



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



UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

RECUPERAÇÃO DAS TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*
EM PLANTAS DE *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer SUBMETIDAS A
ESTRESSE HÍDRICO

LUÍS PAULO BENETTI MANTOAN

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas (Botânica), AC:
Fisiologia Vegetal.**

BOTUCATU - SP

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**RECUPERAÇÃO DAS TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*
EM PLANTAS DE *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer SUBMETIDAS A
ESTRESSE HÍDRICO**

LUÍS PAULO BENETTI MANTOAN

PROF^a DR^a GISELA FERREIRA

ORIENTADORA

PROF^a DR^a CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

CO-ORIENTADORA

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas (Botânica), AC:
Fisiologia Vegetal.**

BOTUCATU - SP

- 2013 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Mantoan, Luís Paulo Benetti.

Recuperação das trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer submetidas a estresse hídrico / Luís Paulo Benetti Mantoan. - Botucatu, 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Gisela Ferreira

Coorientador: Carmen Silvia Fernandes Boaro

Capes: 20303009

1. Anonacea. 2. Fotossíntese. 3. Desidratação (Hídrica). 4. Clorofila - Análise.

Palavras-chave: Annonaceae; Araticum-de-Terra-Fria; Fotossíntese; Reidratação.

Agradecimentos

À Deus por toda a ajuda, conforto e por sempre estar ao meu lado nos momentos difíceis.

À minha família, em especial aos meus pais Rafael Aparecido Mantoan e Sonia Maria Benetti Mantoan pelo carinho, compreensão e amor.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de Bolsa de Mestrado.

À Professora Dr^a Gisela Ferreira pela orientação.

Aos professores do departamento de Botânica, especialmente ao professor Luiz Fernando pelo apoio e grande ajuda durante todo o mestrado e também a professora Carmen pelo grande auxílio durante o início do mestrado.

Aos funcionários do departamento de Botânica especialmente ao José Eduardo por toda a ajuda e pelo divertimento.

Aos colegas de Pós-graduação, Angélica, Ana Karollyna, Jaqueline, Amanda Amaro, Amanda Gobette, Danilo, Felipe, Magnun, Marcela, Sérgio, Jennifer, Yve, Fabio, Samanta, Talita, Natália, Paula, Camila Braga, Juliana Iassia, Juliana Cichinato, Bruno Trevenzoli, Daniel, Bruno Henrique, Wilian, Roberto, Angelo, Ana Claudia e muitos outros que tive a oportunidade de conhecer.

Aos colegas da graduação, Ana Maria, Alexandre, Marcelo, Luciane, Samuel, Caroline Caramano e outros pela amizade durante a graduação.

Aos professores da graduação em especial à Carla Gomes, Conceição Cossa, Maria Aparecida Sorace, Cristiano Medri, Fabiano Costa, Cristiano Massao e Leopoldo bem como os demais professores que tiveram grande importância durante o período da graduação.

À todas as pessoas que de alguma forma colaboraram, incentivaram e me apoiaram durante todo o mestrado.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Família Annonaceae	5
2.2. Défice e estresse hídrico vegetal	8
2.3. Trocas gasosas	10
2.4. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	16
3. OBJETIVOS	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1. Material vegetal	23
4.2. Delineamento experimental	23
4.3. Condições ambientais	24
4.4. Controle da irrigação	25
4.5. Conteúdo relativo de água nas folhas	25
4.6. Trocas gasosas	26
4.7. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	26
4.8. Análises bioquímicas	27
4.9. Proteínas solúveis totais	27
4.10. Superóxido dismutase (SOD, EC. 1.15.1.1).....	28
4.11. Peroxidase (POD, EC. 1.11.1.7).....	29
4.12. Peroxidação de lipídeos	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30

5.1. Capítulo I: Será que plantas de <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H. Rainer se recuperam após estabelecimento de estresse hídrico?	31
Resumo.....	32
Abstract	33
Introdução.....	34
Material e métodos.....	35
Resultados	39
Discussão.....	46
Conclusão	52
Referencias Bibliográficas	53
5.2. Capítulo II: Fluorescência da clorofila <i>a</i> em plantas de <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H. Rainer submetidas a estresse hídrico e após reidratação	64
Resumo.....	65
Abstract	66
Introdução.....	67
Material e métodos.....	68
Resultados	71
Discussão.....	76
Conclusão	80
Referencias bibliográficas	80
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
7. CONCLUSÕES	89
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

MANTOAN, L.P.B. **RECUPERAÇÃO DAS TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* EM PLANTAS DE *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer SUBMETIDAS A ESTRESSE HÍDRICO**. 2013. 117p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - O presente estudo objetivou avaliar a capacidade de recuperação de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer após estresse hídrico em função das variações das trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e atividade de enzimas antioxidantes. O experimento foi implantado em blocos casualizados com três tratamentos (Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação) e quatro repetições de seis plantas por parcela totalizando 24 plantas. Foram avaliadas as seguintes variáveis: conteúdo relativo de água das folhas (CRA), trocas gasosas (assimilação de CO₂, *A*; condutância estomática, *G_s*; transpiração, *E*; concentração de carbono interno, *C_i*; eficiência de uso da água, *A/E* e eficiência de carboxilação, *A/C_i*), fluorescência da clorofila *a* (rendimento quântico máximo, *F_v/F_M*; fluorescência máxima da folha sob escuro, *F_M* e fluorescência mínima da folha sob escuro, *F_o*), enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, SOD, EC. 1.15.1.1 e peroxidase, POD, EC. 1.11.1.7) e peroxidação de lipídeos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade e/ou desvio padrão. Aos 38 Dias Após o Início dos Tratamentos (DAIT) (dia da reidratação), o CRA nas plantas irrigadas apresentou 87% reduzindo para 73% nas plantas sob suspensão de irrigação onde foi verificado assimilação de CO₂ nula. Embora o CRA das plantas reidratadas tenha se recuperado ao nível das plantas no início dos tratamentos, as trocas gasosas apresentaram recuperação parcial. A atividade das enzimas SOD e POD tanto de folhas como de raízes apresentou recuperação após a reidratação e não foram observadas alterações no nível de peroxidação de lipídeos de folhas e raízes nos três tratamentos. Nas análises de fluorescência da clorofila *a* não foram detectados danos ao fotossistema II e nem alterações na eficiência do aparato fotoquímico tanto das plantas sob suspensão de irrigação como nas reidratadas em relação as irrigadas. Desta forma, mesmo com a recuperação da atividade da SOD e POD após reidratação e ausência de peroxidação lipídica, *A. emarginata* apresentou recuperação parcial das trocas gasosas. Já o aparato fotoquímico foi tolerante ao estresse hídrico.

Palavras-chave: Annonaceae, Araticum-de-Terra-Fria, Fotossíntese, Reidratação.

MANTOAN, L.P.B. **RECOVERY OF THE GAS EXCHANGE AND CHLOROPHYLL *a* FLUORESCENCE IN *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer PLANTS UNDER WATER STRESS.** 2013. 117p. DISSERTATION (MASTER'S DEGREE) – INSTITUTE OF BIOSCIENCES, UNESP – SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

ABSTRACT - The present study aimed to evaluate the recoverability of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer after water stress through changes in the gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence and antioxidant enzymes activity. The experiment was implanted in a randomized block design with three treatments (Irrigation, Suspension of Irrigation and Rehydration) and four replicates of six plants per plot totaling 24 plants. The following variables were evaluated: relative water content of leaves (RWC), gas exchange (CO_2 assimilation, A ; stomatal conductance, G_s ; transpiration, E ; internal carbon concentration, C_i ; water use efficiency, A/E and carboxylation efficiency, A/C_i), chlorophyll *a* fluorescence (maximum quantum yield, F_v/F_m ; maximal leaf fluorescence under dark, F_m ; minimum leaf fluorescence under dark, F_o), antioxidant enzymes (superoxide dismutase, SOD, EC. 1.15.1.1 and peroxidase, POD, EC. 1.11.1.7) and lipid peroxidation. The data were submitted to analysis of variance and means were compared by Tukey test at 5% probability and/or standard deviation. At 38 Day After Treatments Beginning (DATB) (day of rehydration), the RWC in irrigated plants showed 87% reducing to 73% in plants under suspension of irrigation where has been verified null CO_2 assimilation. Although the RWC of rehydrated plants has recovered to the level of the plants in the beginning of treatments, gas exchange showed partial recovery. The activity of SOD and POD of both leaves and roots showed recovery after rehydration and no changes were observed in the level of lipid peroxidation in leaves and roots in the three treatments. In the analysis of chlorophyll *a* fluorescence were not detected damage in the photosystem II and neither changes in the efficiency of the photochemical apparatus in both plants under suspension of irrigation and rehydrated in relation to irrigated. Therefore, even with the recovery of the activity of SOD and POD after rehydration and absence of lipid peroxidation, *A. emarginata* showed partial recovery of gas exchange. But the photochemical apparatus was tolerant to water stress.

Keywords: Annonaceae, Araticum-de-Terra-Fria, Photosynthesis, Rehydration.

1. INTRODUÇÃO

A fruticultura é considerada uma das atividades mais dinâmicas da economia brasileira, apresentando evolução contínua, é fonte de alimentação e geradora de empregos ao Brasil (IBRAF, 2008). As anonáceas englobam um grupo de frutíferas de importância econômica em diversos países como Chile, México, Venezuela, Austrália e Brasil. No Brasil essa cultura é encontrada de norte a sul do país. Este interesse pelo cultivo de anonáceas, especialmente a *Annona squamosa* L. (pinha) e a *Annona squamosa* L. x *A. cherimolla* Mill. (atemóia) se deve ao alto preço alcançado no mercado de frutas frescas, bem como pela sua inserção no mercado europeu e americano (SOBRINHO, 2010), além da graviola (*Annona muricata* L.) usada para produção de polpa congelada (SÃO JOSÉ, 2003; PINTO et al., 2005; SCUC, 2006; SCALOPPI JUNIOR, 2007; SCALOPPI JUNIOR; MARTINS, 2013).

A maioria das espécies da família Annonaceae é considerada subutilizada e as informações são escassas e dispersas, todavia, as áreas sob produção têm crescido mais rapidamente do que a contribuição da ciência e tecnologia (PINTO et al., 2005). Embora a cultura das anonáceas não disponha de um programa institucionalizado de pesquisa e desenvolvimento, alguns avanços tem sido obtidos com produção crescente e frutas de melhor qualidade. No entanto, alguns desafios devem ser enfrentados, como a adaptação de espécies e variedades aos diversos climas como em ambientes secos (SOBRINHO, 2010), além da necessidade de se encontrar portaenxertos adequados (KAVATI, 2013).

Com a intenção de se obter pomares de anonáceas com alta produtividade muitos produtores tem optado por métodos vegetativos de propagação (BRAGA, 2008). Como alternativa de portaenxerto para a atemóia, Tokunaga (2000; 2005), Bettiol Neto et al. (2006), Scaloppi Junior (2007) e Kavati (2013) tem sugerido o emprego da espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer (Araticum-de-terra-fria). Uma vez usada como portaenxerto para atemóia tem-se observado maiores índices de sobrevivência, comprimento de ramos e número de folhas (ALMEIDA, 2009). A espécie *A. emarginata* também apresenta tolerância às podridões de raiz e colo, bem como menor atratividade às brocas que atacam o colo das plantas (TOKUNAGA, 2005; BETTIOL NETO et al., 2006; SCALOPPI JUNIOR, 2007). Além disso, segundo relatos de Bonaventure (1999) e Tokunaga (2000; 2005) o araticum-de-terra-fria apresenta tolerância a solos com falta de água. Sendo assim, esta espécie pode ser uma alternativa adequada de portaenxerto para atemóia em solos nessas condições.

Deste modo, considerando-se que a baixa disponibilidade de água é considerada a mais séria restrição ambiental para a produção agrícola, pesquisas com espécies promissoras e com o uso mais eficiente da água podem-se tornar a solução para o aumento da produtividade

em ambientes onde ocorra a falta de água, especialmente em áreas do semiárido, como no nordeste do Brasil (CHAVES et al., 2003; ENDRES, 2007; SINCLAIR et al., 2008).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Annonaceae

A família Annonaceae Juss. (1789) pertence ao clado das magnoliídeas, grupo basal das Angiospermas, composta por aproximadamente 128 gêneros e mais de 2300 espécies (SOUZA; LORENZI, 2008; APGIII, 2009; JUDD et al., 2009). Annonaceae é de longe a mais sobressalente dentro da ordem das Magnoliales, as quais se encontram entre as angiospermas mais primitivas (SCALOPPI JÚNIOR, 2007).

