ambiental reduz a eficiência de captura de energia de excitação dos centros de reação PSII (TIAN et al., 2017). Podemos aqui também destacar os valores de F_V/F_M e F_V'/F_M' nas plantas do estresse recorrente similares ao tratamento controle. Baixos valores de F_V/F_M apresentados pelo grupo de estresse único estão relacionados com fotoinibição, ou seja, a redução da capacidade fotossintética quando em baixa disponibilidade hídrica e há necessidade de dissipar o excesso luz que não está sendo direcionada para a fotossíntese (FARQUHAR et al., 1989).

Com relação à sinalização química do estresse, as enzimas SOD e POD continuaram com a maior atividade no grupo de plantas a 30% de luz. No entanto plantas com restrição hídrica (único e recorrente) nesta condição luminosa apresentaram menor atividade antioxidante na ascorbato peroxidase (APX). Esta enzima está relacionada com a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em H_2O e O_2 nos cloroplastos desempenhando um importante papel na proteção destas organelas responsáveis diretamente pela fotossíntese. Deste modo, a eliminação do H_2O_2 nos cloroplastos é indispensável para manter a fixação de CO_2 (NAKANO; ASADA, 1981). Ou seja, plantas de *C. langsdoffii* mesmo quando passaram pela restrição hídrica (única ou recorrente) acumularam maior resistência às espécies reativas de oxigênio a 100% de luz quando comparadas às plantas constantemente irrigadas na menor condição luminosa. Destacamos que não houve diferença na peroxidação lipídica entre os tratamentos submetidos à restrição hídrica independente da condição luminosa durante o estudo. Este fato é permitido pela atividade da APX que garantiu integridade da membrana lipídica frente aos danos do estresse hídrico e luminoso (NAKANO; ASADA, 1981).

Plantas submetidas ao único evento de déficit hídrico, com seis horas de reidratação, apresentaram semelhança estatística nas taxas de trocas gasosas das plantas que passaram pelo estresse recorrente independente da condição de luz. Podemos avaliar a tolerância das plantas ao estresse ambiental através da variação no movimento estomático frente à adversidade (CHAVES; MAROCO; PEREIRA, 2003). Nas variáveis da etapa fotoquímica, o fator luz sobrepõem à condição de reidratação em Φ_{PSII} , qP , F_V'/F_M' , D e E mostrando que a espécie é mais sensível à luminosidade após a deficiência hídrica, onde a eficiência na captação de luz para fotossíntese é danificada quando existe menor disponibilidade luminosa. Os tratamentos que foram submetidos ao estresse hídrico (único e recorrente) exibiram mecanismos para dissipação do excesso de energia luminosa. O grupo de plantas submetidas ao estresse único apresentou maior dissipação de calor nas antenas (D). Entretanto, as plantas que passaram pelo estresse recorrente apresentaram como forma de fotoproteção à dissipação de calor nos centros de reação (E). Assim como no trabalho de Veiga e Habermann (2013), D e E são variáveis relacionadas com a dissipação da energia térmica, fato que implica em danos no PSII. Não houve aumento de NPQ nos dois tratamentos de estresse hídrico neste momento de reidratação, ou seja, a liberação da energia térmica não foi através do ciclo das xantofilas (SMIRNOFF, 1993; BAKER, 2008). Neste caso, a baixa síntese de zeaxantina e pulsos de luz com baixa energia de protonação da proteína PsbS, resultou na menor dissipação de energia térmica por esta via (HEBER; BILGER; SHUVALOV, 2006).

Mas no que diz respeito à dissipação da energia luminosa pela fluorescência (F_0 e F_V/F_M) plantas submetidas ao único evento de estresse ainda apresentaram danos em relação ao tratamento de estresse recorrente 6 horas após a reidratação. Portanto, a rápida resposta dos parâmetros de relações hídricas e trocas gasosas do tratamento de estresse recorrente não são suficientes para recuperar alguns danos fotoquímicos causados pelo período sem água. Os maiores valores de F_0 são indicativos de danos nas plantas que passaram pelo estresse. Neste caso, mesmo após a recarga hídrica, a eficiência fotoquímica aponta para respostas ao

estresse, o que pode ser causado pela desordem no aparato fotoquímico mantido na reidratação. O aumento de F_0 pode indicar mudanças estruturais nos pigmentos da antena, como a dissociação dos pigmentos da antena do complexo central de captação de luz do PSII (BAKER, 2008; HAZRATI et al., 2016). Esta desordem no aparato fotoquímico das folhas e a permanência por longos períodos dificultou o processo fotossintético através dos danos nos fotossistemas bloqueando o acesso à energia luminosa que é revertida em fotoassimilados.

Nas 24 horas de reidratação, plantas de *C. langsdorffii* em condição máxima de luz, mantem maiores índices de trocas gasosas quando estão reidratadas pela 3ª vez, novamente apontando marca dos estresses hídricos anteriores e garantindo melhor aporte de carbono e consequentemente assegurando maior acúmulo de fotoassimilados do que plantas que passaram pela deficiência hídrica apenas uma vez. Com a disponibilidade hídrica favorável, as plantas jovens de *C. langsdorffii* apresentam translocação de recursos para as folhas, mesmo com luminosidade baixa dispostas no sub-bosque, o que resulta em aumento da eficiência fotossintética (RONQUIM; PRADO; SOUZA, 2009). Entretanto, neste momento de reidratação e em condição mínima de luz, plantas submetidas ao único estresse hídrico, são mais eficientes em Φ_{PSII} , ETR e qP, apontando que mesmo com menores índices de trocas gasosas, os danos fotoquímicos não afetaram profundamente a fotossíntese. No entanto, o estudo de Sapeta et al., (2013) mostrou que após 24 horas da reidratação de *Jatropha curcas* L., os dados de assimilação de carbono (A), condutância estomática (g_s), taxa de transporte de elétrons (ETR) e rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}) retornaram aos valores normais sem indicar danos deixados pelo estresse, mostrando que esta espécie é mais resistente a deficiência hídrica que *C. langsdorffii* já que não houve total recuperação nas trocas gasosas com um ciclo de estresse.

Após 48 horas de reidratação, os fatores avaliados (tratamento e luz) influenciaram nas trocas gasosas, mas de maneira independente em g_s , A e C_i . No entanto, ressaltamos que tratamentos submetidos ao estresse hídrico recorrente continuam se destacando com relação

aos valores de E e C_i independente da condição luminosa. A interação entre os fatores tratamentos e luz, o grupo submetido à 3ª reidratação mantém maior EUA e A/C_i quando estão expostas a 100% de luz. O estudo de Kudoyarova, Kholodova e Veselov (2013) ilustrou a importância do controle da transpiração (E) em consequência da diminuição da abertura estomática. Este fato possibilita a reidratação dos tecidos através do gradiente entre os potenciais da água na planta e no solo. Como um estímulo no fluxo de água e maior absorção que favoreceram, portanto a eficiência do uso da água (EUA) e eficiência da carboxilação (A/C_i) das plantas submetidas ao estresse recorrente. A utilização destes mecanismos hídricos é útil em pesquisas que visam os danos relacionados à seca (DRAKE et al., 2017).

No que diz respeito à etapa fotoquímica às 48 horas de reidratação, ainda existiu interação entre os fatores avaliados (tratamentos e luz) e destacamos que plantas submetidas ao estresse único na condição máxima de luz, apresentaram menor F_v/F_M , F_v'/F_M' e maior D . Este padrão de resposta é referente aos danos mantidos no aparato fotoquímico. Esses parâmetros são indicadores de degradação da proteína D1 (um importante componente do PSII) que é danificada pelo excesso de luz quando sofrem outros impactos ambientais, resultando na inativação dos centros de reação da fotossíntese (GOLTSEV et al., 2016). E mesmo após 48 horas de reidratação, SOD, POD e APX são maiores na menor condição luminosa. No estudo de Sofo et al. (2004), foi apontado que a disponibilidade de luz na resposta das plantas durante a reidratação é fundamental na defesa antioxidante. Para manter os níveis de ERO sob controle, a atividade antioxidante é alterada de acordo com estresse biótico ou abiótico (AHANGER et al., 2017).

No que diz respeito às 96 horas de reidratação, destacamos a diferença entre os tratamentos hídricos, onde o estresse recorrente continuou sobressaindo com maiores taxas que os outros tratamentos (controle e estresse único) em g_s , A , C_i e EUA . No entanto não houve mais diferença estatística entre as relações hídricas, mas os danos fotoquímicos ainda foram visíveis, principalmente nas plantas a 30% de luz no que diz respeito ao Φ_{PSII} , F_M e E .

Isso se deve ao fato de que plantas desenvolvidas no sub-bosque de floresta sombreada são mais sensíveis à fotoinibição do que as plantas em pleno sol (FAVARETTO et al., 2011), uma vez que as folhas das plantas na borda da vegetação ou em clareiras estão mais expostas à níveis intensos de radiação tornando os mecanismos de dissipação da energia luminosa mais eficiente que as folhas na condição mínima de luz.

Em conclusão, nossos resultados indicaram que a manutenção do estado hídrico foliar e a recuperação mais rápida da assimilação de carbono e eficiência no uso da água em grupo de plantas submetidas ao estresse recorrente são características importantes para que as plantas superem as condições estressantes. Entretanto não garantiu total proteção do estresse uma vez que apresentaram danos fotoquímicos mesmo após a reidratação. Porém, os danos fotoquímicos podem ser sanados através da renovação foliar, desde que o metabolismo vegetal mantenha as taxas de trocas gasosas e o acesso à água. Destacamos que plantas de *C. langsdorffii* mesmo ocupando locais de sol e sombra apresentam maior sensibilidade ao estresse hídrico quando estão na menor condição luminosa, apontando maior atividade antioxidante mesmo depois de reidratadas. Assim, a condição luminosa interfere na aclimação e distribuição desta espécie, mesmo passando por períodos de restrição hídrica. Deste modo concluímos que a sobrevivência da espécie ocorre nas diferentes em disponibilidades de luz, mas o ambiente mais adequado para seu estabelecimento é em maiores condições luminosas, pois a espécie apresentou respostas fisiológicas favoráveis provenientes das marcas dos estresses anteriores.