De maneira geral, as espécies anonáceas são de hábito arbóreo, raramente arbustos, subarbustos ou lianas; folhas alternadas, dísticas, simples, sem estipulas, margem inteira e venação penínervia. Inflorescência cimosas, flores usualmente grandes e vistosas, em geral bissexuadas, diclamídeas; cálice trímero-tetrâmero, dialissépalo; corola formada por dois verticilos de três pétalas e fruto apocárpico ou sincarpico (JOLY, 2002; LOBÃO et al., 2005; JUDD et al., 2009).

A família possui grande distribuição em regiões tropicais e subtropicais e muito características de florestas úmidas em baixas latitudes (JUDD et al., 2009). A maioria das espécies de Annonaceae está nos trópicos, onde crescem em baixas altitudes, cerca de 900 espécies se encontram entre os Neotrópicos, 1200 nas áreas tropicais da Ásia e Austrália, mas o maior número de gêneros ocorre nas Américas (aproximadamente 40 gêneros), com predominância na América do Sul (aproximadamente 35 gêneros) e a África é o continente que contém o mais baixo número de espécies, aproximadamente 450 (CHATROU, 1999; MOHD KHALID, 2002; MANICA et al., 2003; PINTO, 2005; TOKUNAGA, 2005). Vários gêneros se encontram na África e também Ásia, tal o caso de *Uvaria* e *Polyalthia*, ambos com mais de 100 espécies, *Xylopia* é o único gênero da família que se encontra nas regiões tropicais de todos os continentes, enquanto que *Anaxagorea* é o único gênero encontrado nos neotrópicos e na Ásia tropical (CHATROU, 1999).

No território brasileiro, estão registrados 33 gêneros e cerca de 250 espécies, com ocorrência em praticamente todas as formações naturais (SOUZA; LORENZI, 2008). O grande centro de distribuição da família é, sem dúvida, a região amazônica, as Guianas e o sudeste do Brasil, habitando florestas de terra firme, as várzeas, os cerrados e os campos (MIRALHA, 1995; LOBÃO et al., 2005). De acordo com estudos feitos por Mass et al. (2001) na região centro-leste do Brasil, verificou-se um total de dezenove gêneros e 153 espécies pertencentes a família Annonaceae, compreendendo o Distrito Federal e os Estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins.

O gênero *Rollinia* e *Annona* possuem as espécies anonáceas mais importantes comercialmente (PINTO et al, 2005), sendo as espécies pertencentes ao gênero *Rollinia* as que apresentam grande perspectiva de uso como porta-enxerto para outras anonáceas e o gênero *Annona* agrupa as espécies mais cultivadas, separadas em 5 grupos: “Guanabani”-grupo das graviolas; “Bilae-florae” – anonas com ceras; “Acutiflorae” – pétalas afiladas; “Annonellae” – anonas anãs e as “Attæ” – anonas comuns, sendo este o grupo com mais espécies cultivadas e conhecidas (KAVATI, 1992), entretanto a maioria das espécies dessa família é considerada subutilizada e informações sobre ela, de certa forma, é escassa e amplamente dispersa (PINTO, 2005).

Muitas espécies de *Annona* e *Rollinia* produzem frutos comestíveis. No entanto, as bagas de *Asimina triloba* também são comestíveis. As flores de *Cananga odorata* são utilizadas na perfumaria e os frutos de *Monodora myristica* são utilizados como substitutos de *Myristica fragrans* (nos-moscada: Myristicaceae). Algumas espécies de *Annona*, *Cananga* e *Polyalthia* são cultivadas como plantas ornamentais (JUDD et al., 2009).

As anonáceas englobam um grupo de frutíferas de importância econômica em algumas regiões do mundo (CHATROU, 1999; PINTO et al., 2005). Em regiões tropicais a espécie mais cultivada é a *Annona squamosa* L., popularmente conhecida como fruta-do-conde ou pinha e a *Annona muricata* L., conhecida com graviola (KAVATI, 1992; ENCINA et al., 1999) e nas regiões subtropicais destaca-se o cultivo cherimólia (*Annona cherimola* Mill.) e o híbrido atemóia (*A. cherimola* x *A. squamosa*) e são estas quatro espécies com maior importância econômica (MOSCA et al., 2006; SCUC, 2006).

No Brasil apenas as espécies do gênero *Annona* são cultivadas comercialmente. Destacam-se deste gênero as espécies *Annona squamosa* L. (fruta-do-conde), *Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L. (atemóia; híbrido interespecífico entre a fruta-do-conde e a cherimóia), as quais o cultivo visa a produção de frutos para consumo in natura, pois os frutos são ricos em carboidratos e importantes fontes de sais minerais como cálcio e o fósforo e a espécie *Annona muricata* L. (graviola), explorada com a finalidade de produção de polpa industrializada e suas sementes são produtoras de óleos essenciais (MORTON, 1987; DONADIO, 1997; SÃO JOSÉ, 2003; PINTO et al., 2005; SCUC, 2006; SCALOPPI JUNIOR, 2007; SCALOPPI JUNIOR; MARTINS 2013).

No Brasil, a produção de frutas da família Annonaceae vem aumentando a cada ano, principalmente com relação ao cultivo de atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.), da fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) e da graviola (*Annona muricata* L.) (DONADIO, 1997; RIBEIRO et al., 2004; PINTO et al., 2005; SCUC, 2006; SCALOPPI

JUNIOR, 2007). A produção nacional de anonáceas concentra-se nas regiões Nordeste e Sudeste, com predomínio na Bahia, seguida de Pernambuco, Rio Grande do Norte e Alagoas, com a pinha e a graviola, e São Paulo e Minas Gerais, com a atemóia (NOGUEIRA et al., 2007).

Dados da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) mostram que em 2007 a comercialização de atemóia atingiu 1.837.698 caixas. Já para a pinha a produção atingiu quase 3 milhões de caixas. No caso da graviola, a produção atingiu um montante de 227.897 caixas (SOBRINHO, 2010).

O gênero *Annona* possui as espécies mais importantes comercialmente e os produtos como sucos, sorvetes, licores e geléias apresentam considerável importância econômica. Informações sobre estas espécies são consideradas subutilizadas, escassas e amplamente dispersas. Entretanto, as áreas de produção têm crescido mais rapidamente do que a contribuição da ciência e tecnologia (CAUTÍN; AGUSTÍ, 2005; PINTO et al, 2005; SOUZA; LORENZI, 2008).

Devido a necessidade de se obter pomares homogêneos de anonáceas, com elevada produtividade e com frutos de qualidade comprovada, os produtores de mudas optam por métodos vegetativos, como estaquia, mergulhia, enxertia (garfagem ou borbulhia) e micropropagação podem ser utilizados (CAMARGO; KAVATI, 1996; KITAMURA et al., 2004; LEE et al., 2010; FERREIRA et al., 2013).

A enxertia é um método de propagação vegetativa, que consiste na união de um vegetal ou parte dele, sobre outra planta que lhe sirva de suporte e forneça água e nutrientes retirados do solo (SÃO JOSÉ, 1997; LEMOS, 2013). Dentre as características da enxertia, a mais vantajosa é a possibilidade de somar aspectos favoráveis como vigor, tolerância a fatores bióticos e abióticos de uma dada espécie, de diferentes espécies e até mesmo de espécies de diferentes gêneros (HOFFMANN et al., 1996).

Após observações a campo e devido à necessidade de encontrar portaenxertos adequados para a atemóia, Tokunaga (2005), Bettiol Neto et al. (2006) e Scaloppi Junior (2007) sugerem que o araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata*) possui tolerância satisfatória à podridões de raiz e colo causadas por *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Pythium* sp. e *Rhizoctonia solani* e menor atratividade às brocas que atacam o colo das plantas, além de boa compatibilidade com a atemóia (BETTIOL NETO et al., 2006).

A espécie conhecida no Brasil como araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata*) também é conhecida popularmente em outros países como arachichu ou “fruit of Sky” (COLOM et al., 2007), e é sinônimo de *Rollinia* sp. (RAINER, 2007). Apesar de classificada

por *Rollinia*, após novos trabalhos a espécie passou a ser englobada no gênero *Annona*, daí o nome *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer e não *Rollinia emarginata*, conforme era anteriormente conhecida (RAINER, 2007). Esta espécie apresenta hábito arbóreo, de pequeno a médio porte e pode alcançar de 15 a 18m de altura; possui folhas lisas e lanceoladas; as flores são em forma de hélice, perfumadas, de coloração creme, com florescimento concentrado no mês de outubro; folhas de 2,5cm de largura na parte mediana e em média 6cm de comprimento; o período de maturação dos frutos se dá na 2ª quinzena de fevereiro e os frutos normalmente possuem 4cm de diâmetro, 3cm de altura e cerca de 50g, podendo conter até 43 sementes (JOLY, 2002; TOKUNAGA, 2005; SOUZA; LORENZI, 2008).

Esta espécie é nativa do continente sul-americano, encontrada em países como Bolívia, Peru, Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil (MAAS et al., 2001; USDA, 2010). No Brasil o araticum-de-terra-fria é encontrado, com ocorrência natural, em locais situados preferencialmente acima de 950m do nível do mar nas regiões sul e sudeste. No Estado de São Paulo é encontrado nos municípios de Cunha, Itapeva, São Bento do Sapucaí e Campos do Jordão. Na região sul do Estado de Minas Gerais ocorre nos municípios de Sapucaí Mirim, Gonçalves, Brasópolis, Ipuina, Cambuí e Marmelópolis, em áreas próximas de córregos. Encontra-se a espécie em todas as regiões do Estado do Paraná e em algumas cidades do Estado de Santa Catarina (Lages, Videira, Joaçaba e Ibicaré) e Rio Grande do Sul (Vacarias) (BONAVENTURE, 1999; TOKUNAGA, 2005; SCALOPPI JUNIOR, 2007).

Entre os fatores ambientais estudados que influenciam o gênero *Annona* pode-se incluir a temperatura (YAMADA et al., 1996; HIGUCHI et al., 1998; OJEDA et al., 2004), umidade do solo (LEMOS-FILHO, 2000), salinidade (CAVALCANTE et al., 2001) e níveis de água no solo (NÚÑEZ-ELISEA et al., 1999; ENDRES, 2007). E de acordo com Tokunaga (2000; 2005) a espécie *Annona emarginata* apresenta tolerância a solos com falta d'água, sendo indicada como alternativa de portanexerto para este tipo de solo.

2.2. Défice e estresse hídrico vegetal

As plantas são um componente integral no movimento global da água do solo para a atmosfera, o qual é referido como “continuum” solo-planta-atmosfera (STEUDLE, 2001). O estado hídrico da planta é a soma da interação de vários fatores atmosféricos, das plantas e do solo. A disponibilidade de água no solo, a demanda atmosférica (determinada pela umidade, temperatura e vento), a capacidade da raiz em absorver água, a capacidade da planta em transporta-la para as folhas e a resposta do estômato regulando a transpiração podem influenciar o estado hídrico da planta (FEDDES; DAM, 2005; GIMENEZ et al., 2005).

Segundo Gimenez et al. (2005) uma condição hídrica adequada requer que a absorção de água pela raiz satisfaça a demanda atmosférica, desta forma quando isto não ocorre o déficit hídrico se desenvolve (GIMENEZ et al., 2005). O déficit hídrico pode ocorrer por limitação da absorção de água pelas raízes devido a seca, frio ou solos compactados; por alta demanda por evaporação por conta de baixa umidade relativa, alta temperatura, alta radiação ou pela combinação da limitação da absorção com a demanda por evaporação (GIMENEZ et al., 2005).

O déficit hídrico induzido pela falta de água no solo pode continuar por dias, possivelmente por semanas até que ocorra chuva, irrigação ou a morte da planta sendo conhecido como déficit hídrico de longa duração, ou permanente. O déficit hídrico causado pela alta demanda atmosférica, depleção do meio dia, ocorre mesmo que haja umidade no solo ou em solução nutritiva. Isto acontece pois a demanda por evaporação aumenta a taxa de transpiração excedendo a taxa de absorção das raízes no período do meio dia durando não mais do que algumas horas, neste caso o déficit é temporário (GIMENEZ et al., 2005).