5. Referências bibliográficas

AHANGER, M.A.; TOMAR, N.S.; TITTAL, M.; ARGAL, S.; AGARWAL, R.M. Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of

- added potassium under such conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, v, 23, p. 731-744, 2017.
- BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.89-113, 2008.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976.
- BRUCE, T.J.A.; MATTHES, M.C.; NAPIER, J.A.; PICKETT, J.A. Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science*, v.173, p.603-608, 2007.
- CARVALHO, M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling & Behavior*, v.3, n.3, p.156-165, 2008.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*. v.103, p.551-560, 2009.
- CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.P. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, v. 30, p.239-264. 2003.
- CRESPO-SALVADOR, O.; ESCAMILLA-AGUILAR, M.; LÓPEZ-CRUZ, J.; LÓPEZ-RODAS, G.; GONZÁLEZ-BOSCH, C. Determination of histone epigenetic marks in *Arabidopsis* and tomato genes in the early response to *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports*, v. 37, p. 153-166, 2018.
- DEMMING-ADAMS, B.; ADAMS III, W. W.; BARKER, D. H.; LOGAN, B. A.; BOWLING, D. R.; VERHOEVEN, A. S. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* v.98, p.253-264, 1996.
- DRAKE, J.E.; POWER, S.A.; DUURSMA, R.A. MEDLYN, B.E.; ASPINWALL, M.J.; CHOAT, B.; CREEK, D. et al. Stomatal and non-stomatal limitations of

- photosynthesis for four tree species under drought: A comparison of model formulations. *Agricultural and Forest Meteorology*, v.247, p. 454-466, 2017.
- ELSHEERY, N.I.; CAO, E.K.F. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.30, p.769-777, 2008.
- FARQUHAR, G.D.; WONG, S.C.; EVANS, J.R.; HUBICK, K.T. 1989. Photosynthesis and gas exchange. In: Jones, H.G., Flowers, T.J., Jones, M.B. (Eds.), *Plants Under Stress*.
- FAVARETTO, V. F.; MARTINEZ, C. A.; SORIANI, H. H.; FURRIEL, R. P. M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. *Environmental and Experimental Botany*. v. 70, p. 20-28, 2011.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 990, p. 87-92, 1989.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superóxido dismutases. I. occurrence in Higher plants. *Plant Physiology*, v. 59, p. 309-314, 1977.
- GIMENEZ, C.; GALLARDO, M.; THOMPSON, R.B. Plant–water relations. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, p.231-238, 2005.
- GOLTSEV, V.N.; KALAJI, H.M.; PAUNOV, M.; BABA, W.; HORACZEK, T.; MOJSKI, J.; KOCIEL, H.; ALLAKHVERDIEV, S.I. Variable Chlorophyll Fluorescence and Its Use for Assessing Physiological Condition of Plant Photosynthetic Apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, v. 63, p. 869-893, 2016.
- GOUVEIA, G. P.; FELFILI, J. M. Fenologia de comunidades de cerrado e de mata de galeria no Brasil central. *Revista Árvore*, v.22, n.4, p. 443 – 450,1998.

- HARB, A.; KRISHNAN, A.; AMBAVARAM, M.M.R.; PEREIRA, A. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth. *Plant Physiology*, v.154, p.1254-1271, 2010.
- HAZRATI, S.; TAHMASEBI-SARVESTANI, Z.; MODARRES-SANAVY, S.A.M.; MOKHTASSI-BIDGOLI, A.; NICOLA, S. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.106, p.141-148, 2016.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives Biochemistry and Biophysics*, v.125, p.189-98, 1968.
- HEBER, U.; BILGER, W.; SHUVALOV, V.A. Thermal energy dissipation in reaction centers and in the antenna of photosystem II protects desiccated poikilohydric mosses against photo-oxidation. *Journal of Experimental Botany*, v. 57, p. 2993-3006, 2006.
- KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). *Plant Cell Physiology*, v.34, n.5, p.713-721, 1993.
- KUDOYAROVA, G. R.; KHOLODOVA, V. P.; VESELOV, D. S. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit. *Russian Journal of Plant Physiology*, v. 60, n. 2, p. 165-175, 2013.
- LIAO, K.-L.; JONES, R.D., McCARTER, P.; TUNC-OZDEMIR, M.; DRAPER, J.A.; ELSTON, T.C.; KRAMER, D.; JONES, A.M. A shadow detector for photosynthesis efficiency. *Journal of Theoretical Biology*, v. 414, p. 231-244, 2017.
- LIN, C.; GENTINE, P.; HUANG, Y.; GUAN, K.; KIMM, H.; ZHOU, S. Diel ecosystem conductance response to vapor pressure deficit is suboptimal and independent of soil moisture. *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 250–251, p. 24-34, 2018.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, v. 51, n. 345, p. 659-668. 2000.

- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiology*, v. 22, p.867-880, 1981.
- PEDRONI, F.; SANCHEZ, M.; SANTOS, F.A.M. Fenologia da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.–Leguminosae, Caesalpinioideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v.25, p.183-194, 2002.
- PEIXOTO, H. P. P.; CAMBRAIA, J.; SANTANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A. M.; Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 11, n. 3, p. 137-43, 1999.
- RAKÍĆ, T.; GAJÍĆ, G.; LAZAREVÍĆ, M.; STEVANOVÍĆ, B. Effects of different light intensities, CO₂ concentrations, temperatures and drought stress on photosynthetic activity in two paleoendemic resurrection plant species *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*. *Environmental and Experimental Botany*, v. 109, p. 63-72, 2015.
- RAMA DEVI, S.; PRASAD, M.N.V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. *Plant Science*, v.138, p.157-65, 1998.
- RODRIGUES, A.L.; LIMA, L.; SCHLEY, T.R.; ALMEIDA, L.F.R. Water deficit ensures the photochemical efficiency of *Copaifera langsdorffii* Desf. *Revista Árvore*, in press.
- ROGORA, M.; FRATE, L.; CARRANZA, M.L.; FREPPAZ, M.; STANISCI, A.; BERTANI, I. et al., Assessment of climate change effects on mountain ecosystems through a cross-site analysis in the Alps and Apennines. *Science of the Total Environment*, v. 624, p.1429-1442, 2018.
- RONQUIM, C.C.; PRADO, C.H.B.A.; SOUZA, J.D. Growth, photosynthesis and leaf water potential in young plants of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpinaceae) under contrasting irradiances. *Brazilian Society of Plant Physiology*, v.21,n.3,p.197-208. 2009.

- SANTOS, C. M.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; FERREIRA, V. M.; CAVALCANTE, P. G. S.; ROLIM, E. V.; ENDRES, L. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. *Industrial Crops and Products*, v.41, p. 203-213, 2013.
- SAPETA, H.; COSTA, J.M.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; LINDE, P, OLIVEIRA, M.M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. *Environmental and Experimental Botany* v.85, p.76-84.2013.
- SHAO, H.-B.; CHU, L.-Y.; JALEEL, C.A.; ZHAO, C.-X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*. v. 331, p.215-225, 2008.
- SMART, R.E.; BINGHAM, G.E. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*, v. 53, p. 258-260. 1974.
- SMIRNOFF, N. Tansley Review No. 52 The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New Phytologist*, v. 125, p.27-58, 1993.
- SOFO, A.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C.; MASIA, A. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. *Plant Science*, v.166, p. 293-302, 2004.
- TIAN, Y.; UNGERER, P.; ZHANG, H.; RUBAN, A.V. Direct impact of the sustained decline in the photosystem II efficiency upon plant productivity at different developmental stages. *Journal of Plant Physiology*, v. 212, p. 45-53, 2017.
- VEIGA, E.B.; HABERMANN, G. Instantaneously measured traits may detect non-plastic ecophysiological performances in response to drought, explaining distributions of *Styrax* species in the Cerrado. *Trees*, v. 27, n. 6, p. 1737-1745.

- WALTER, J.; NAGY, L.; HEIN, R.; RASCHER, U.; BEIERKUHNLEIN, C.; WILLNER, E.; JENTSCH, A. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environmental and Experimental Botany*, v.71, p.34–40, 2011.
- WONG, S-L.; CHEN, C-W.; HUANG, H-W.; WENG, J-H. Using combined measurements for comparison of light induction of stomatal conductance, electron transport rate and CO₂ fixation in woody and fern species adapted to different light regimes. *Tree physiology*, v.32, n. 5, p. 535-44, 2012.
- ZHANG, Y.H.; CHEN, L.J.; HE, J.L.; QIAN, L.S.; WU, L.Q.; WANG, R.F. Characteristics of chlorophyll fluorescence and antioxidative system in super-hybrid rice and its parental cultivars under chilling stress. *Biologia Plantarum*. v.54, n.1, p.164-168.2010.