O termo estresse é muitas vezes usado subjetivamente e com vários significados. A definição fisiológica e termo apropriado para estresse são referenciados como respostas a diferentes situações. O estresse é a alteração das condições fisiológicas causado por fatores que tendem a alterar o equilíbrio (GASPAR et al., 2002; CHAVES et al., 2002; CHAVES et al., 2003; HU et al., 2006). Desta forma, o estresse hídrico por falta de água se estabelece quando o estado hídrico da planta é reduzido suficientemente para afetar o seu funcionamento normal, alterando o crescimento da planta (GIMENEZ et al., 2005).

Existem várias lacunas nas bases de dados relativos à ecofisiologia de frutíferas tropicais (MIRANDA et al., 2008; OKUMURA et al., 2008), principalmente quando consideramos fatores ambientais, tal como disponibilidade hídrica e temperatura (DAMATTA, 2007). Por isso, um melhor entendimento do efeito da seca nas plantas é vital para melhorar a gestão de práticas e para prever o destino da vegetação natural sob as mudanças climáticas (CHAVES et al., 2003).

O déficit hídrico celular pode resultar em uma concentração de solutos, mudanças no volume da célula e na forma da membrana, rompimento do gradiente de potencial hídrico, perda de turgescência, rompimento da integridade da membrana e desnaturação das proteínas (BRAY, 1997; HEIDE; POOLMAN, 2000; MAHAJAN; TUTEJA, 2005).

O grau de déficit hídrico pode ser fisiologicamente quantificado pelo potencial hídrico foliar ou pelo conteúdo relativo de água (CRA) (NOBEL, 1983; SINCLAIR; LUDLOW,

1985). O CRA expressa o conteúdo de água de um tecido como uma porcentagem expressando o estado hídrico de uma planta (BAYER, 1969; SLAVIK, 1974).

O volume celular é um importante e possivelmente, o maior determinante da atividade metabólica e da sobrevivência da folha (KAISER, 1982; SINCLAIR; LUDLOW, 1985). Segundo Hewitt et al. (1985) é esperado que o CRA de plantas sob estresse hídrico apresente baixos valores ficando entre 80 e 60% e decrescendo continuamente.

A metodologia desenvolvida por Weatherley (1949) requer pouco equipamento, porem necessita de calibração para cada espécie para que haja otimização do tamanho da amostra e das condições experimentais. Mesmo assim, é uma técnica amplamente usada devido a sua simplicidade (CHAN; FOWLER, 1992). Além do mais existe uma forte relação entre o volume celular e taxa de fotossíntese das folhas (KAISER, 1982; SINCLAIR; LUDLOW, 1985).

O conhecimento sobre a limitação fisiológica da recuperação da fotossíntese após diferentes intensidades de estresse hídrico bem como sob diferentes condições ambientais são escassos (CHAVES, 2009).

2.3. Trocas gasosas

A assimilação fotossintética pode ser afetada pela nutrição, regime de luz, estresse hídrico e outros parâmetros fisiológicos. Mudanças na taxa de assimilação de CO₂ refletem de mudanças na condutância estomática e capacidade fotossintética do mesófilo (VON CAEMMERER; FARQUHAR, 1981; MEDRANO et al., 2002; DITMAROVÁ et al., 2010). Como processo chave do metabolismo primário, a fotossíntese desempenha um papel central na performance da planta sob seca (PINHEIRO; CHAVES, 2011). É bem conhecido que a taxa de assimilação de CO₂ seja reduzida durante moderados défices de água na folha ou sempre antes da alteração, em resposta a diminuição da umidade do ar ou no potencial de água no solo (KRAMER; BOYER, 1995; LAWLOR, 2002; CHAVES et al., 2003; SANTOS et al., 2006).

O volume celular é um importante, e possivelmente, o maior determinante da atividade metabólica e da sobrevivência da folha (KAISER, 1982; SINCLAIR; LUDLOW, 1985). Segundo Hewitt et al. (1985) é esperado que o CRA (conteúdo relativo de água na folha) de plantas sob estresse hídrico apresente baixos valores ficando entre 80 e 60% e decrescendo continuamente. Em muitas espécies a fotossíntese se torna irreversivelmente reduzida quando o conteúdo relativo de água na folha cai por volta de 70-60% (LAWLOR; CORNIC, 2002).

É certamente reconhecido que o *status* de água na folha interage com a condutância estomática e transpiração, e sobre estresse hídrico, uma boa correlação é sempre observada entre o potencial hídrico da folha e condutância estomática (TARDIEU; SIMONNEAU, 1998; FLEXAS et al., 1999; TYREE, 1999).

Um dos recursos fisiológicos mais sensíveis ao déficit de água é a condutância estomática, que regula a fotossíntese nas plantas (BRAY, 1997; YORDANOV et al., 2000; MEDRANO et al., 2002; ARAÚJO; DEMINICIS, 2009). As respostas estomáticas são complexas, pois são dependentes de numerosos fatores ambientais como luz, CO₂, umidade, vento e temperatura e, de fatores internos tais como potencial hídrico e/ou turgor da folha e sinais químicos como citocinina e ácido abscísico (KRAMER; BOYER, 1995; ASSMANN; SHIMAZAKI, 1999). A redução da condutância estomática diminui a perda de água das folhas e restringe a entrada de CO₂ nestes órgãos, o que diminui a assimilação fotossintética de carbono (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009).

De um ponto de vista mecânico, o fechamento estomático em resposta a baixa umidade do ar pode ser mediado por mudanças no potencial hídrico das células em volta do poro estomático causado pela evaporação na cavidade subestomática (MOTT; PARKHURST, 1991; COMSTOCK; MENCUCCINI, 1998) ou por meio da cutícula (EAMUS et al., 2008).

O DPV (Déficit de Pressão de Vapor) é reconhecido como uma das mais importantes fontes de variação da condutância estomática em plantas irrigadas. Um simples mecanismo para explicar essa redução poderia ser um em que o estômato responde ao DPV por meio do sistema de “feedback” com base no efeito da taxa de transpiração de toda a folha no estado hídrico da folha, ou o gradiente de potencial hídrico entre células guarda e outras células epidérmicas (BUNCE, 1996).

Dewar (1995) propôs um modelo mais compreensivo de condutância estomática em que os movimentos estomáticos são governados pela diferença na pressão de turgor e o volume na epiderme. A pressão de turgor é deduzida do potencial hídrico e da pressão osmótica entre a célula guarda e da epiderme. Dentro da epiderme da folha, o acúmulo e redistribuição de solutos entre os diferentes tipos celulares e compartimentos também desempenham um papel na regulação do turgor celular e no turgor das células guarda que influenciam nos movimentos estomáticos (SCHROEDER et al., 2001).

Dessa forma, a redução da condutância estomática com o aumento do DPV pode ser causada pelo aumento da transpiração (MONTEITH, 1995; BUNCE, 1996). No entanto, Bunce (1996), também encontrou que o fechamento estomático sob alto DPV não foi causado pelo aumento da transpiração sugerindo que a resposta da condutância estomática ao DPV

seria adequada ao modelo de “feedforward”. Mais estudos sugerem que a resposta da condutância estomática ao alto DPV poderia estar relacionada ao ácido abscísico (ABA) (BUNCE, 1996, 1998; TARDIEU; SIMONNEAU, 1998).

Porem, Assmann et al., (2000) encontraram que o aumento do DPV fecha o estômato em plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana* que são ABA deficiente e ABA insensível, mostrando que em algumas espécies é necessário recorrer a visão mais tradicional de que o ar seco tem efeito mais direto no turgor da célula guarda e ou epidérmica.

Monteith (1995) reavaliou 52 estudos de repostas das plantas ao DPV e concluiu que a maioria, mas não todas, respostas estomáticas observadas foram consistentes com a sensibilidade da célula guarda a taxa de transpiração. Sendo assim, a célula guarda responde engendrada pela sensibilidade da transpiração estomática.

Durante o período de seca, Endres (2007) relatou que com o aumento do déficit de pressão de vapor ocorreu a queda da condutância estomática de *Annona squamosa*, mesmo assim, ocorreu aumento da transpiração das plantas que estavam bem hidratadas, o que demonstrou o efeito positivo do déficit de pressão de vapor sobre a transpiração. O mesmo autor ainda sugere que o mesmo pode ocorrer com outras espécies de anonáceas. Baixos valores de DPV melhoram o estado hídrico da planta, refletindo em menor taxa de transpiração, maior potencial hídrico foliar e maior taxa de expansão foliar, diferente do que ocorre em condições de alto DPV (LIU et al., 2006). Em *Annona cherimola* Mill e *Annona squamosa* L. Higuchi et al. (1998), também observaram diminuição da condutância estomática com o aumento do déficit de pressão de vapor. Por isso, o DPV é reconhecido como uma das mais importantes fontes de variação da condutância estomática (CONDON et al., 1992; BUNCE, 1998; CHAVES et al., 2009).

Estudos mostram que o controle estomático não é governado apenas por fatores ambientais mas também por propriedades intrínsecas das plantas como sinais químicos (ácido abscísico) (MORIANA et al., 2002; TOGNETTI et al., 2004; ROMERO; BOTÍA, 2006 e CHAVES et al., 2009). Sob seca, o ácido abscísico controla a abertura estomática limitando assim a perda de água por transpiração (HIRAYAMA; SHINOZAKI, 2010), sua produção ocorre nas raízes para então ser transportado para a parte aérea causando o fechamento estomático (CHAVES et al., 2009), porem também pode ser sintetizado nas folhas (WILKINSON; DAVIES, 2002).

Durante o início da seca, a condutância estomática normalmente declina antes da fotossíntese, isto sugere que a inibição da fotossíntese sobre estresse moderado pode ser explicado por uma restrição na difusão do CO₂ (CHAVES, 1991; CORNIC, 2000; SLAMA et

al., 2007). Ort et al. (1994) argumentam que a concentração intercelular de CO₂ medeia uma interação balanceada entre componentes estomáticos e não estomáticos no controle da capacidade fotossintética.

A inibição da fotossíntese pode ser devido a limitação estomática (YIN et al., 2005) ou não estomática (DOWNTON; LOVEYS; GRANT, 1988). A regulação estomática desempenha um papel chave nas trocas gasosas entre vegetação e atmosfera. Noventa por cento da perda de água das plantas é por transpiração por meio da abertura estomática (WAN et al., 2009). Por outro lado, a limitação estomática poderia ser considerada como o principal fator para a redução da fotossíntese quando a água disponível se torna escassa, enquanto que a limitação não estomática tal como o decréscimo da atividade da rubisco, disponibilidade de CO₂ no cloroplasto e eficiência fotoquímica do PSII é gradualmente progressiva com a intensidade e a duração do estresse hídrico (SILVA; ARRABACA, 2004; FLEXAS et al., 2006a; XU; ZHOU; SHIMIZU, 2009). Se carbono interno e condutância estomática decrescem simultaneamente, a assimilação é limitada principalmente pela redução da condutância estomática (CRAMER et al., 2007; YAN et al., 2010). Em contraste, se a condutância estomática decresce mas o carbono interno aumenta ou apresenta-se constante, o decréscimo da assimilação pode ser atribuído a fatores não estomáticos (YAN et al., 2010). Além disso, a avaliação da relação A/Ci também permite a diferenciação entre a limitação estomática e não estomática (ENNAHLI; EARL, 2005).

Como dito anteriormente a limitação não estomática inclui tanto a redução da condutância do mesófilo como a limitação fotoquímica e enzimática (GRASSI; MAGNANI, 2005; GALMÉS et al., 2007a), podendo a inibição ocorrer por dano ou simplesmente uma baixa regulação da atividade fotossintética (ENNAHLI; EARL, 2005). A condutância do mesófilo compreende os componentes físicos (solubilidade do CO₂, área de superfície apoplástica e rotas simplásticas do CO₂) e metabólicos (anidrase carbônica) (PINHEIRO; CHAVES, 2011). Tem se mostrado que o déficit hídrico pode reduzir substancialmente a condutância do mesófilo (FLEXAS et al., 2008), entretanto em geral a condutância do mesófilo é menos sensível ao estresse hídrico do que a condutância estomática (BUNCE, 2009). A importância da limitação da condutância do mesófilo ainda está sob críticas decorrentes de questões metodológicas relacionadas a estimação da concentração intercelular de CO₂ ou da concentração de CO₂ do cloroplasto (BUNCE, 2009; LAWLOR; TEZARA, 2009).