TABELAS

Tabela 1. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente à primeira avaliação às 9 horas da manhã, antes da reidratação (0h). Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

0h		g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i	
Tratamentos hídricos	C	76.91	5.42	0.99 a	237.0	5.47	0.029	
	EU	16.71	0.35	0.43 b	449.8	0.08	0.002	
	ER	12.75	0.71	0.40 b	364.3	1.36	0.003	
Luz	100%	43.77	3.07	0.62	347.8	3.19	0.018	
	30%	27.14	1.24	0.59	352.9	1.42	0.005	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	107.2 Aa	8.06 Aa	1.08	163.7 Bc	8.05 Aa	0.049 Aa
		EU	9.05 Ab	2.77 Ab	0.31	551.5 Aa	-1.14 Ac	-0.0002 Ab
		ER	15.10 Ab	-0.23 Ab	0.47	328.3 Ab	2.65 Ab	0.006 Ab
Luz	30%	C	46.65 Ba	0.93 Ba	0.91	310.4 Aa	2.88 Ba	0.010 Ba
		EU	24.37 Aab	1.40 Aab	0.55	348.1 Ba	1.30 Aa	0.003 Aa
		ER	10.40 Ab	0.02 Ab	0.31	400.3 Aa	0.09 Aa	0.001 Ba
Significância		T	***	***	***	**	***	**
	P	L	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	***
		T x L	**	**	n.s.	***	*	***

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0.05$, $P<0.01$ ou $P<0.001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 2. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 4 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

4h			g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i
Tratamentos hídricos		C	85.54	2.48	0.77	268.3	3.72	0.011
		EU	37.22	0.40	0.51	421.3	0.38	0.002
		ER	60.92	1.29	0.45	253.3	3.30	0.005
Luz	100%		35.22	1.57	0.62 A	348.0	2.16	0.007
	30%		87.24	1.21	0.52 B	280.6	2.78	0.005
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	62.25	4.25 Aa	1.03	250.5 Ab	4.50 Aa	0.018 Aa
		EU	6.10	-0.81 Bc	0.41	543.2 Aa	-1.58 Bb	-0.001 Bb
		ER	37.30	1.26 Ab	0.42	250.3 Ab	3.54 Aa	0.006 Ab
Luz	30%	C	108.8	0.71 Ba	0.50	286.1 Aa	2.94 Aa	0.005 Ba
		EU	68.35	1.61 Aa	0.61	299.4 Ba	2.33 Aa	0.006 Aa
		ER	84.55	1.31 Aa	0.47	256.3 Aa	3.07 Aa	0.005 Aa
Significância	P	T	n.s.	*	n.s.	**	*	*
		L	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	**	n.s.	*	*	*

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 3. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 5 h após a reidratação Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

5h			g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i
Tratamentos hídricos		C	60.84	1.91	0.68	295.8	2.92	0.007
		EU	31.12	1.13	0.37	333.0	2.56	0.005
		ER	33.26	1.92	0.55	267.9	5.25	0.009
Luz	100%		36.41	1.89	0.47	254.9 B	5.45 A	0.008
	30%		47.07	1.42	0.59	342.9 A	1.71 B	0.005
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	72.42 Aa	2.23	0.67	263.7	3.75	0.008
		EU	8.55 Bb	1.18	0.34	292.8	4.17	0.004
		ER	28.25 Ab	2.25	0.41	208.1	8.41	0.012
Luz	30%	C	49.25 Ba	1.60	0.68	327.8	2.08	0.005
		EU	53.70 Aa	1.07	0.41	373.2	0.95	0.005
		ER	38.27 Aa	1.60	0.68	327.8	2.08	0.005
Significância	P	T	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.
		T x L	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 4. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 6 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

6h			g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i
Tratamentos hídricos		C	46.76	1.83	0.67	287.0	3.15	0.007
		EU	25.26	0.66	0.39	373.5	1.22	0.002
		ER	38.65	0.62	0.38	344.8	2.60	0.005
Luz	100%		31.46	1.55	0.55	297.7	3.68	0.007
	30%		42.32	0.52	0.40	372.5	0.97	0.003
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	54.95	1.75 Aa	0.87 Aa	327.4 Aa	2.17 Ab	0.005 Ab
		EU	9.05	1.02 Aa	0.47 Ab	346.6 Aa	2.20 Ab	0.003 Ab
		ER	30.37	1.88 Aa	0.32 Ab	219.0 Ba	6.66 Aa	0.012 Aa
Luz	30%	C	38.57	1.91 Aa	0.46 Ba	246.6 Aa	4.14 Aa	0.009 Aa
		EU	41.47	0.30 Ab	0.30 Ba	400.2 Ab	0.24 Aa	0.001 Ab
		ER	46.92	-0.63 Bb	0.43 Ba	470.6 Ab	-1.47 Bb	-0.001 Bb
Significância	P	T	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.	*	*	*	**
		T x L	n.s.	*	**	**	**	*

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 5. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 24 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

24h			g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i
Tratamentos hídricos		C	39.65	2.22	0.40	287.0	6.23	0.010
		EU	45.84	1.01	0.40	336.7	2.98	0.005
		ER	51.01	2.79	0.45	239.7	6.13	0.018
Luz	100%		41.60	3.06	0.43	253.0	7.70	0.018
	30%		49.40	0.95	0.41	322.6	2.53	0.004
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	37.40	3.48 Ab	0.37	240.2 Ab	10.11 Aa	0.017 Ab
		EU	42.25	1.08 Ac	0.45	373.3 Aa	3.09 Ab	0.003 Ac
		ER	45.15	4.62 Aa	0.47	145.5 Bc	9.90 Aa	0.033 Aa
Luz	30%	C	41.90	0.95 Ba	0.43	333.8 Aa	2.36 Ba	0.003 Ba
		EU	49.42	0.93 Aa	0.36	300.0 Aa	2.86 Aa	0.007 Aa
		ER	56.87	0.95 Ba	0.43	333.8 Aa	2.36 Ba	0.003 Ba
Significância	P	T	n.s.	***	n.s.	*	*	***
		L	n.s.	**	n.s.	n.s.	*	**
		T x L	n.s.	**	n.s.	**	***	**

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 6. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 48 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

48h			g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i
Tratamentos hídricos		C	59.14	2.62 ab	0.69 a	256.0 ab	4.51	0.014
		EU	61.70	1.48 b	0.42 b	299.5 a	3.26	0.006
		ER	51.15	3.55 a	0.52 ab	227.3 b	7.52	0.027
Luz	100%		68.87 A	3.88 A	0.51	192.5 B	8.32	0.026
	30%		45.79 B	1.21 B	0.57	329.4 A	1.88	0.005
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	82.90	4.27	0.61	169.6	7.72 Ab	0.024 Ab
		EU	73.42	2.07	0.50	284.1	4.47 Ac	0.007 Ac
		ER	50.27	5.30	0.43	123.7	12.75 Aa	0.046 Aa
Luz	30%	C	35.37	0.96	0.77	342.5	1.29 Ba	0.003 Ba
		EU	49.97	0.89	0.34	314.9	2.05 Aa	0.004 Aa
		ER	52.02	1.79	0.60	330.9	2.30 Ba	0.007 Ba
Significância	P	T	n.s.	**	*	*	***	**
		L	*	*	n.s.	*	**	**
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	**

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 7. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 96 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

96h			g_s	A	E	C_i	EUA	A/C_i
Tratamentos hídricos		C	77.55 ab	2.15 b	0.53	249.0 ab	4.46 ab	0.009
		EU	57.09 b	1.68 b	0.66	329.0 a	2.46 b	0.004
		ER	83.96 a	3.55 a	0.58	191.1 b	5.83 a	0.022
Luz	100%		83.66	3.45 A	0.67	251.0	5.01	0.017
	30%		62.07	1.47 B	0.51	261.9	3.49	0.006
Tratamentos hídricos	100%	C	92.47	2.76	0.48	234.9	5.78	0.012 Ab
		EU	59.25	2.38	0.76	366.4	2.28	0.004 Ab
		ER	99.25	5.21	0.78	151.4	6.96	0.034 Aa
Luz	30%	C	62.62	1.54	0.59	263.2	3.14	0.006 Aa
		EU	54.92	0.98	0.55	291.7	2.64	0.004 Aa
		ER	68.67	1.90	0.38	230.8	4.70	0.009 Ba
Significância	P	T	*	**	n.s.	**	**	***
		L	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	**
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 8. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente à primeira avaliação às 9 horas da manhã, antes da reidratação (0h). Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

		0h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos hídricos		C	87.73 a	-3.60 a
		EU	76.70 b	-7.34 b
		ER	85.24 ab	-4.43 a
Luz		100%	78.75	-4.60
		30%	87.70	-5.65
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	81.87	-3.60
		EU	71.84	-6.54
		ER	82.55	-3.65
Luz	30%	C	93.59	-3.59
		EU	81.57	-8.13
		ER	87.93	-5.21
Significância	<i>P</i>	T	*	**
		L	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 9. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente às 4h após a reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

		4h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos hídricos		C	81.81	-2.60
		EU	78.95	-4.20
		ER	81.00	-3.80
Luz		100%	83.19 A	-3.73
		30%	77.98 B	-3.34
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	86.65	-2.77
		EU	77.69	-4.66
		ER	85.22	-3.75
Luz	30%	C	76.96	-2.43
		EU	80.19	-3.74
		ER	76.78	-3.86
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	*	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade.

Tabela 10. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente às 5h após a reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

5h			CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos hídricos		C	80.47	-3.47
		EU	84.19	3.78
		ER	82.30	-3.10
Luz	100%		83.93	-3.15
	30%		80.71	-3.75
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	78.72 Ab	-3.66 Aa
		EU	83.81 Aab	-2.61 Aa
		ER	89.26 Aa	-3.19 Aa
	30%	C	82.22 Aab	-3.29 Aab
		EU	84.57 Aa	-4.94 Bb
		ER	75.35 Bb	-3.01 Aa
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.
		T x L	**	*

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 11. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente à 6h após a reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

6h			CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos hídricos		C	82.67	-2.72 a
		EU	77.32	-3.26 ab
		ER	85.81	-4.00 b
Luz	100%		83.35	-3.05
	30%		80.52	-3.61
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	83.21 Ab	-2.625
		EU	75.73 Ac	-3.03
		ER	91.12 Aa	-3.50
	30%	C	82.13 Aa	-2.82
		EU	78.91 Aa	-3.50
		ER	80.50 Ba	-4.49
Significância	<i>P</i>	T	*	*
		L	n.s.	n.s.
		T x L	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 12. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente às 24h após a reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

		24h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos hídricos		C	86.41	-3.01
		EU	87.19	-3.27
		ER	87.03	-3.30
Luz		100%	86.93	-3.24
		30%	86.82	-3.15
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	82.78 Bb	-3.14
		EU	88.28 Aab	-3.44
		ER	89.72 Aa	-3.13
Luz	30%	C	90.04 Aa	-2.88
		EU	86.08 Aa	-3.09
		ER	84.34 Ba	-3.47
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.
		T x L	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 13. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente à 48h após a reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% de 30% de luz.

		48h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos hídricos		C	84.52	-2.17
		EU	86.67	-3.32
		ER	83.23	-2.62
Luz		100%	87.41	-2.66
		30%	82.20	-2.76
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	88.28	-2.58 Aa
		EU	88.41	-2.80 Aa
		ER	85.52	-2.59 Aa
Luz	30%	C	80.76	-1.77 Aa
		EU	84.92	-3.85 Bb
		ER	80.92	-2.66 Aa
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	*
		L	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	*

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 14. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente às 96h após a reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

96h			CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos		C	79.59	-2.56
		EU	82.20	-3.43
		ER	83.68	-3.15
Luz	100%		82.06	-2.97
	30%		81.59	-3.12
Tratamentos x Luz	100%	C	79.22	-2.67
		EU	82.16	-3.36
		ER	84.80	-2.88
	30%	C	79.96	-2.45
		EU	82.25	-3.49
		ER	82.55	-3.41
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P < 0,05$) para comparar se houve interação. n.s.: não significativo.

Tabela 15. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente à primeira avaliação às 9 horas da manhã, antes da reidratação (0h). Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

0h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.066	40.92	0.118	1.341 a	157.0 b	538.5 ab	0.710 a	0.522	0.481	0.452
	EU		0.038	23.57	0.068	0.585 b	164.4 ab	470.6 b	0.592 b	0.503	0.518	0.456
	ER		0.026	15.76	0.051	0.865 ab	210.9 a	617.4 a	0.655 ab	0.526	0.486	0.484
Luz	100%		0.061	37.37	0.110 A	0.932	141.5 B	423.7 B	0.634	0.512	0.514	0.431
	30%		0.026	16.14	0.048 B	0.928	213.3 A	660.6 A	0.671	0.522	0.477	0.497
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.110 Aa	68.12 Aa	0.196	1.810	110.0	444.2	0.745	0.505	0.497	0.392
		EU	0.048 Ab	29.80 Ab	0.086	0.265	133.7	317.5	0.509	0.481	0.567	0.409
		ER	0.025 Ab	14.17 Ab	0.046	0.722	180.7	509.5	0.648	0.552	0.477	0.492
	30%	C	0.022 Ba	13.72 Ba	0.039	0.872	204.0	632.7	0.675	0.540	0.466	0.512
		EU	0.027 Aa	17.35 Aa	0.050	0.904	195.0	623.7	0.675	0.526	0.470	0.502
		ER	0.027 Aa	17.35 Aa	0.055	1.009	241.0	725.2	0.662	0.500	0.495	0.477
Significância	P	T	*	**	n.s.	*	*	*	**	n.s.	n.s.	n.s.
		L	*	**	*	n.s.	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 16. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 4h após a reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

4h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.083	53.32	0.164	0.819	155.6	444.2	0.650 ab	0.514 ab	0.494	0.424
	EU		0.042	23.89	0.096	0.516	171.0	381.9	0.519 b	0.423 b	0.583	0.371
	ER		0.040	25.07	0.075	0.555	174.5	512.6	0.657 a	0.565 a	0.441	0.510
Luz	100%		0.063	38.86	0.123	0.520	134.0	387.6 B	0.627	0.532	0.479	0.449
	30%		0.046	29.33	0.101	0.740	200.1	504.9 A	0.591	0.469	0.533	0.420
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.123 Aa	78.87 Aa	0.234 Aa	0.908	117.5	414.5	0.720	0.569	0.448	0.432
		EU	0.039 Ab	18.92 Ab	0.084 Ab	0.259	127.0	272.5	0.492	0.425	0.585	0.369
		ER	0.030 Ab	18.77 Ab	0.050 Ab	0.393	157.5	475.7	0.667	0.603	0.405	0.547
	30%	C	0.044 Ba	27.77 Ba	0.094 Ba	0.729	193.7	474.0	0.580	0.459	0.541	0.415
		EU	0.046 Aa	28.85 Aa	0.108 Aa	0.774	215.0	491.2	0.546	0.420	0.581	0.373
		ER	0.050 Aa	31.37 Aa	0.101 Aa	0.717	191.5	549.5	0.646	0.528	0.478	0.473
Significância	P	T	**	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	***	***	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 17. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 5h após a reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

5h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.062	39.19	0.110	0.675	149.4	425.5	0.644	0.538	0.470	0.470
	EU		0.043	24.77	0.097	0.570	170.9	490.1	0.620	0.519	0.484	0.473
	ER		0.039	23.66	0.069	0.700	193.1	602.4	0.666	0.549	0.451	0.508
Luz	100%		0.061	36.12	0.118	0.527	135.7 B	409.5	0.644	0.549	0.455	0.484
	30%		0.035	22.29	0.067	0.769	206.6 A	602.5	0.642	0.520	0.481	0.484
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.109 Aa	68.42 Aa	0.187 Aa	0.921 Aa	111.7	409.0 Aab	0.719 Aa	0.596	0.423 Ba	0.473
		EU	0.040 Ab	20.37 Ab	0.113 Aab	0.233 Bb	131.0	311.2 Bb	0.554 Bb	0.482	0.516 Aa	0.443
		ER	0.035 Ab	19.57 Ab	0.054 Ab	0.427 Aab	164.2	508.2 Ba	0.659 Aab	0.574	0.427 Aa	0.534
	30%	C	0.016 Ba	9.95 Ba	0.033 Ba	0.429 Aa	187.0	442.0 Ab	0.568 Bb	0.481	0.518 Aa	0.467
		EU	0.046 Aa	29.17 Aa	0.082 Aa	0.906 Aa	210.7	669.0 Aa	0.686 Aa	0.556	0.451 Aa	0.503
		ER	0.044 Aa	27.75 Aa	0.084 Aa	0.973 Aa	222.0	696.5 Aa	0.673 Aab	0.524	0.475 Aa	0.481
Significância	P	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	*	*	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	***	***	*	**	n.s.	*	**	n.s.	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação. Teste Fisher (LSD) em NPQ. *, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 18. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 6h após a reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

6h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.059	38.71 a	0.106	0.783 a	145.2 c	477.1	0.677 a	0.565	0.441	0.500
	EU		0.026	14.01 b	0.073	0.425 b	215.5 a	492.0	0.550 b	0.466	0.533	0.441
	ER		0.029	16.14 b	0.043	0.422 b	175.4 b	497.9	0.643 ab	0.554	0.438	0.534
Luz	100%		0.055 A	33.07 A	0.108 A	0.543	131.7 B	429.4	0.665 A	0.579 A	0.425 B	0.521 A
	30%		0.020 B	12.83 B	0.040 B	0.544	225.6 A	548.6	0.581 B	0.478 B	0.516 A	0.463 B
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.077	52.22	0.134	0.845	113.2	449.7 Aab	0.740	0.628	0.380	0.544
		EU	0.047	23.59	0.131	0.303	144.6	351.6 Bb	0.552	0.476	0.513	0.442
		ER	0.044	23.41	0.058	0.481	137.4	486.9 Aa	0.703	0.632	0.384	0.575
	30%	C	0.040	25.20	0.078	0.722	177.2	504.5 Aa	0.613	0.502	0.503	0.457
		EU	0.007	4.43	0.014	0.547	286.3	632.3 Aa	0.548	0.456	0.553	0.440
		ER	0.014	8.87	0.028	0.362	213.3	509.0 Aa	0.583	0.477	0.493	0.493
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	**	n.s.	*	***	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
		L	**	**	*	n.s.	*	*	*	**	**	**
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação. Teste Fisher (LSD) em F_M . *, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 19. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 24h após a reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.eletrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

24h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.047	28.07	0.081	0.704	149.0	520.9	0.716	0.616	0.386	0.565
	EU		0.047	27.36	0.077	0.660	159.4	459.5	0.653	0.558	0.449	0.503
	ER		0.043	27.32	0.076	0.755	149.4	510.2	0.702	0.588	0.414	0.544
Luz	100%		0.045	26.00	0.076	0.640	162.0	494.3	0.678	0.593	0.416	0.536
	30%		0.046	29.17	0.080	0.773	143.2	499.3	0.702	0.581	0.416	0.538
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.071 Aa	41.65 Aa	0.126 Aa	0.970	145.2	543.7	0.741	0.630	0.385	0.539
		EU	0.034 Ba	17.35 Bb	0.048 Bb	0.513	181.7	463.2	0.626	0.557	0.455	0.508
		ER	0.029 Bb	18.99 Bb	0.054 Ab	0.437	159.0	476.1	0.669	0.592	0.409	0.562
	30%	C	0.023 Bb	14.50 Bb	0.038 Bb	0.438	152.7	498.0	0.692	0.601	0.386	0.590
		EU	0.059 Aa	37.37 Aa	0.106 Aa	0.808	137.0	455.7	0.679	0.559	0.443	0.498
		ER	0.056 Aab	35.65 Aab	0.098 Aa	1.074	139.7	544.2	0.735	0.583	0.418	0.525
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	**	**	***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação. Teste Fisher (LSD) em ETR. *, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 20. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 48h após a reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.eletrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