A máxima condutância estomática tem sido usada em modelos para simular a resposta das plantas para a seca e foi sugerida como indicador para a indução da inibição de diferentes

sub-processos da fotossíntese durante a seca (FLEXAS; MEDRANO, 2002b). Além disso, a condutância estomática tem sido usada em alguns trabalhos como os de Galmés et al. (2007a; 2007b; 2007c), Pou et al. (2008) e Flexas et al. (2009) como referência para o déficit hídrico ou uma maneira de se diferenciar o nível de déficit hídrico em plantas.

A limitação da fotossíntese por seca tem sido relatada em muitos estudos (CHAVES; MAROCO; PEREIRA, 2003), dos quais apenas alguns estudos relatam a resposta da fotossíntese a reidratação. A recuperação total da assimilação de carbono tem sido observada quando o estresse hídrico é eliminado após a reidratação (IZANLOO et al., 2008; XU; ZHOU; SHIMIZU, 2009). O ganho de carbono durante um período de estresse hídrico e reidratação pode depender tanto da velocidade e do grau de recuperação fotossintético como do grau e velocidade do declínio da fotossíntese durante a falta de água (FLEXAS et al., 2006b; XU; ZHOU; SHIMIZU, 2009).

Em geral as plantas submetidas ao estresse hídrico severo recuperam somente 40 a 60% da máxima taxa de fotossíntese no dia após a reidratação, sendo que a recuperação continua nos dias seguintes, no entanto a máxima taxa de fotossíntese nem sempre se recupera (FLEXAS et al., 2004; SOFO et al., 2004; SOUZA et al., 2004).

Em algumas espécies, a manutenção da menor condutância estomática após a reidratação impõe uma substancial limitação para a recuperação da fotossíntese (BOGEAT-TRIBOULOT et al., 2007; GALLÉ et al., 2007; GALMÉS et al., 2007a). Segundo Pérez-Pérez et al. (2009) o fechamento estomático influenciado pelo estresse hídrico foi parcialmente responsável pela redução da assimilação de carbono de *Citrus limon*, uma vez que a limitação do estômato influenciou no menor C_i sob condição de estresse hídrico.

Em *Vitis berlandieri* x *V. rupestris* (variedade Richter-110) Flexas et al. (2009) observaram que a recuperação da condutância estomática foi lenta levando duas semanas até a completa recuperação da mesma ao nível das plantas irrigadas. Sendo assim, em *Vitis berlandieri* X *V. rupestris* (Richter-110) a recuperação da fotossíntese após a reidratação foi limitada por fatores difusivos com maior influencia da limitação estomática do que a limitação do mesófilo (FLEXAS et al., 2009).

Da mesma forma em dois clones de *Populus euramericana* (Luisa Avanzo e Dorskamp) foi observado 50% de recuperação da condutância estomática no primeiro dia de reidratação e foi necessário mais 4 dias para alcançar a completa recuperação (MARRON et al., 2002), já em *Populus euphratica* a condutância estomática também se manteve reduzida após 6 dias de reidratação apresentando recuperação de 60% (BOGEAT-TRIBOULOT et al., 2007).

Em alguns estudos tem-se observado que a limitação da recuperação da condutância hidráulica foliar seria a aparente causa da baixa condutância na reidratação (GALMÉS et al., 2007b). Segundo Manzoni et al. (2012) quando a água se torna limitante ambas as condutâncias estomática e do xilema são reduzidas em relação as bem hidratadas, pois a regulação da condutância hidráulica foliar depende da cavitação e da recuperação dos vasos do xilema, sendo que estes vasos são mais sensíveis nas nervuras das folhas (COCHARD et al., 2002; BRODRIBB; HOLBROOK, 2003).

Em *Vitis berlandieri* x *V. rupestris* (Richter-110) a condutância hidráulica da planta apresentou redução durante o estresse hídrico sendo que parte dessa redução se manteve mesmo após a reidratação. No mesmo híbrido após a reidratação foi observado que a relação entre a condutância estomática e a condutância hidráulica da planta foi mais forte do que a relação entre a condutância estomática e a concentração de ABA, sendo que sob condições de estresse hídrico ocorreu o contrário (POU et al., 2008).

No entanto, outros mecanismos regulatórios não podem ser descartados, tais como outros sinais químicos como citocininas ou pH da seiva xilemática (WILKINSON, 2004), sinais elétricos (GRAMS et al., 2007) ou a formação de oclusões estomáticas de natureza desconhecida que persistem por muito tempo após a reidratação (GALLÉ; FELLER, 2007). Além disso, as aquaporinas desempenham um importante papel na dinâmica de mudanças da condutância hidráulica das folhas (COCHARD et al., 2007).

Em *Olea europaea* L., variedade Coratina, submetida a reidratação sob sombreamento e não sombreamento Sofo et al. (2004) observaram que em ambos os tratamentos tanto a condutância estomática como a transpiração não apresentaram recuperação ao nível do controle. Segundo o mesmo autor a lenta recuperação da transpiração estaria associada com a baixa condutância estomática como observado no tratamento sombreado quando comparado com o não sombreado.

Segundo Bogeat-triboulot et al. (2007), Gallé, et al. (2007) e Galmés et al. (2007a), apesar da baixa condutância limitar a recuperação da fotossíntese a EUA aumenta. Porém esse comportamento possui uma desvantagem para a fotossíntese, pois com a baixa condutância ocorre menor entrada de carbono e assim menor aproveitamento da capacidade fotossintética, uma vez que em algumas espécies como *Vitis berlandieri* X *V. rupestris* a manutenção da baixa condutância estomática após a reidratação pode durar semanas (GALMÉS et al., 2007c). Em *Quercus pubescens* a recuperação da condutância estomática foi ligeiramente retardada durante as primeiras duas semanas de reidratação, o que resultou no aumento da eficiência intrínseca do uso da água (GALLÉ; HALDIMANN; FELLER, 2007).

Em algodão submetido ao estresse hídrico seguido de reidratação Ennahli e Earl, (2005) verificaram substancial recuperação da maioria dos parâmetros após 24 de reidratação, no entanto a assimilação de carbono, o rendimento quântico efetivo, a taxa de transporte de elétrons e a relação da assimilação de carbono com a concentração de carbono no cloroplasto (A/C_c) permaneceu significativamente baixa indicando a limitação da recuperação da assimilação de carbono por fatores não estomáticos. No entanto, a redução da relação A/C_c não necessariamente significa que ocorreu injúria no aparato fotossintético, podendo simplesmente representar uma baixa regulação da capacidade fotossintética (ESCALONA et al., 1999).

Já em *Populus nigra*, após 15 dias de reidratação houve recuperação completa da assimilação de carbono ao nível observado antes do estresse hídrico em plantas reidratadas ao nível da capacidade de campo após a assimilação de carbono ter caído a quase zero sob estresse hídrico (FORTUNATI et al., 2008).

2.4. Fluorescência da clorofila *a*

Recentemente, a combinação da avaliação de trocas gasosas e da fluorescência da clorofila *a* tem sido usado para investigar o envolvimento do efeito não estomático na limitação da fotossíntese sob estresse hídrico (ENNAHLI; EARL, 2005). A ação sinérgica do alto nível de irradiação e estresse hídrico reduz a capacidade do sistema fotossintético de utilizar a radiação incidente, levando a um aumento no grau de dano ao aparato fotossintético (FOYER; LELANDAIS; KUNERT, 1994; WINGLER et al., 2000). Sob condições ambientais, onde a energia do fóton é superior a assimilação de CO_2 , o fotossistema II (PSII) é o principal alvo para a fotoinibição enquanto o PSI (fotossistema I) é mais estável do que o PSII, recebendo normalmente menos dano (BOWLER; MONTAGU; INZE, 1992; MELIS, 1999).

Plantas frequentemente encontram níveis de luz que excedem sua capacidade fotossintética, especialmente quando sua capacidade para a fixação do CO_2 é reduzida por condições de estresse (ZHOU; LAM; ZHANG, 2007). O excesso de energia pode causar fotoinibição e mesmo danos severos ao aparato fotossintético (SANDA et al., 2011; WU; BAO, 2011).

O aumento excessivo da luz acima da capacidade de utilização pela fotossíntese pode resultar em uma condição de estresse conhecida como fotoinibição. A quantidade de energia irradiante que atinge o complexo coletor de luz dos fotossistemas pode conduzir a um ganho ou perda na eficiência das reações fotoquímicas dos centros de reação (LEMOS FILHO,

2000). O fenômeno da fotoinibição pode ser causado pela luz ultra-violeta (UV), visível (V) e combinações UV-V. A absorção de fótons é diretamente proporcional à densidade do fluxo de fótons, resultando em uma resposta linear. Entretanto, a utilização desses fótons pela fotossíntese apresenta uma resposta hiperbólica, demonstrando que a partir de determinada densidade de fótons ocorre a saturação da fotossíntese (FARQUHAR; CAEMMERER; BERRY, 1980).

Sob baixa intensidade luminosa (menor que $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mais de 80% do *quantum* absorvido é usado na fotossíntese. Quando a intensidade luminosa aproxima-se de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (cerca de metade do valor da luz solar), menos de 25% do quantum absorvido é usado e, sob luz solar plena, a utilização reduz para aproximadamente 10% (LONG; HUMPHRIES; FALKOWSKI, 1994).

De acordo com Taiz e Zeiger (2004) dois tipos de fotoinibição são identificados: a fotoinibição dinâmica e a crônica. A fotoinibição dinâmica é causada pelo desvio da energia luminosa, absorvida em direção a dissipação de calor. Por isso, o decréscimo em eficiência quântica. Tal decréscimo é temporário e a eficiência quântica pode retornar ao seu valor inicial mais alto, quando o fluxo fotônico decresce abaixo dos níveis de saturação. A fotoinibição crônica resulta da exposição a altos níveis de luz, que danificam o sistema fotossintético e diminuem a eficiência quântica e a taxa fotossintética máxima. A fotoinibição crônica está associada ao dano e substituição da proteína D1 do centro de reação do PSII. Ao contrário da fotoinibição dinâmica, tais efeitos têm duração relativamente longa, persistindo por semanas ou meses.

O principal local do dano ao centro de reação do PSII é a proteína D1 que faz parte deste centro de reação. Esta proteína é facilmente danificada através do excesso de luz e então deve ser removida da membrana e substituída por uma cópia recentemente sintetizada. (ARO; MCCAFFERY; ANDERSON, 1993).

A restauração noturna da atividade do PSII que teve baixa regulação no período do meio dia indica a reversibilidade da fotoinibição deste período, implicando na preservação da funcionalidade do aparato fotossintético ou pelo menos nos rápidos mecanismos de reparo (GALLÉ; HALDIMANN; FELLER, 2007).

O estresse por seca é conhecido por inibir a atividade fotossintética nos tecidos devido ao desequilíbrio entre a captura de luz e sua utilização (FOYER; NOCTOR, 2000). A baixa atividade do fotossistema II resulta em um desequilíbrio entre a geração e utilização dos elétrons, resultando em mudanças no rendimento quântico (PELTZER et al., 2002).

O rendimento quântico máximo (F_v/F_m) é amplamente usado para detectar perturbações induzidas pelo estresse no aparato fotossintético (MAXWELL; JOHNSON, 2000; BAKER; ROSENQVIST, 2004). O declínio nos valores da fluorescência máxima da folha adaptada ao escuro (F_m) e a redução na F_v/F_m reflete na redução da habilidade do PSII em reduzir o aceptor primário Q_A (quinona A) (CALATAYUD; BARRENO, 2001). A F_m também é conhecida por diminuir devido a baixa temperatura ou outros estresses abióticos (PRAKASH et al., 2003; PIETRINI et al., 2005). De acordo com Gilmore, Hazlett e Debrunner, (1996) a fluorescência mínima da folha adaptada ao escuro (F_o) aumenta quando o aparato fotoquímico está danificado (PIETRINI et al., 2005). Segundo Ouzounidou (1993), Zlatev e Yordanov (2004) e Efeoğlu et al. (2009), o aumento desta variável serve como um indicativo de que houve dano ao centro de reação do PSII, pois o efeito do estresse causa inibição do ciclo de reparo do PSII em especial a proteína D1 (HAKALA et al. 2005; OHNISHI et al. 2005; NISHIYAMA et al. 2006).

Sob condição padrão, a concentração de CO_2 atmosférico é limitante da fotossíntese. Em todos os livros textos de biologia vegetal básica é esboçado que qualquer aumento na concentração de CO_2 do ambiente resulta em um relativo aumento na assimilação de CO_2 ; frequentemente tal ganho poderia resultar em taxas fotossintéticas mais que o dobro do que aqueles sob concentração de CO_2 ambiente. Assim, sob condição padrão de CO_2 mais NADPH e ATP estão disponíveis do que consumidos no ciclo de Calvin para a fixação e redução do CO_2 . Esse enorme excesso de oferta de equivalentes de redução poderia imediatamente causar uma redução total do $NADP^+$ para NADPH. Como resultado, nenhum elétron da cadeia de transporte de elétrons poderia ser transferida. Como consequência, o cloroplasto pode balancear a taxa de NADPH/ATP, pela ativação de novos drenos de elétrons ou pelo aumento da taxa de fotofosforilação. Estas vias alternativas de elétrons ajudam a ajustar o NADPH/ATP mesmo sob condições de luz não saturante (WILHELM; SELMAR, 2011). Além disso, os elétrons poderiam ser transferidos para o oxigênio, produzindo radicais superóxido, denotado como reação de Mehler ou ciclo água-água (HIDEG; SPETEA; VASS, 1995; CHEN et al., 2004).

Sob condições de estresse hídrico, a situação metabólica se torna muito mais complexa. A ausência de água induz ao fechamento estomático (CHAVES, 1991). Portanto, devido ao correspondente aumento da resistência, a concentração de CO_2 dentro da folha cai drasticamente, como resultado menos NADPH e ATP são consumidos dentro do ciclo de Calvin. Consequentemente, a concentração de $NADP^+$, e assim os potenciais aceptores de elétrons para a cadeia transportadora de elétrons decresce (GRATÃO et al., 2005; SELMAR;

KLEINWÄCHTER, 2013). Devido aos processos metabólicos mencionados, pode ser deduzido que a taxa interna de NADPH/NADP^+ é fortemente elevada sob condições de estresse. De acordo com a lei de ação de massas qualquer aumento da força redutora muda todas as reações envolvendo o consumo de NADPH para o lado de redução do equilíbrio. Consequentemente, sem mudar qualquer atividade enzimática, a taxa de síntese dos produtos secundários altamente reduzidos é aumentada (NOWAK et al., 2010; SELMAR; KLEINWÄCHTER, 2013). Portanto em plantas sob estresse por seca a sobre redução favorece a biossíntese de compostos altamente reduzidos (HARBORNE, 1988; SELMAR; KLEINWÄCHTER, 2013) entre esses produtos estão isoprenoides, fenóis e alcaloides (STEINBRECHER et al., 2006; SELMAR, 2008).

Sob condições desfavoráveis, as plantas desviam a luz absorvida para outros processos, como dissipação térmica para proteger o aparato fotossintético (DEMMIG-ADAMS; ADAMS, 1996). O “quenching” não fotoquímico (NPQ) da energia de excitação representa um importante mecanismo de fotoproteção nas plantas. Uma grande proporção de energia é dissipada pelo NPQ que converte a energia luminosa absorvida em calor (NILKENS et al., 2010). Este processo é regulado por mudanças conformacionais induzidas pela luz nas proteínas PsbS. Como consequência, a energia de excitação efetivamente é transferida da clorofila para a zeaxantina, resultando em uma massiva dissipação de energia (LI et al., 2004; SZABÓ; BERGANTINO; GIACOMETTI, 2005).

Mishra et al. (2012) observaram que o NPQ contribuiu para a proteção contra o fotodano em plantas de tomate do tipo selvagem (cv. UC82b) e transgênicas tolerantes a seca (DTL-20) submetidas ao estresse hídrico quando o potencial hídrico se encontrava acima de -1.5MPa, no entanto sob estresse hídrico severo foi observado redução significativa do NPQ de ambas as plantas com a maior redução do potencial hídrico.

Diferente do ΦPSII , a variável NPQ não é uma eficiência. Em vez disso, tem um valor maior que zero, mas sem qualquer limite superior obvio. Portanto, é necessária uma abordagem unificada para medir o particionamento da energia de excitação entre esses processos para avaliar sua relativa importância para a fotoproteção (HENDRICKSON; FURBANK; CHOW, 2004).

O ΦPSII corresponde a fração de energia que é fotoquimicamente convertida no PSII (MAXWELL; JOHNSON, 2000; KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008), a fração restante $1 - \Phi\text{PSII}$ constitui o rendimento quântico total de todos os processos de perda que é dividido em dois componentes distintos, o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (ΦNO) que reflete a fração de energia que é passivamente

dissipada na forma de calor e fluorescência, principalmente devido aos centros de reação do PSII fechados, e o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (Φ_{NPQ}) que corresponde a fração de energia dissipada na forma de calor por meio dos mecanismos de fotoproteção (NPQ). Sendo assim altos valores de Φ_{NO} refletem na inabilidade da planta em se proteger contra danos causados pelo excesso de luz, já altos valores de Φ_{NPQ} são indicativos de alta capacidade fotoprotetora (KRAMER et al., 2004; KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008).

Segundo Kramer et al. (2004) o Φ_{PSII} é válido tanto para o modelo de antena “lake” (onde as unidade fotossintéticas do centro de reação do PSII estão conectados em uma comum cama de pigmentos) como para o modelo “puddle” (onde cada centro de reação do PSII possui seu próprio sistema de antena independente). No entanto, segundo o mesmo autor o calculo do rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (Φ_{NO}) e o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (Φ_{NPQ}) são dependentes do modelo “lake”. Porém recentemente Klughammer e Schreiber (2008) demonstraram que é possível calcular estas mesmas variáveis adotando o modelo “puddle”.

Mudanças no transporte de elétrons fotossintéticos sob seca inevitavelmente levam a formação de radicais superóxido, uma vez que o oxigênio molecular compete com o $NADP^+$ pela redução no lado aceptor do PSI (LADJAL et al., 2000; REDDY et al., 2004). A limitação da assimilação de CO_2 em plantas sob déficit hídrico causa a sobre redução da cadeia de transporte fotossintética. Esse excesso de força redutora determina a re-direção da energia dos fótons em processos que favorecem a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), principalmente na cadeia de transporte de elétrons fotossintética (ASADA, 1999) e mitocondrial (MOLLER, 2001). Além disso, sob déficit hídrico a assimilação de carbono declina em favor da fotorrespiração, processo que também gera EROs em grandes quantidades (LUNA et al., 2005; CENTRITTO et al., 2005) bem como a reação de Mehler (CHEN et al., 2004).

Sendo tóxico para as células, EROs são eficientemente eliminados por antioxidantes não enzimáticos (α -tocoferol, β -caroteno, compostos fenólicos, ascorbato, glutatona) e enzimáticos. O sistema antioxidante enzimático inclui a superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), que catalisa a reação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio, e a catalase (CAT; EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11) e guaicol peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) que são capazes de desintoxicar o H_2O_2 formado (FOYER; LELANDAIS; KUNERT, 1994). A capacidade da planta para ativar o sistema de defesa oxidativo é o

principal mecanismo que prova resistência contra danos oxidativos por meio de mudanças na atividade de uma ou mais enzimas antioxidantes (BRAY, 1997; CHANDRA et al., 1998; DUBEY; CHANDRA, 2003).

Em plantas, os lipídios presentes nos tilacóides contém uma alta porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados e são suscetíveis a peroxidação (IMLAY, 2003). O conteúdo de malondialdeído (MDA), um produto da peroxidação lipídica, tem sido considerado um indicador de dano oxidativo (MØLLER et al., 2007). O estresse por seca, como outros estresses abióticos, pode levar ao estresse oxidativo por meio do aumento das EROs. As espécies reativas de oxigênio são altamente reativas e podem alterar o metabolismo normal da célula por meio de danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (MITTLER; ZILINSKAS, 1994). EROs podem também danificar diretamente alguns componentes celulares como o fotossistema II e as membranas lipídicas (SMIRNOFF, 1993).

3. OBJETIVOS

Avaliar a capacidade de recuperação de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer após estresse hídrico em função das variações das trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e atividade de enzimas antioxidantes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Câmpus de Botucatu-SP (22° 53' S, 48° 26' O), no período de setembro a outubro de 2012.

4.1. Material vegetal

Os frutos da espécie araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer) foram colhidos em fevereiro de 2011 na CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral) de São Bento do Sapucaí – SP (22° 41' S; 45° 43' O). As sementes foram semeadas em março de 2011, após serem manualmente extraídas dos frutos em água corrente, retirando-se a sua mucilagem e permanecendo sobre bancada por 24h para secagem. O tratamento fitossanitário das sementes foi feito com a imersão das mesmas em uma solução a 2% do i.a. do fungicida CAPTAN® (N-triclorometil-4-ciclo-hexeno-1,2-dicarboximida) por 1 minuto. Após o tratamento fitossanitário, a semeadura foi realizada em tubetes, com capacidade volumétrica de 50ml, preenchidos com o substrato vermiculita expandida de textura média, colocando-se 1 semente por unidade. Os tubetes foram mantidos em viveiro coberto com sombrite 50%.

Ao apresentarem em média 10cm de altura, as plantas foram transplantadas para sacos de polietileno com capacidade volumétrica de 4,5L preenchidos com vermiculita expandida de textura média. As plantas foram mantidas em casa de vegetação sob sombrite 50%, irrigadas duas vezes ao dia com água e uma vez por semana com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluída a 50% de força iônica (BARON et al., 2013) até o início do experimento que ocorreu 524 dias após a semeadura.

4.2. Delineamento experimental

O experimento foi implantado em blocos com três tratamentos (Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação) e quatro repetições de seis plantas por parcela, totalizando 24 plantas. Destas, 12 plantas foram utilizadas para as avaliações de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, atividade das enzimas antioxidantes e peroxidação de lipídeos, empregando-se uma planta por repetição de cada tratamento. As outras 12 plantas foram submetidas apenas a Suspensão de Irrigação para o monitoramento semanal do conteúdo relativo de água na folha.

4.3. Condições ambientais

As plantas foram submetidas aos tratamentos de setembro a outubro de 2012 totalizando 45 dias. No interior da casa de vegetação as plantas estavam sob sombrite 50% de luz, onde a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) medida semanalmente as 10h, momento em que ocorreu o acompanhamento semanal das trocas gasosas, apresentou uma média de $757 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As médias diárias de temperatura, umidade e déficit de pressão de vapor do ar desde o início dos tratamentos até o final (45 DAIT) estão apresentadas nas figuras 1A, 1B e 1C respectivamente. As médias de temperatura, umidade e déficit de pressão de vapor do ar durante as horas na avaliação dos três tratamentos que ocorreu aos 43 DAIT estão apresentadas nas figuras 1D, 1E e 1F.