48h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.068	31.95	0.111	0.821	181.3	567.6	0.670	0.536	0.465	0.467
	EU		0.054	29.36	0.098	0.610	208.0	572.4	0.604	0.508	0.496	0.463
	ER		0.033	21.21	0.066	0.873	184.1	552.2	0.653	0.511	0.488	0.480
Luz	100%		0.074 A	36.77	0.130	0.654	200.2	508.1	0.590	0.477	0.526	0.409
	30%		0.029 B	18.25	0.053	0.882	182.1	620.1	0.696	0.559	0.440	0.532
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.121	54.4	0.197 Aa	0.907	176.2	479.5	0.632 Aa	0.486 Bab	0.520 Aab	0.358 Bb
		EU	0.073	36.77	0.141 Aab	0.424	257.0	504.2	0.457 Bb	0.384 Bb	0.626 Aa	0.328 Bb
		ER	0.028	19.10	0.053 Ab	0.632	167.2	540.5	0.679 Aa	0.562 Aa	0.432 Bb	0.541 Aa
	30%	C	0.015	9.47	0.026 Ba	0.734	186.3	655.7	0.708 Aa	0.585 Aa	0.410 Bb	0.575 Aa
		EU	0.035	21.95	0.055 Aa	0.796	159.0	640.5	0.751 Aa	0.632 Aa	0.367 Bb	0.599 Aa
		ER	0.037	23.32	0.079 Aa	1.114	201.0	564.0	0.628 Aa	0.459 Bb	0.543 Aa	0.420 Bb
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
		L	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	**	**	**
		T x L	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	**	**	***

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 21. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 96h após a reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.eletrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

96h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos hídricos	C		0.056	32.83	0.092	1.179 a	163.4	604.4	0.735 a	0.575	0.431	0.513
	EU		0.052	27.06	0.077	0.655 b	215.5	565.0	0.630 b	0.543	0.482	0.473
	ER		0.063	32.56	0.103	0.951 ab	197.0	637.9	0.678 b	0.530	0.471	0.468
Luz	100%		0.081 A	40.74	0.122	0.892	187.2	520.3 B	0.651	0.527	0.490 A	0.435 B
	30%		0.033 B	20.90	0.058	0.964	196.8	684.5 A	0.712	0.572	0.432 B	0.535 A
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	0.088	50.30	0.141	1.206	142.2	514.5	0.733	0.582 Aa	0.429	0.483
		EU	0.069	32.02	0.095	0.635	232.7	485.7	0.570	0.495 Bb	0.550	0.395
		ER	0.086	39.90	0.131	0.836	186.5	560.7	0.649	0.504 Bab	0.493	0.426
	30%	C	0.024	15.37	0.043	1.152	184.7	694.3	0.737	0.569 Aa	0.433	0.543
		EU	0.035	22.10	0.059	0.675	198.3	644.3	0.691	0.591 Aa	0.415	0.550
		ER	0.040	25.22	0.074	1.066	207.5	715.0	0.707	0.555 Aa	0.449	0.511
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.
		L	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	*	**	*
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguindo pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 22. Média ($n=4$) dos dados de sinalização química do estresse referente à primeira avaliação às 9 horas da manhã, antes da reidratação (0h). Superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} proteína), peroxidase (POD, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$), ascorbato peroxidase (APX, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) e peroxidação lipídica (nmol/g de massa fresca). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

0h			SOD	POD	APX	Peroxidação
Tratamentos hídricos		C	217.0	498.0	15.63	32.69
		EU	269.9	840.0	27.50	48.06
		ER	386.9	902.6	18.02	43.15
Luz	100%		97.34 B	196.2 B	7.48	36.82
	30%		485.2 A	1297.6 A	33.29	45.77
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	57.12	156.5	4.36	34.02
		EU	71.4	196.2	7.40	40.44
		ER	163.5	235.6	10.69	36.01
Luz	30%	C	376.9	839.5	26.91	31.36
		EU	468.4	1483.7	47.59	55.67
		ER	610.4	1569.6	25.36	50.28
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	*	*	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade.

Tabela 23. Média ($n=4$) dos dados de sinalização química do estresse referente às 4h de reidratação. Superóxido dismutase (SOD, U mg⁻¹proteína), peroxidase (POD, µKat µg Prot⁻¹), ascorbato peroxidase (APX, µKat µg Prot⁻¹) e peroxidação lipídica (nmol/g de massa fresca). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

4h		SOD	POD	APX	Peroxidação	
Tratamentos hídricos	C	267.6	1402.5	15.41	37.72	
	EU	140.9	261.0	6.12	36.00	
	ER	308.6	973.6	6.68	39.00	
Luz	100%	85.2 B	225.7 B	5.65	32.24	
	30%	392.9 A	1532.4 A	13.16	42.90	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	49.2	137.3	2.87 Ba	31.73
		EU	92.6	279.6	5.61 Aa	29.44
		ER	113.7	260.2	8.47 Aa	35.55
Luz	30%	C	486.0	2667.7	27.96 Aa	43.71
		EU	189.1	242.4	6.62 Ab	42.57
		ER	503.6	1687.0	4.90 Ab	42.44
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	*	n.s.
		L	**	*	*	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T × L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 24. Média ($n=4$) dos dados de sinalização química do estresse referente às 6h de reidratação. Superóxido dismutase (SOD, U mg⁻¹proteína), peroxidase (POD, µKat µg Prot⁻¹), ascorbato peroxidase (APX, µKat µg Prot⁻¹) e peroxidação lipídica (nmol/g de massa fresca). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

6h		SOD	POD	APX	Peroxidação	
Tratamentos hídricos	C	470.0	698.3	62.50	37.00	
	EU	253.6	1385.2	34.09	31.39	
	ER	379.5	1887.5	26.56	33.88	
Luz	100%	80.1	255.4	14.64	33.84	
	30%	655.2	2391.9	67.46	34.35	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	69.0 Ba	274.3	25.37	33.58
		EU	81.4 Ba	187.4	7.88	32.42
		ER	90.0 Ba	304.6	10.67	35.51
Luz	30%	C	870.9 Aa	1122.4	99.62	40.43
		EU	425.8 Ab	2583.0	60.30	30.37
		ER	669.0 Aa	3470.4	42.44	32.24
Significância	<i>P</i>	T	*	n.s.	n.s.	n.s.
		L	**	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	*	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T × L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 25. Média ($n=4$) dos dados de sinalização química do estresse referente às 24h de reidratação. Superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} proteína), peroxidase (POD, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$), ascorbato peroxidase (APX, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) e peroxidação lipídica (nmol/g de massa fresca). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

24h		SOD	POD	APX	Peroxidação	
Tratamentos hídricos	C	771.6	3618.6	24.06	30.46	
	EU	165.5	381.9	10.62	31.25	
	ER	245.9	782.9	21.79	30.89	
Luz	100%	81.2	220.0	7.77	26.50	
	30%	707.5	2968.9	29.88	35.23	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	52.8 Ba	226.2 Ba	4.88	23.39
		EU	74.3 Aa	213.9 Aa	5.43	29.03
		ER	116.6 Aa	219.9 Aa	13.00	27.10
Luz	30%	C	1490.5 Aa	7010.9 Aa	43.24	37.54
		EU	256.8 Ab	549.7 Ab	15.82	33.48
		ER	375.2 Ab	1345.8 Ab	30.58	34.67
Significância	<i>P</i>	T	*	*	n.s.	n.s.
		L	*	*	n.s.	n.s.
		T x L	*	*	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 26. Média ($n=4$) dos dados de sinalização química do estresse referente às 48h de reidratação. Superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} proteína), peroxidase (POD, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$), ascorbato peroxidase (APX, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) e peroxidação lipídica (nmol/g de massa fresca). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

48h		SOD	POD	APX	Peroxidação	
Tratamentos hídricos	C	483.8	955.7	29.41	37.02	
	EU	375.7	759.9	21.86	38.44	
	ER	251.6	1201.9	21.38	36.59	
Luz	100%	94.5 B	214.5 B	9.75 B	36.64	
	30%	646.2 A	1730.5 A	38.69 A	38.06	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	72.5	173.5	12.21	35.60
		EU	115.5	201.0	8.49	40.54
		ER	95.5	269.0	8.55	33.78
Luz	30%	C	895.1	1737.9	46.62	38.45
		EU	635.8	1318.7	35.23	36.34
		ER	407.7	2134.8	34.22	39.39
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	***	**	*	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Tabela 27. Média ($n=4$) dos dados de sinalização química do estresse referente às 96h de reidratação. Superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} proteína), peroxidase (POD, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$), ascorbato peroxidase (APX, $\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) e peroxidação lipídica (nmol/g de massa fresca). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

96h		SOD	POD	APX	Peroxidação	
Tratamentos hídricos	C	303.8	1414.9	25.25	43.33 a	
	EU	245.4	1290.4	13.45	33.64 b	
	ER	389.4	733.5	19.91	34.56 b	
Luz	100%	93.7 B	231.7 A	4.64	35.07 B	
	30%	532.0 A	2060.9 A	34.43	39.28 A	
Tratamentos hídricos x Luz	100%	C	81.3	200.3	4.82	39.22
		EU	74.5	299.5	5.49	34.48
		ER	125.3	195.2	3.62	31.50
Luz	30%	C	526.3	2629.6	45.68	47.45
		EU	416.3	2281.3	21.40	32.79
		ER	653.6	1271.8	36.20	37.61
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.	n.s.	*
		L	**	*	n.s.	*
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Figuras

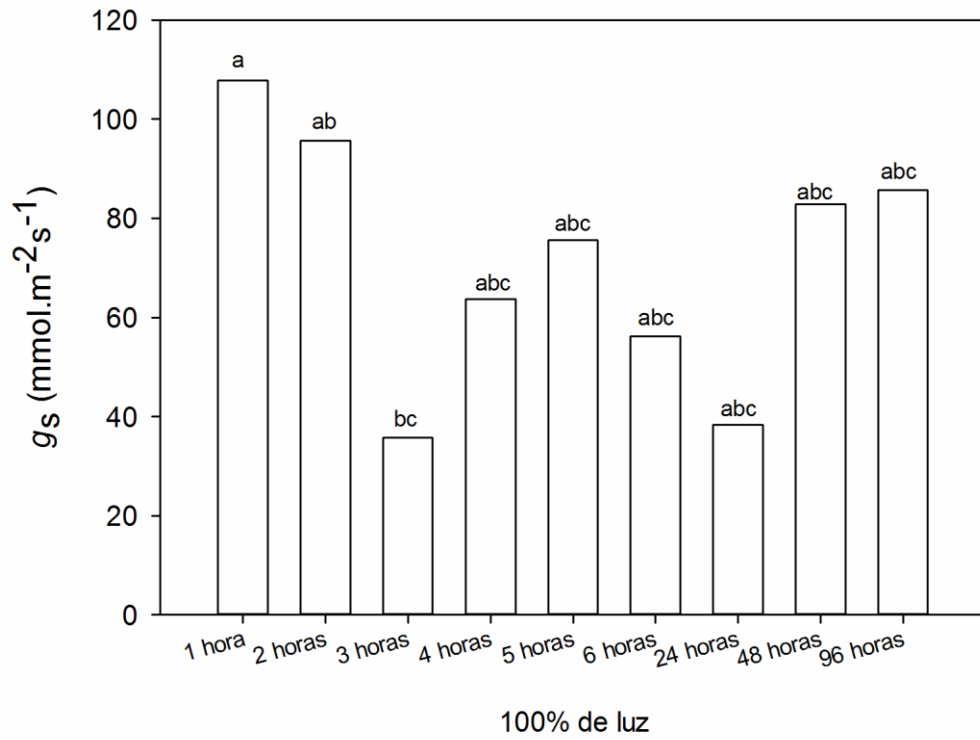


Figura 1. Análise estatística para verificar as alterações de g_s ($\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) no tratamento controle a 100% de luz de acordo com as horas do dia (ANOVA um fator com medidas repetidas, seguido por Tukey 5%).

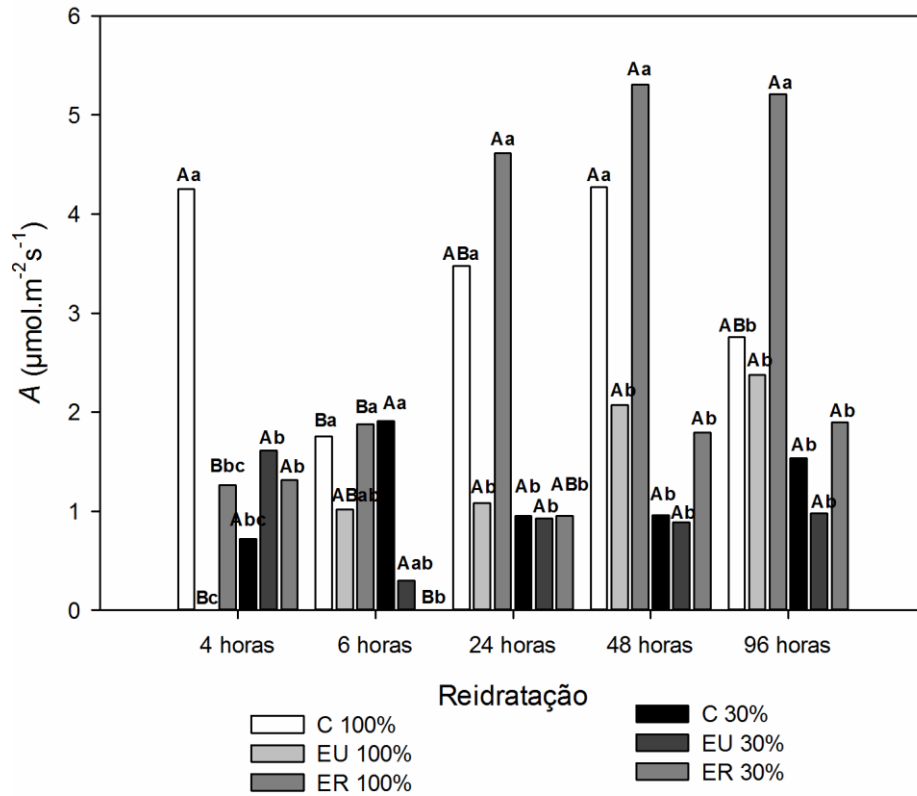


Figura 2. Análise estatística referente à assimilação de carbono ($A - \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para verificar a interação entre os fatores tratamento x luz (ANOVA dois fatores) e posterior teste Tukey (%5) durante a reidratação. Dados referentes às médias ($n=4$). **T1**: controle; **T2**: estresse único; **T3**: estresse hídrico recorrente; nas situações de **100%** e **30% de luz**. Letras maiúsculas entre horas. Letras minúsculas entre tratamentos.

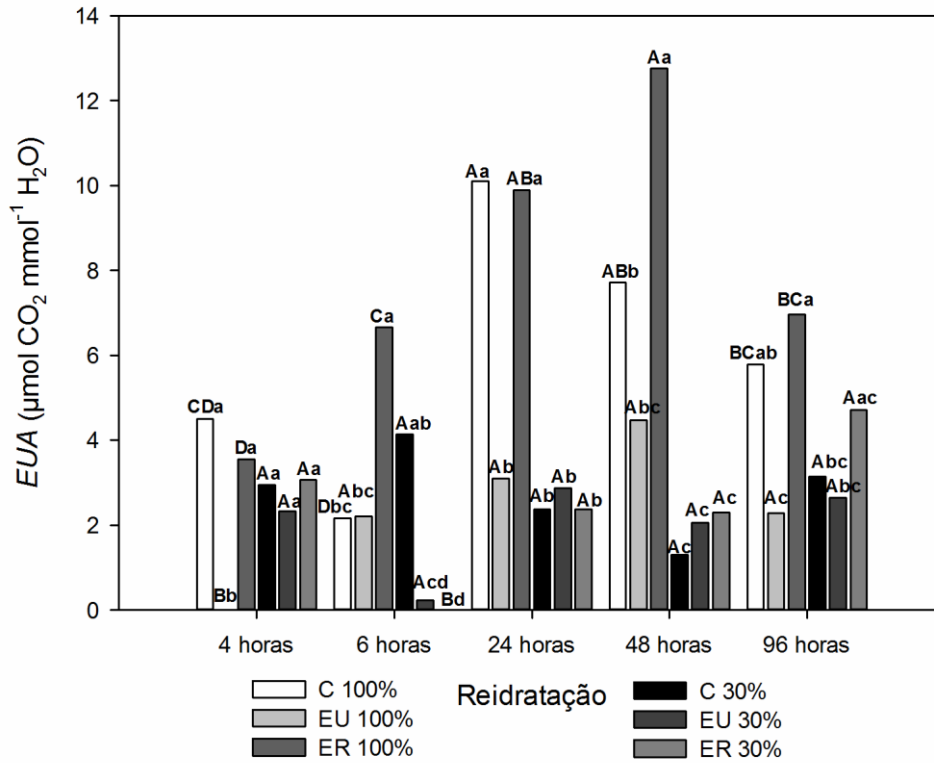


Figura 3. Análise estatística referente à eficiência no uso da água (*EUA* – $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) para verificar a interação entre os fatores tratamento x luz (ANOVA dois fatores) e posterior teste Tukey (%5) durante a reidratação. Dados referentes às médias ($n=4$). **C:** controle; **EU:** estresse único; **ER:** estresse hídrico recorrente; nas situações de **100%** e **30% de luz**. Letras maiúsculas diferenciam entre horas. Letras minúsculas entre tratamentos.

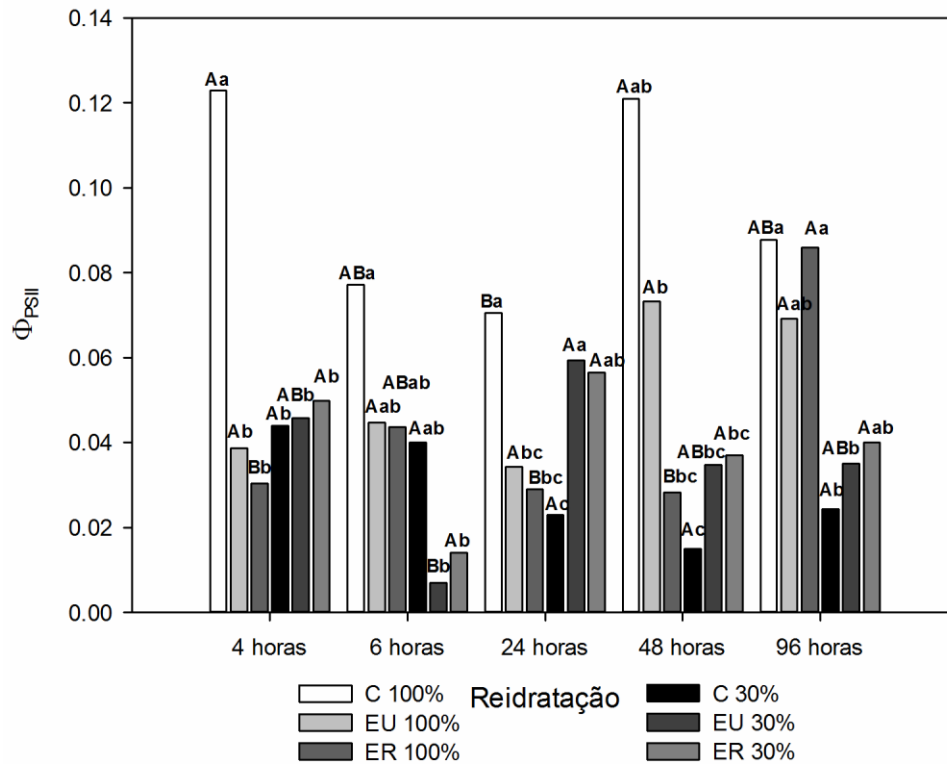


Figura 4. Análise estatística referente ao rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ_{PSII}) para verificar a interação entre os fatores tratamento x luz (ANOVA dois fatores) e posterior teste Tukey (%5) durante a reidratação. Quando a precisão do teste Tukey não indicou a diferença apontada pelo ANOVA de dois fatores, foi realizado teste Fisher (LSD) às 24 horas de reidratação. Dados referentes às médias ($n=4$). **C**: controle; **EU**: estresse único; **ER**: estresse hídrico recorrente; nas situações de **100%** e **30% de luz**. Letras maiúsculas diferença entre horas. Letras minúsculas entre tratamentos