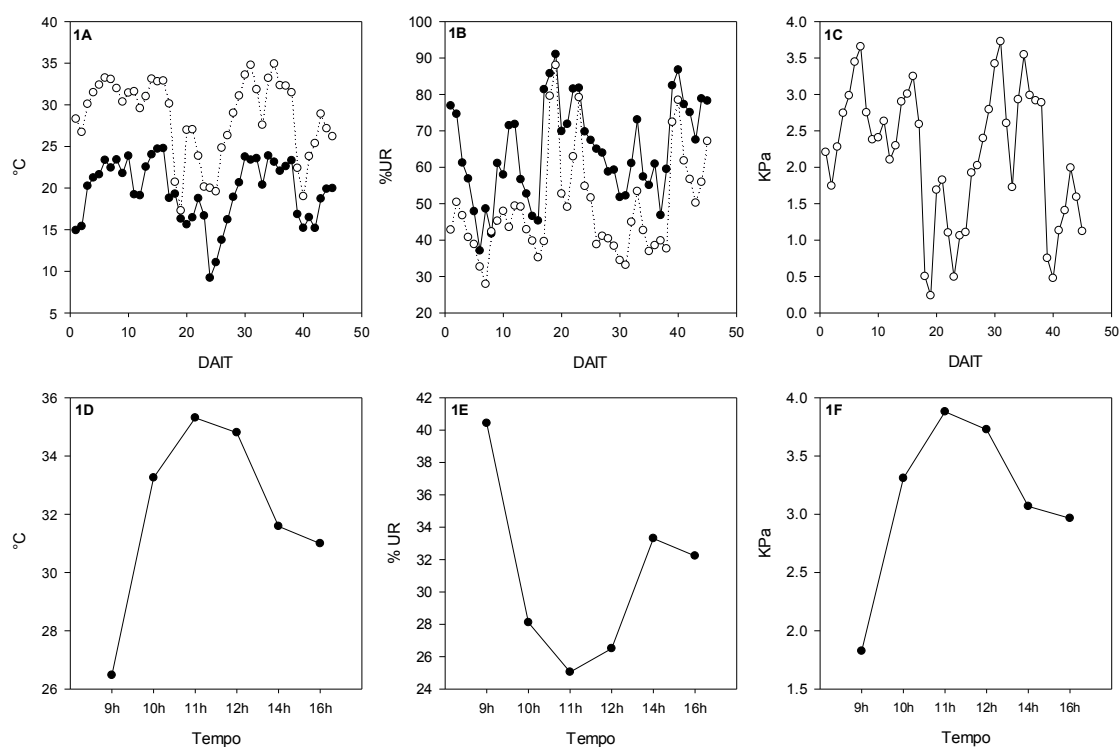


Figura 1: Médias de temperatura do ar (Fig. 1A) diurna (circulo branco) e noturna (circulo preto), umidade relativa do ar (Fig. 1B) diurna (circulo branco) e noturna (circulo preto) e déficit de pressão de vapor do ar diurna (Fig. 1C) desde o início dos tratamentos até o final (45 DAIT), e médias de temperatura do ar (Fig. 1D), umidade relativa do ar (Fig. 1E) e déficit de pressão de vapor do ar (Fig. 1F) ao longo das horas aos 43 DAIT.

4.4. Controle da irrigação

O monitoramento da perda de água do substrato foi realizado conforme Thameur et al. (2012) por meio da pesagem dos vasos (Kg) ao longo do tempo, comparado com a massa (Kg) dos mesmos quando irrigados até a capacidade máxima de retenção de água (100%), condição em que os vasos foram irrigados até a ocorrência de percolação e posteriormente mantidos durante a noite para a saída do excesso de água. Nesse período, a superfície do vaso foi vedada para evitar evaporação. Na manhã seguinte os vasos eram pesados e as massas obtidas foram utilizadas como as suas massas na capacidade máxima de retenção de água (100%). Esses dados foram usados para calcular o conteúdo de água no substrato (CAS) pela fórmula: $CAS = (MV_{\text{tratamento}} / MV_{100\%}) * 100$ (VARONE et al., 2012), duas vezes por semana em cada tratamento.

Os vasos foram mantidos com sua máxima retenção de água até 524 dias após a semeadura quando foi dado início aos tratamentos. No tratamento Irrigação foram realizadas duas irrigações por dia para manter a massa do vaso entre 90 e 100% da sua capacidade de retenção inicial (100%). No tratamento Suspensão de Irrigação houve interrupção da irrigação aos 524 dias após a semeadura, quando foi considerado o início dos tratamentos. A suspensão da irrigação teve duração de 45 dias (Dias após início dos tratamentos - DAIT), dos 524 aos 569 DAIT. A reidratação no tratamento Reidratação foi realizada após observação visual da murcha das folhas (73% de conteúdo relativo de água na folha) e assimilação de carbono nula, o que ocorreu aos 38 dias após o início dos tratamentos quando o conteúdo de água no substrato era de 28%.

4.5. Conteúdo relativo de água nas folhas

A cada semana foi retirada uma folha completamente expandida do segundo ou terceiro nó de uma planta por repetição para avaliar o conteúdo relativo de água na folha (CRA), das plantas sob suspensão de irrigação (monitoramento). E aos 38 DAIT, quando ocorreu a reidratação, também foi avaliado o conteúdo relativo de água da folha do tratamento de Irrigação para a comparação entre o menor CRA obtido do tratamento de Suspensão de Irrigação (73 %).

Para a avaliação foram utilizados dois quadrados (2cm x 2cm) de uma folha madura por repetição que foram pesados para determinação da massa fresca (MF). Logo após a pesagem as amostras foram imersas em água deionizada por quatro horas para a determinação da massa túrgida (MT). Após esta determinação, as amostras foram levadas para estufa de circulação forçada de ar a 70°C até atingirem massa constante para a determinação da massa

seca (MS). Os valores das massas obtidas foram usados na fórmula proposta por Weatherley (1949), $CRA = (MF - MS) / (MT - MS) * 100$, para a determinação do CRA.

4.6. Trocas gasosas

As trocas gasosas foram monitoradas semanalmente nos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação desde o início dos tratamentos com o auxílio de um analisador de gás CO₂ e vapor d'água por radiação infra-vermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo LI-6400, LI-COR, Lincon, NE, USA). Para o monitoramento foram avaliadas quatro repetições de cada tratamento, realizando-se as medidas na 2^a e 3^a folhas completamente expandidas. As medidas foram representadas pela média das duas folhas e submetidas a análise de variância ANOVA, sendo comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

As trocas gasosas realizadas nos tratamentos Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação ocorreram 43 DAIT no período das 9h, 10h, 11h, 12h, 14h e 16h, sendo avaliadas quatro repetições de cada tratamento, realizando-se as medidas na 2^a e 3^a folhas completamente expandidas. As medidas foram representadas pela média das duas folhas e submetidas a análise de variância ANOVA em fatorial 3 x 6 (tratamentos x horário de avaliação), sendo comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Foram analisadas as seguintes variáveis de trocas gasosas: taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (G_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), eficiência de carboxilação (A/C_i) (CAEMMERER; FARQUHAR, 1981) e a eficiência do uso da água (A/E) (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) (SINCLAIR et al., 1984) adotando-se 900 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) para o período das 9h, 10h, 11h e 14h, 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFF para as 12h e 700 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFF para as 16h.

4.7. Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada utilizando-se um fluorômetro de pulso modulado (JUNIOR-PAM, Walz®). As medidas foram realizadas em dois momentos, nos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação aos 32 DAIT, seis dias antes da reidratação, e nos tratamentos Irrigação e Reidratação aos 44 DAIT, seis dias após a reidratação.

Em ambos os momentos as avaliações foram realizadas no período das 5h, 12h e 17h. Com exceção do período das 5h as folhas foram aclimatadas a um período de 30 minutos no escuro cobrindo-as com papel alumínio. Em seguida, um pulso de saturação de 10000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFF com 0.6s foi aplicado para a obtenção da F_m (fluorescência máxima adaptada

ao escuro) e F_m' (fluorescência máxima adaptada a luz). Além da fluorescência máxima da folha adaptada a luz e ao escuro, também foram obtidos os valores da F_o' (fluorescência mínima adaptada ao escuro) e F_o' (fluorescência mínima adaptada a luz). Entre cada pulso de saturação foram dados oito pulsos de luz actínica de 125, 190, 285, 420, 625, 820, 1150 e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFF de 15 segundos de duração.

Por meio da F_m , F_o , F_m' e F_o' foram calculados o rendimento quântico máximo (F_v/F_m) (KITAJIMA; BUTLER, 1975), rendimento quântico efetivo (ΦPSII) (GENTY et al., 1989), “quenching” fotoquímico (qP) (SCHREIBER et al., 1986), “quenching” não fotoquímico (NPQ) (BILGER; BJÖRKMAN, 1990), taxa de transporte de elétrons (ETR), considerando que 84% da luz seja absorvida pela clorofila, com 50% dos fótons ativando a clorofila do fotossistema II e 50% o fotossistema I, rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (ΦNO) (KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008) e rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (ΦNPQ) (KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008). As medidas do F_v/F_m , F_m , F_o , ΦPSII , qP, ETR, NPQ, ΦNO e ΦNPQ foram representadas pela média das duas folhas, sendo que o F_v/F_m , F_m e F_o foram submetidas a análise de variância ANOVA em fatorial 2 x 3 (tratamentos x horário de avaliação), aos 32 e 44 DAIT, sendo comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As médias das demais variáveis foram representadas com desvio padrão.

4.8. Análises bioquímicas

Para a determinação da atividade das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, SOD, EC. 1.15.1.1 e peroxidase, POD, EC. 1.11.1.7), concentração de proteínas e peroxidação de lipídeos foram coletadas amostras de folhas (1ª a 4ª completamente expandidas) e raízes de quatro repetições dos tratamentos Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação aos 45 DAIT. As amostras foram maceradas em almofariz com auxílio de nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -20°C.

4.9. Proteínas solúveis totais

Para a determinação da atividade específica das enzimas antioxidantes foi necessário avaliar a concentração de proteínas nas folhas e raízes dos três tratamentos, para isso foi utilizado a metodologia de Bradford, (1976).

Foi utilizado 100 mg de material fresco de folhas e raízes macerados em 2ml de tampão fosfato de potássio 0,1mol/L em pH 6,8 com adição de 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O material resultante foi centrifugado a 12000 RPM por 40

minutos onde o sobrenadante obtido foi retirado e usado como extrato para determinação da concentração de proteínas.

O reagente de Bradford usado na determinação da concentração de proteínas foi preparado com 100mg de coomassie brilliant blue G-250 dissolvido em 50 ml de etanol 95%, a essa solução foi adicionado 100ml de ácido fosfórico 85% (m/v) e a solução resultante foi diluída para um volume final de 1L.

A curva padrão utilizada para os cálculos da concentração de proteínas foi feita utilizando 100, 80, 60, 40, 20 e 0µg de proteína (Caseína) com posterior adição de reagente de Bradford. A solução resultante foi levada para leitura em espectro fotômetro 595nm.

Para as folhas e raízes 50µl do extrato foram adicionados em um tubo de ensaio e seu volume completado para 0,1ml de tampão, em seguida foi adicionado 2,5ml de reagente de Bradford e os tubos foram agitados por um vortex. As leituras das amostras foram feitas em espectrofotômetro 595nm, utilizando água deionizada como branco.

4.10. Superóxido dismutase (SOD, EC. 1.15.1.1)

Para a determinação da atividade da superóxido dismutase foi utilizado 100 mg de material fresco de folhas e raízes macerados em 2ml de tampão fosfato de potássio 0,1mol/L em pH 6,8 com adição de 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O material resultante foi centrifugado a 12000 RPM por 40 minutos onde o sobrenadante obtido foi retirado e usado como extrato enzimático.

A atividade da superóxido dismutase será avaliada através da capacidade de inibir a redução fotoquímica do azul nitro tetrazólio (NBT), usando o método de Giannopolitis e Ries, (1977). Serão usados 50µL de extrato de enzimas que serão adicionados a um meio de reação constituído por 50mM de tampão fosfato, pH 7,8, 13mM de metionina, 75µM de NBT, 2µM de riboflavina e 100nM de EDTA com volume final de 3ml.

A reação de redução do NBT para a formação de formazana azul ocorrerá pela fotorredução, para isso será usado uma lâmpada fluorescente de 15W mantida em uma caixa fechada a 25°C. Após 5 minutos de exposição a luz a reação será interrompida quando a iluminação for desligada. A formazana azul formada durante este período será medida em espectrofotômetro a 560nm.

Uma mistura de reação semelhante a anterior também será medida a 560nm, porém ficará por 5 minutos no escuro para servir de controle e assim será subtraído da amostra que recebeu iluminação. Uma unidade de SOD será definida como a quantidade de enzima necessária para inibir a 50% a fotorredução do NBT.

Os dados da atividade da superóxido dismutase foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.11. Peroxidase (POD, EC. 1.11.1.7)

Para a determinação da atividade da POD foi utilizado 100 mg de material fresco de folhas e raízes macerados em 2ml de tampão fosfato de potássio 0,1mol/L em pH 6,8 com adição de 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O material resultante foi centrifugado a 12000 RPM por 40 minutos onde o sobrenadante obtido foi retirado e usado como extrato enzimático.

A atividade da POD foi determinada de acordo com Teisseire e Guy, (2000) onde foram utilizados 30 μ L de extrato de enzimas em um sistema de reação constituído por 50mM L^{-1} de tampão fosfato de potássio de pH 6,5; 20mM L^{-1} de pirogalol e 5mM L^{-1} de peróxido de hidrogênio totalizando um volume de 1ml.