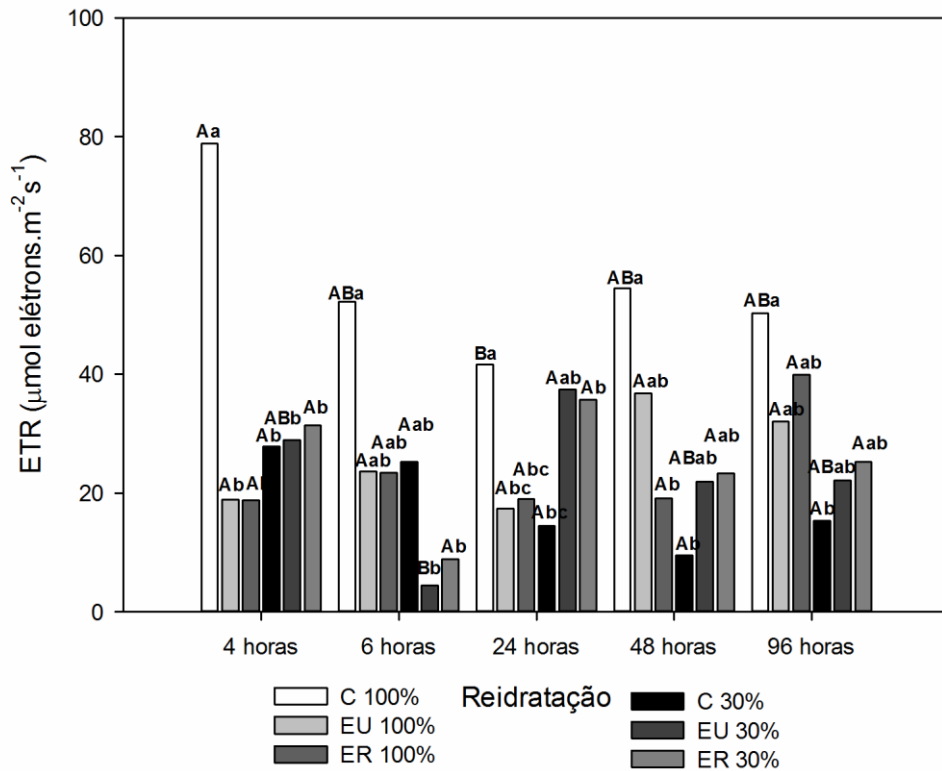


Figura 5. Análise estatística referente à taxa de transporte de elétrons (**ETR** – $\mu\text{mol elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para verificar a interação entre os fatores tratamento x luz (ANOVA dois fatores) e posterior teste Tukey (5%) durante a reidratação. Quando a precisão do teste Tukey não indicou a diferença apontada pelo ANOVA de dois fatores, foi realizado teste Fisher (LSD) às 24 horas de reidratação. Dados referentes às médias ($n=4$). **C**: controle; **EU**: estresse único; **ER**: estresse hídrico recorrente; nas situações de **100%** e **30% de luz**. Letras maiúsculas diferença entre horas. Letras minúsculas entre tratamentos

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Copaifera langsdorffii apresentou respostas relevantes no estudo de espécies nativas expostas a ambientes com eventos extremos de seca e maior intensidade luminosa. Quando submetidas ao estresse recorrente folhas de *C. langsdorffii* exibiram maior comprimento dos folíolos, espessura do parênquima paliçádico e área do lume dos elementos de vaso como marca do estresse hídrico anterior que facilitaram a captação de luz e o transporte de água. Esses dados reforçam a capacidade da espécie se adaptar em locais com diferentes condições hídricas e de luminosidade contrastante, o que ajuda na ampla distribuição da espécie.

A seca de forma recorrente aumentou as taxas de trocas gasosas, principalmente na assimilação de carbono, eficiência no uso da água e eficiência da carboxilação. Entretanto, plantas que foram submetidas ao estresse único apresentaram menores valores de trocas gasosas ao longo da reidratação ocasionando em menor acúmulo de fotoassimilados.

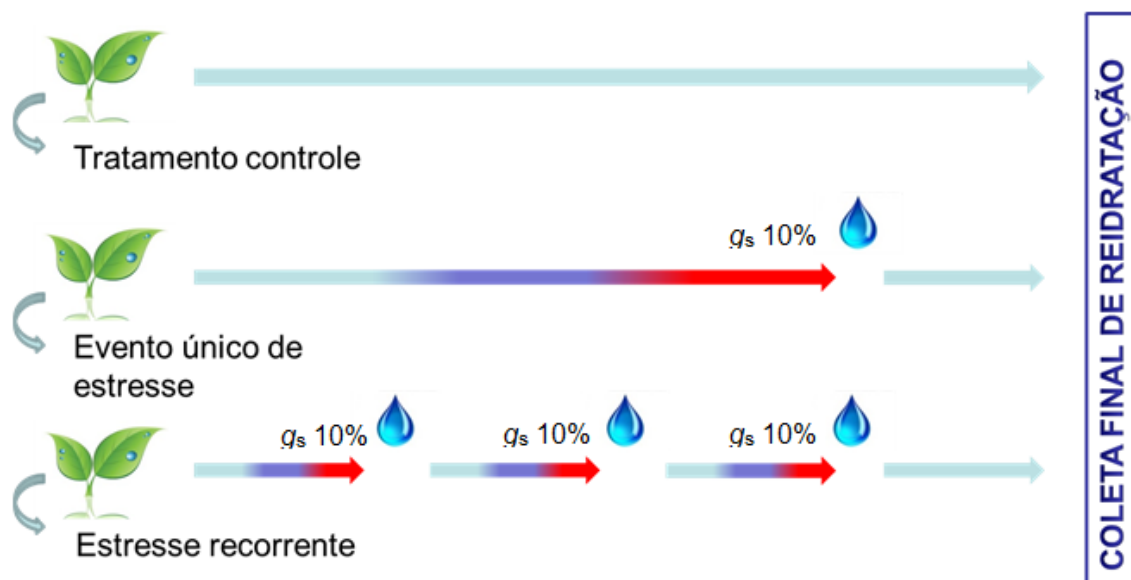
No entanto, mesmo com o aumento nas taxas de trocas gasosas, não garantiu proteção das plantas aos danos fotoquímicos, visto que ambos os grupos submetidos ao estresse hídrico (único e recorrente) exibiram perdas acumuladas na etapa fotoquímica mesmo após a reidratação na condição máxima de luz, conseqüentemente não exibiram total eficiência da captação da energia luminosa ativando mecanismos de dissipação de energia térmica e fluorescente.

Desta maneira, levando em consideração ao hábito semidecíduo da espécie na época de estiagem, os possíveis danos impressos nas folhas como consequência da seca recorrente serão eliminados com a renovação foliar com o retorno do período de chuva. Como a espécie está presente em diversos ambientes de luminosidade contrastante, podemos destacar que plantas de *C. langsdorffii* quando na menor condição de luz, são mais sensíveis aos danos causados pela seca, apresentando maiores mecanismos de defesas antioxidantes mesmo depois de reidratadas. Portanto, a condição luminosa interfere na aclimação e distribuição da

espécie, pois *C. langsdorffii* apresentou marcas dos estresses anteriores que irão assegurar o melhor estabelecimento e desenvolvimento.

APÊNDICES

Apêndice 1. Esquema do delineamento experimental dos tratamentos submetidos à deficiência hídrica nas duas condições de luminosidade



Apêndice 2. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente a 1 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

1h			g_s	A	E	C_i	A/E	A/C_i
Tratamentos		C	102.2 a	2.92	0.76 a	268.1	3.73 a	0.016
		EU	9.79 b	0.45	0.44 ab	394.5	0.74 b	0.002
		ER	15.59 b	0.80	0.35 b	383.8	1.71 b	0.003
Luz	100%		47.42	2.53	0.58	275.3	4.78 A	0.013
	30%		37.66	0.26	0.45	422.4	-0.66 B	0.001
Tratamentos x Luz	100%	C	109.1	5.09 Aa	0.97	175.0 Bb	6.39	0.029 Aa
		EU	6.87	0.50 Ab	0.33	366.9 Aa	2.27	0.001 Ab
		ER	26.30	2.00 Ab	0.44	283.9 Bab	5.69	0.007 Ab
Luz	30%	C	95.40	0.76 Ba	0.55	361.2 Ab	1.08	0.002 Ba
		EU	12.70	0.41 Aa	0.55	422.1 Aab	-0.80	0.002 Aa
		ER	4.87	-0.40 Ba	0.25	483.8 Aa	-2.27	-0.001 Ba
Significância	P	T	***	***	*	*	**	***
		L	n.s.	*	n.s.	*	**	*
		T x L	n.s.	*	n.s.	*	n.s.	***

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Apêndice 3. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 2 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