A reação foi conduzida em temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro a 430nm. Para o cálculo da atividade específica da POD foi usando coeficiente de extinção molar de 2,47 $mM L^{-1} cm^{-1}$ e o resultado foi expresso em μ mol de purpurogalina $min^{-1} mg^{-1}$ de proteína.

Os dados da atividade da peroxidase foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.12. Peroxidação de lipídeos

O nível de peroxidação de lipídeos foi avaliado utilizando a metodologia de Heath e Packer, (1968). Para isso foram utilizados 100mg de material fresco de folhas e raízes os quais foram macerados em almofariz adicionando-se 2ml de um meio de reação constituído por ácido tiobarbitúrico (0,25%, m/v) e ácido tricloro acético (10%, m/v). A solução foi acondicionada em tubos de ensaio vedados e incubados em banho maria a 95°C por 1 hora. A solução resultante foi centrifugada a 12000RPM por 40 minutos a 25°C, o sobrenadante foi coletado e levado para leitura em espectrofotômetro em dois comprimentos de onda sendo um de 532 e outro de 600nm. O montante de malondialdeído (MDA) formado foi calculado utilizando um coeficiente de extinção de 155 $mM^{-1} cm^{-1}$.

Os dados do conteúdo de MDA formado foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme estabelecido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), os resultados obtidos neste trabalho foram reunidos em capítulos, redigidos na forma de artigos segundo as normas da revista “Journal of experimental botany”:

Capítulo I: Será que plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer se recuperam após estabelecimento de estresse hídrico?

Capítulo II: Fluorescência da clorofila *a* em plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer submetidas a estresse hídrico e após reidratação.

5.1. Capítulo I

Será que plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer se recuperam após estabelecimento de estresse hídrico?

Luís Paulo Benetti Mantoan¹ e Gisela Ferreira¹

¹Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista - UNESP.

Resumo - O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de plantas de *Annona emarginata* em se recuperar após estresse hídrico. O experimento foi implantado em blocos casualizados com três tratamentos (Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação) e quatro repetições de seis plantas por parcela totalizando 24 plantas. As análises foram constituídas de monitoramento semanal das trocas gasosas (assimilação de CO₂, *A*; condutância estomática, *G_s*; transpiração, *E*; concentração de carbono interno, *C_i*; eficiência de uso da água, *A/E* e eficiência de carboxilação, *A/C_i*) e ao longo das horas no 43º Dia Após o Início dos Tratamentos (DAIT), atividade das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, SOD, EC. 1.15.1.1 e peroxidase, POD, EC. 1.11.1.7) e peroxidação de lipídeos no 45º DAIT e conteúdo relativo de água das folhas (CRA). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Aos 38 DAIT (dia da reidratação) o CRA do tratamento Irrigação caiu de 87% para 73% no tratamento Suspensão de Irrigação, além de assimilação de CO₂ ser nula. Embora o CRA das plantas reidratadas tenha se recuperado ao nível das plantas no início dos tratamentos (90% aos 44 DAIT e 89% no 1º DAIT respectivamente), as trocas gasosas ao longo das horas do 43º DAIT (cinco dias após reidratação) apresentaram recuperação parcial. No entanto, a atividade das enzimas SOD e POD tanto de folhas como de raízes aos 45 DAIT apresentou recuperação no tratamento Reidratação. Porém não foi observado alterações no nível de peroxidação de lipídeos tanto em folhas como em raízes nos três tratamentos o que demonstrou ausência de danos por espécies reativas de oxigênio. Embora a espécie *A. emarginata* tenha apresentado recuperação da atividade das enzimas SOD e POD após a reidratação e não tenha sido detectada peroxidação lipídica causada pelas espécies reativas de oxigênio, as trocas gasosas tiveram capacidade de recuperação parcial após o estabelecimento de estresse hídrico por falta de água.

Palavras-chave: Annonaceae, araticum-de-terra-fria, trocas gasosas, reidratação.

Abstract - The present study aimed to evaluate the ability of *Annona emarginata* plants in recover after water stress. The experiment was implanted in a randomized block design with three treatments (Irrigation, Suspension of Irrigation and Rehydration) and four replicates of six plants per plot totaling 24 plants. Analyses were constituted of weekly gas exchange monitoring (CO_2 assimilation, A ; stomatal conductance, G_s ; transpiration, E ; internal carbon concentration, C_i ; water use efficiency, A/E and carboxylation efficiency, A/C_i) and along of the hours of 43rd Day After Treatments Beginning (DATB), antioxidant enzymes activities (superoxide dismutase, SOD, EC. 1.15.1.1 and peroxidase, POD, EC. 1.11.1.7) and lipid peroxidation in 45th DATB and relative water content of leaves (RWC). The data were submitted to analysis of variance and means were compared by Tukey test at 5% probability. At 38 DATB (day of rehydration) the RWC of Irrigation treatment fell from 87% to 73% in the Suspension of Irrigation treatment, besides of CO_2 assimilation be null. Although the RWC of rehydrated plants has recovered to the level of the plants at the beginning of treatment (90% at 44 DATB and 89% in the first DATB respectively), the gas exchange along of the hours of 43rd DATB (five days after rehydration) showed partial recovery. However, the activity of SOD and POD both leaf and root at 45 DATB showed recovery in rehydration treatment. However, was not observed changes in the level of lipid peroxidation, both in leaves and roots in the three treatments which showed absence of damage by reactive oxygen species. Although the species *A. emarginata* has presented recovery of the SOD and POD activity after rehydration and has not been detected lipid peroxidation caused by reactive oxygen species, gas exchange had partial recovery after the establishment of water stress from lack of water.

Keywords: Annonaceae, araticum-de-terra-fria, gas exchange, rehydration.

Introdução

A baixa disponibilidade de água é considerada a mais séria restrição ambiental para a produção agrícola. Assim, pesquisas para o uso mais eficiente da água podem-se tornar a solução para o aumento da produtividade em ambientes onde ocorra a falta de água, especialmente em áreas do semiárido, como no nordeste do Brasil (Chaves *et al.*, 2003; Endres, 2007; Sinclair *et al.*, 2008). Além disso, um melhor entendimento do efeito da seca nas plantas é vital para melhorar a gestão de práticas e para prever o destino da vegetação natural sob as mudanças climáticas (Chaves *et al.*, 2003). Existem várias lacunas nas bases de dados relativos à ecofisiologia de frutíferas tropicais (Miranda *et al.*, 2008; Okumura *et al.*, 2008), principalmente quando consideramos fatores ambientais, tal como disponibilidade hídrica e temperatura (Damatta, 2007).

Entre os fatores ambientais estudados que influenciam o gênero *Annona* pode-se incluir a temperatura (Yamada *et al.*, 1996; Higuchi *et al.*, 1998; Ojeda *et al.*, 2004), umidade do solo (Lemos-Filho, 2000), salinidade (Cavalcante *et al.*, 2001) e níveis de água no solo (Núñez-Elisea *et al.*, 1999; Endres, 2007).

O araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer), induz maior vigor à copa atemóia quando utilizado como portaenxerto, apresenta boa compatibilidade, resistência a fungos presentes no solo (Bonaventure, 1999; Tokunaga, 2005; Ferreira *et al.*, 2013) e menor atratividade às brocas que atacam o colo das plantas (Bettiol Neto *et al.*, 2006). De acordo com Tokunaga (2005) esta espécie apresenta tolerância a solos com falta d'água, sendo indicado como alternativa adequada para uso como portaenxerto para estes tipos de solo.

A assimilação fotossintética pode ser afetada pela nutrição, regime de luz, estresse hídrico e outros parâmetros fisiológicos. Mudanças na taxa de assimilação de CO₂ refletem mudanças na condutância estomática e ou capacidade fotossintética do mesófilo (Caemmerer e Farquhar, 1981; Medrano *et al.*, 2002; Ditmarová *et al.*, 2010).

A fotossíntese é sensível ao déficit hídrico devido ao fechamento estomático para conservar água o que priva as folhas do CO₂, assim a assimilação de carbono declina em favor da fotorrespiração, processo que gera espécies reativas de oxigênio (EROs) em grandes quantidades (Luna *et al.*, 2005; Centritto *et al.*, 2005). A habilidade para balancear a formação e desintoxicação das EROs está relacionada com a tolerância ao déficit hídrico (Tian e Lei, 2006; Abbasi *et al.*, 2007; Koussevitzky *et al.*, 2008).

O debate de como o déficit hídrico limita principalmente a fotossíntese através do fechamento estomático ou através da debilitação metabólica tem ocorrido em diversos

trabalhos que investigaram esses efeitos na fotossíntese (Tezara *et al.*, 1999; Cornic, 2000; Flexas e Medrano, 2002a; Chaves e Oliveira, 2004). Entretanto, o conhecimento sobre a limitação fisiológica da recuperação da fotossíntese após diferentes intensidades de estresse hídrico bem como sob diferentes condições ambientais são escassos (Chaves, 2009).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer em se recuperar após estresse hídrico.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Câmpus de Botucatu-SP (22° 53’ S, 48° 26’ O), no período de setembro a outubro de 2012.

Delineamento experimental

O experimento foi implantado em blocos casualizados com três tratamentos (Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação) e quatro repetições de seis plantas por parcela, totalizando 24 plantas. Destas, 12 plantas foram utilizadas para as avaliações de trocas gasosas, atividade das enzimas antioxidantes e peroxidação de lipídeos, empregando-se uma planta por repetição de cada tratamento. As outras 12 plantas foram submetidas apenas a Suspensão de Irrigação para o monitoramento semanal do conteúdo relativo de água na folha.

Condições ambientais

No interior da casa de vegetação as plantas estavam sob sombrite 50% de luz, onde a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) medida semanalmente às 10h, momento em que ocorreu o acompanhamento semanal das trocas gasosas, apresentou uma média de 757 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As médias diárias de temperatura, umidade e déficit de pressão de vapor do ar desde o início dos tratamentos até o final (45 DAIT) estão apresentadas nas figuras 1A, 1B e 1C respectivamente. As médias de temperatura, umidade e déficit de pressão de vapor do ar durante as horas na avaliação das trocas gasosas dos três tratamentos que ocorreu aos 43 DAIT estão apresentadas nas figuras 1D, 1E e 1F.

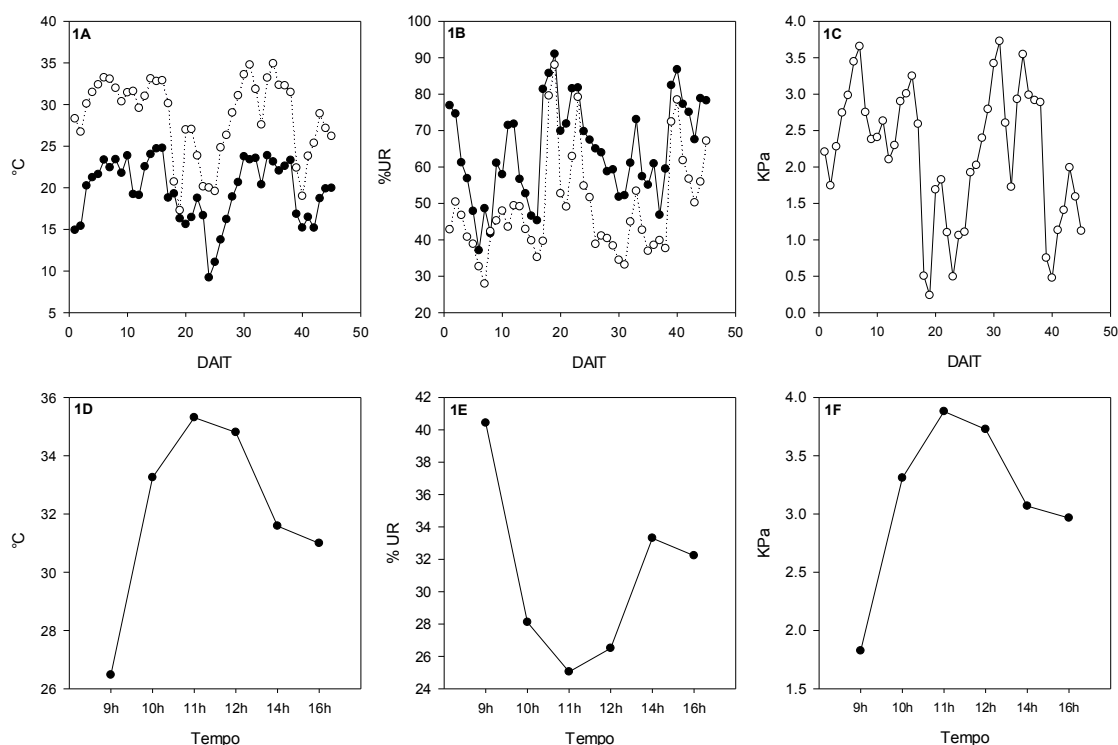


Figura 1: Médias de temperatura do ar (1A) diurna (circulo branco) e noturna (circulo preto), umidade relativa do ar (1B) diurna (circulo branco) e noturna (circulo preto) e déficit de pressão de vapor do ar diurna (1C) desde o início dos tratamentos até o final (45 DAIT), e médias de temperatura do ar (1D), umidade relativa do ar (1E) e déficit de pressão de vapor do ar (1F) ao longo das horas aos 43 DAIT.