2h			g_s	A	E	C_i	A/E	A/C_i
Tratamentos		C	90.83 a	2.28	0.51	262.4 b	4.32	0.010
		EU	9.73 b	0.47	0.37	385.7 a	1.98	0.005
		ER	41.07 ab	1.04	0.39	308.7 ab	2.38	0.003
Luz	100%		39.41	1.74	0.45	332.9	3.57	0.007
	30%		55.02	0.78	0.39	304.9	2.22	0.005
Tratamentos x Luz	100%	C	88.85	3.82 Aa	0.67 Aa	243.3	5.92	0.017
		EU	6.85	-0.10 Ac	0.31 Ab	474.0	1.47	-0.001
		ER	22.52	1.51 Ab	0.38 Ab	281.5	3.32	0.005
	30%	C	92.82	0.73 Ba	0.35 Ba	281.4	2.72	0.003
		EU	12.62	1.03 Aa	0.42 Aa	297.4	2.50	0.011
		ER	59.62	0.58 Aa	0.40 Aa	336.0	1.45	0.002
Significância	P	T	*	*	n.s.	*	n.s.	n.s.
		L	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	**	*	n.s.	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Apêndice 4. Média ($n=4$) dos dados de trocas gasosas referente às 3 h após a reidratação. Condutância estomática (g_s , $\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

3h			g_s	A	E	C_i	A/E	A/C_i
Tratamentos		C	49.61	2.18	0.72	252.2 b	3.77	0.009 a
		EU	30.47	0.68	0.56	362.8 a	0.92	0.002 b
		ER	52.42	1.52	0.50	277.0 b	4.73	0.007 ab
Luz	100%		23.27 B	1.39	0.49	316.5	3.80	0.005
	30%		65.07 A	1.53	0.70	278.1	2.48	0.007
Tratamentos x Luz	100%	C	35.17	2.66	0.76	254.7	4.46 Aa	0.011
		EU	6.47	0.16	0.37	390.6	0.55 Ab	0.0003
		ER	28.15	1.35	0.33	304.3	6.38 Aa	0.005
Luz	30%	C	64.05	1.69	0.67	249.7	3.07 Aa	0.008
		EU	54.47	1.20	0.75	334.9	1.29 Aa	0.005
		ER	76.70	1.69	0.67	249.7	3.07 Ba	0.008
Significância	P	T	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	*
		L	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T \times L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Apêndice 5. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente a 1 h de reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

		1h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos		C	84.71	-3.51
		EU	77.21	-4.76
		ER	78.22	-3.40
Luz		100%	84.13	-3.74
		30%	75.97	-4.03
Tratamentos x Luz	100%	C	85.78	-3.87
		EU	82.00	-4.59
		ER	84.60	-2.76
Luz	30%	C	83.65	-3.15
		EU	72.42	-4.91
		ER	71.84	-4.03
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade.

Apêndice 6. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente às 2 h de reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

		2h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos		C	83.49	-2.66
		EU	81.79	-3.70
		ER	83.16	-3.54
Luz		100%	85.26 A	-2.92
		30%	80.36 B	-3.68
Tratamentos x Luz	100%	C	84.33	-2.29
		EU	85.69	-2.76
		ER	85.77	-3.70
Luz	30%	C	82.65	-3.03
		EU	77.89	-4.63
		ER	80.56	-3.38
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	*	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade

Apêndice 7. Média ($n=4$) dos dados de relações hídricas referente às 2 h de reidratação. Conteúdo relativo de água (CRA, %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{H_2O} , MPa). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

		3h	CRA	Ψ_{H_2O}
Tratamentos		C	79.00	-3.17
		EU	79.67	-3.47
		ER	83.56	-3.83
Luz		100%	84.27	-3.42
		30%	77.22	-3.56
Tratamentos x Luz	100%	C	83.02	-4.07
		EU	83.24	-3.04
		ER	86.54	-3.14
Luz	30%	C	74.97	-2.26
		EU	76.10	-3.90
		ER	80.59	-4.51
Significância	<i>P</i>	T	n.s.	n.s.
		L	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade.

Apêndice 8. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente a 1 h de reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

1h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos	C		0.095	55.46 a	0.176	1.481 a	172.2	572.8	0.702 a	0.508	0.497	0.410
	EU		0.044	25.13 b	0.076	0.631 b	199.0	526.9	0.553 b	0.487	0.516	0.431
	ER		0.049	28.65 b	0.090	0.755 ab	173.6	538.0	0.670 ab	0.546	0.460	0.488
Luz	100%		0.080	44.13 A	0.135	0.707	136.0 B	403.1	0.623	0.542	0.463	0.450
	30%		0.045	28.70 B	0.094	1.204	227.2 A	688.7	0.660	0.485	0.518	0.436
Tratamentos x Luz	100%	C	0.142 Aa	80.45	0.252 Aa	1.489	110.5	389.2 Bab	0.710	0.531	0.480	0.382 Ab
		EU	0.051 Ab	27.13	0.082 Ab	0.231	151.0	333.2 Bb	0.475	0.483	0.510	0.419 Ab
		ER	0.046 Ab	24.80	0.069 Ab	0.401	146.5	486.7 Aa	0.682	0.613	0.400	0.549 Aa
	30%	C	0.048 Ba	30.46	0.100 Ba	1.473	234.0	756.3 Aa	0.694	0.485	0.513	0.438 Aa
		EU	0.036 Aa	23.13	0.070 Aa	1.031	247.0	720.7 Aa	0.630	0.491	0.521	0.443 Aa
		ER	0.051 Aa	32.50	0.111 Aa	1.109	200.7	589.2 Ab	0.657	0.479	0.521	0.428 Ba
Significância	<i>P</i>	T	**	*	*	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
		L	n.s.	*	n.s.	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	*

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Apêndice 9. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 2 h de reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

2h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos	C		0.093 a	59.06	0.175 a	0.997	174.2	486.6	0.653	0.493	0.503	0.404
	EU		0.060 ab	33.63	0.110 b	0.705	181.6	413.8	0.531	0.444	0.569	0.378
	ER		0.042 b	24.29	0.072 b	0.497	190.6	489.6	0.609	0.527	0.483	0.474
Luz	100%		0.092 A	53.54	0.161 A	0.775	144.2 B	383.2	0.605	0.510	0.507	0.405
	30%		0.039 B	24.45	0.078 B	0.691	220.2 A	543.5	0.590	0.466	0.529	0.432
Tratamentos x Luz	100%	C	0.147	92.10 Aa	0.267	1.114	114.7	392.5 Bab	0.709	0.542	0.464	0.391 Aab
		EU	0.078	41.57 Ab	0.142	0.732	145.5	285.9 Bb	0.459	0.408	0.620	0.314 Ab
		ER	0.050	26.95 Ab	0.073	0.477	172.2	471.2 Aa	0.648	0.580	0.437	0.509 Aa
	30%	C	0.041	26.02 Ba	0.083	0.879	233.7	580.7 Aa	0.597	0.445	0.541	0.417 Aa
		EU	0.041	25.70 Aa	0.078	0.678	217.7	541.7 Aa	0.603	0.480	0.517	0.442 Aa
		ER	0.034	21.62 Aa	0.071	0.517	209.0	508.0 Aa	0.570	0.474	0.528	0.438 Aa
Significância	P	T	*	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		L	*	n.s.	*	n.s.	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	***

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação*, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.

Apêndice 10. Média ($n=4$) dos dados de fluorescência da clorofila *a* referente às 3 h de reidratação. Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol.elétrons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), dissipação fotoquímica (qP), dissipação não fotoquímica (NPQ), fluorescência inicial adaptada ao escuro (F_0), fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_M), eficiência quântica máxima do PSII (F_V/F_M), eficiência de excitação do PSII (F_V'/F_M'), fração de luz usada para a dissipação de calor nas antenas (D) e dissipação de calor nos centros de reação (E). C: controle; EU: estresse único; ER: estresse hídrico recorrente nas condições de 100% e 30% de luz.

3h			Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_0	F_M	F_V/F_M	F_V'/F_M'	D	E
Tratamentos	C		0.097	60.82	0.186	0.914	157.1 b	456.0 b	0.658	0.517	0.496	0.411 b
	EU		0.055	32.96	0.098	0.691	150.7 b	447.1 b	0.650	0.512	0.494	0.444 ab
	ER		0.034	21.67	0.058	0.439	184.4 a	576.4 a	0.660	0.586	0.420	0.543 a
Luz	100%		0.071	44.00	0.127	0.617	131.3 B	407.5	0.670	0.558	0.458	0.466
	30%		0.052	32.97	0.101	0.745	196.8 A	578.8	0.642	0.519	0.481	0.466
Tratamentos x Luz	100%	C	0.132 Aa	82.50 Aa	0.242 Aa	0.955	116.5	388.7	0.702 Aa	0.567	0.458 Aab	0.418
		EU	0.044 Ab	24.45 Ab	0.076 Ab	0.432	132.0	322.5	0.605 Ab	0.482	0.532 Aa	0.409
		ER	0.039 Ab	25.05 Ab	0.063 Ab	0.465	145.5	511.2	0.703 Aa	0.626	0.384 Ab	0.571
	30%	C	0.062 Ba	39.15 Ba	0.131 Ba	0.873	197.7	523.2	0.614 Aa	0.467	0.534 Aa	0.405
		EU	0.066 Aa	41.47 Aa	0.121 Aab	0.950	169.5	571.7	0.695 Aa	0.543	0.456 Aa	0.478
		ER	0.029 Ab	18.30 Ab	0.052 Ab	0.413	223.2	641.5	0.618 Aa	0.546	0.455 Aa	0.516
Significância	<i>P</i>	T	***	***	**	n.s.	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	*
		L	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		T x L	***	***	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	n.s.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) com dois fatores: tratamento (T) e luz (L) como fatores fixos com a interação (T x L) são mostrados em cada parâmetro analisado. Seguido pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($P<0,05$) para comparar se houve interação. Teste Fisher (LSD) em F_V/F_M . *, ** e *** indica diferença significativa onde $P<0,05$, $P<0,01$ ou $P<0,001$, respectivamente. n.s.: não significativo. Letras maiúsculas indicam diferenças entre condições de luminosidade. Letras minúsculas indicam diferença entre tratamentos hídricos.