Controle da irrigação

O monitoramento da perda de água do substrato foi realizado conforme Thameur *et al.* (2012) por meio da pesagem dos vasos (Kg) ao longo do tempo, comparada com a massa (Kg) dos mesmos quando irrigados até a capacidade máxima de retenção de água (100%), condição em que os vasos foram irrigados até a ocorrência de percolação e posteriormente mantidos durante a noite para a saída do excesso de água. Nesse período, a superfície do vaso foi vedada para evitar evaporação. Na manhã seguinte os vasos eram pesados e as massas obtidas foram utilizadas como as suas massas na capacidade máxima de retenção de água (100%). Esses dados foram usados para calcular o conteúdo de água no substrato (CAS) pela formula: $CAS = (MV_{tratamento} / MV_{100\%}) * 100$ (Varone *et al.*, 2012), duas vezes por semana em cada tratamento.

Os vasos foram mantidos com sua máxima retenção de água até 524 dias após a semeadura quando foi dado início aos tratamentos. No tratamento Irrigação foram realizadas

duas irrigações por dia para manter a massa do vaso entre 90 e 100% da sua capacidade de retenção inicial (100%). No tratamento Suspensão de Irrigação houve interrupção da irrigação aos 524 dias após a semeadura (início dos tratamentos) e esta suspensão da irrigação teve duração de 45 dias (Dias Após Início dos Tratamentos - DAIT), dos 524 aos 569 DAIT. A reidratação (tratamento Reidratação) foi realizada após observação visual da murcha das folhas (73% de conteúdo relativo de água na folha) e assimilação de carbono nula, o que ocorreu aos 38 dias após o início dos tratamentos quando o conteúdo de água no substrato era de 28%.

Conteúdo relativo de água nas folhas

A cada semana foi retirada uma folha completamente expandida do segundo ou terceiro nó de uma planta por repetição para avaliar o conteúdo relativo de água na folha (CRA), das plantas sob suspensão de irrigação (monitoramento). E aos 38 DAIT, quando ocorreu a reidratação, também foi avaliado o conteúdo relativo de água da folha do tratamento de Irrigação para a comparação com o CRA obtido do tratamento Suspensão de Irrigação (73%).

Para a avaliação foram utilizados dois quadrados (2cm x 2cm) de uma folha madura por repetição que foram pesados para determinação da massa fresca (MF). Logo após a pesagem as amostras foram imersas em água deionizada por quatro horas para a determinação da massa túrgida (MT). Após esta determinação, as amostras foram levadas para estufa de circulação forçada de ar a 70°C até atingirem massa constante para a determinação da massa seca (MS). Os valores das massas obtidas foram usados na fórmula proposta por Weatherley (1949), $CRA = (MF - MS) / (MT - MS) * 100$, para a determinação do CRA.

Trocas gasosas

As trocas gasosas foram monitoradas semanalmente nos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação desde o início dos tratamentos com o auxílio de um analisador de gás CO₂ e vapor d'água por radiação infra-vermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo LI-6400, LI-COR, Lincon, NE, USA). Para o monitoramento foram avaliadas quatro repetições de cada tratamento, realizando-se as medidas na 2ª e 3ª folhas completamente expandidas. As medidas foram representadas pela média das duas folhas e submetidas a análise de variância ANOVA, sendo comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

As trocas gasosas realizadas nos tratamentos Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação ocorreram 43 DAIT (cinco dias após reidratação) às 9h, 10h, 11h, 12h, 14h e 16h,

sendo avaliadas quatro repetições de cada tratamento, realizando-se as medidas na 2ª e 3ª folhas completamente expandidas. As medidas foram representadas pela média das duas folhas e submetidas a análise de variância ANOVA em fatorial 3 x 6 (tratamentos x horário de avaliação), sendo comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Foram analisadas as seguintes variáveis de trocas gasosas: taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (G_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$), eficiência de carboxilação (A/C_i) (Caemmerer e Farquhar, 1981) e eficiência do uso da água (A/E) ($\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) (Sinclair *et al.*, 1984) adotando-se 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) para o período das 9h, 10h, 11h e 14h, 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de DFFF para as 12h e 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de DFFF para as 16h.

Análises bioquímicas

Para a determinação da atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase EC. 1.15.1.1 e peroxidase EC. 1.11.1.7) e peroxidação de lipídeos foram coletadas amostras de folhas (1ª a 4ª completamente expandidas) e raízes de quatro repetições dos tratamentos Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação aos 45 DAIT no período das 10h. As amostras foram maceradas em almofariz com auxílio de nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -20°C.

Enzimas antioxidantes

Para a determinação da atividade específica das enzimas antioxidantes foi necessário avaliar a concentração de proteínas nas folhas e raízes dos três tratamentos, para isso foi utilizado a metodologia de Bradford, (1976). Para isso, foi usado 100 mg de material fresco de folhas e raízes macerados em 2ml de tampão fosfato de potássio 0,1mol/L em pH 6,8 com adição de 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O material resultante foi centrifugado a 12000 RPM por 40 minutos onde o sobrenadante obtido foi retirado e usado como extrato para determinação da concentração de proteínas.

Superóxido dismutase (SOD, EC. 1.15.1.1)

Para a determinação da atividade da superóxido dismutase foi usado o método de Giannopolitis e Ries, (1977), utilizando 100 mg de material fresco de folhas e raízes macerados em 2ml de tampão fosfato de potássio 0,1mol/L em pH 6,8 com adição de 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O material resultante foi centrifugado a 12000 RPM por

40 minutos onde o sobrenadante obtido foi retirado e usado como extrato enzimático. Os dados da atividade da superóxido dismutase foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey a 5% de probabilidade.

Peroxidase (POD, EC. 1.11.1.7)

Para a determinação da atividade da POD foi usado o método Teisseire e Guy, (2000), utilizando 100 mg de material fresco de folhas e raízes macerados em 2ml de tampão fosfato de potássio 0,1mol/L em pH 6,8 com adição de 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O material resultante foi centrifugado a 12000 RPM por 40 minutos onde o sobrenadante obtido foi usado como extrato enzimático. Os dados da atividade da peroxidase foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey a 5% de probabilidade.

Peroxidação de lipídeos

O nível de peroxidação de lipídeos foi avaliado utilizando a metodologia de Heath e Packer, (1968). Para isso foram utilizados 100mg de material fresco de folhas e raízes os quais foram macerados em almofariz adicionando-se 2ml de um meio de reação constituído por ácido tiobarbitúrico (0,25%, m/v) e ácido tricloro acético (10%, m/v). A solução foi acondicionada em tubos de ensaio vedados e incubados em banho maria a 95°C por 1 hora. A solução resultante foi centrifugada a 12000RPM por 40 minutos a 25°C. A leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro em dois comprimentos de onda sendo um de 532 e outro de 600nm. O montante de malondialdeído (MDA) formado foi calculado utilizando um coeficiente de extinção de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os dados do conteúdo de MDA formado foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

Estado hídrico da planta

Os vasos sob suspensão de irrigação apresentaram redução constante no conteúdo de água no substrato ao longo do tempo (Figura 2A), alcançando 28% aos 38 DAIT. E nas folhas o conteúdo relativo de água foi reduzido de 87% no tratamento Irrigação para 73% no tratamento Suspensão de Irrigação aos 38 DAIT (Figura 2B). Apesar da constante queda no conteúdo de água no substrato ao longo do tempo (Figura 2A) o mesmo não ocorreu de modo

tão acentuado em relação ao conteúdo relativo de água na folha, que se manteve praticamente estável até 24 DAIT para posterior queda até os 38 DAIT atingindo os 73% (Figura 2B).

No entanto, após a reidratação, realizada 38 DAIT, com o aumento da quantidade de água no substrato (99%) (Figura 2A) o conteúdo relativo de água na folha alcançou 90% aos 44 DAIT (Figura 2B).

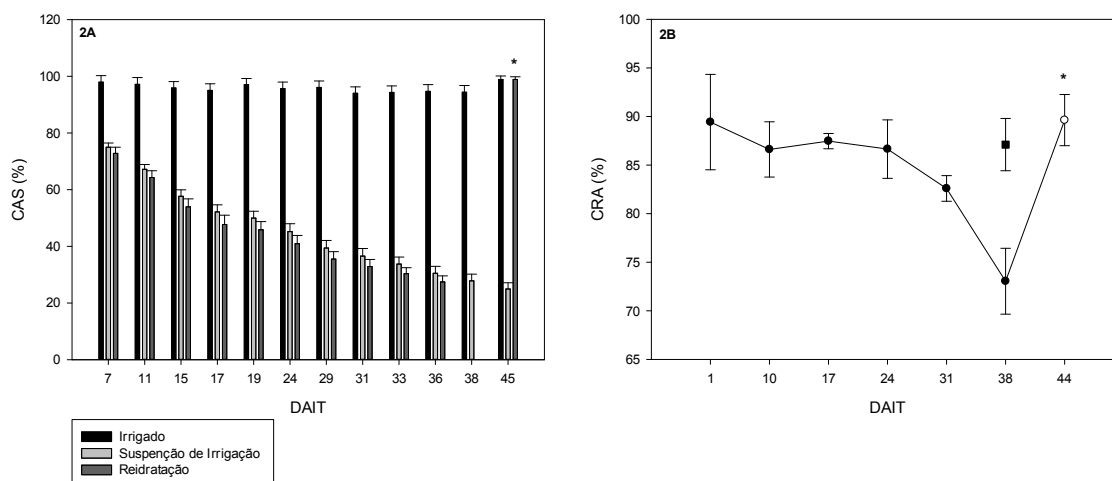


Figura 2: Monitoramento do conteúdo de água no substrato (CAS) (%) (2A) para os tratamentos Irrigação (barra preta), Suspensão de Irrigação (barra cinza clara) e Reidratação (barra cinza escuro indicada com asterisco) e conteúdo de água na folha (CRA) (%) (2B) para os tratamentos Suspensão de Irrigação durante os 38 DAIT (circulo preto), Irrigação aos 38 DAIT (quadrado preto) e Reidratação aos 44 DAIT indicado pelo asterisco (circulo branco). Valores representam médias $\pm$ desvio padrão de 4 repetições por tratamento.

Monitoramento das trocas gasosas

Ao se analisar as trocas gasosas ao longo de 43 DAIT, verificou-se que houve diferença significativa entre o tratamento Irrigação e Suspensão de Irrigação ao longo dos 43 DAIT nas diferentes variáveis. A assimilação de carbono (A) (Figura 3A), eficiência de carboxilação (A/C_i) (Figura 3B), condutância estomática (G_s) (Figura 3C) e transpiração (E) (Figura 3D) das plantas sob suspensão de irrigação apresentaram redução significativa a partir dos 12 DAIT em comparação com plantas mantidas irrigadas. Aos 30 DAIT foram verificados valores negativos para a A que representam assimilação nula sendo portanto uma condição de estresse, comportamento semelhante foi observado para a eficiência de carboxilação (A/C_i).

É possível observar que a G_s (Figura 3C) das plantas submetidas a suspensão de irrigação foi reduzida até 16 DAIT e a partir daí se manteve constante. A E também foi

diminuída drasticamente até 26 DAIT mantendo-se (Figura 3D) constante. As plantas do tratamento Irrigação apresentaram instabilidade nas médias de G_s e E com redução aos 16 e 26 DAIT respectivamente.

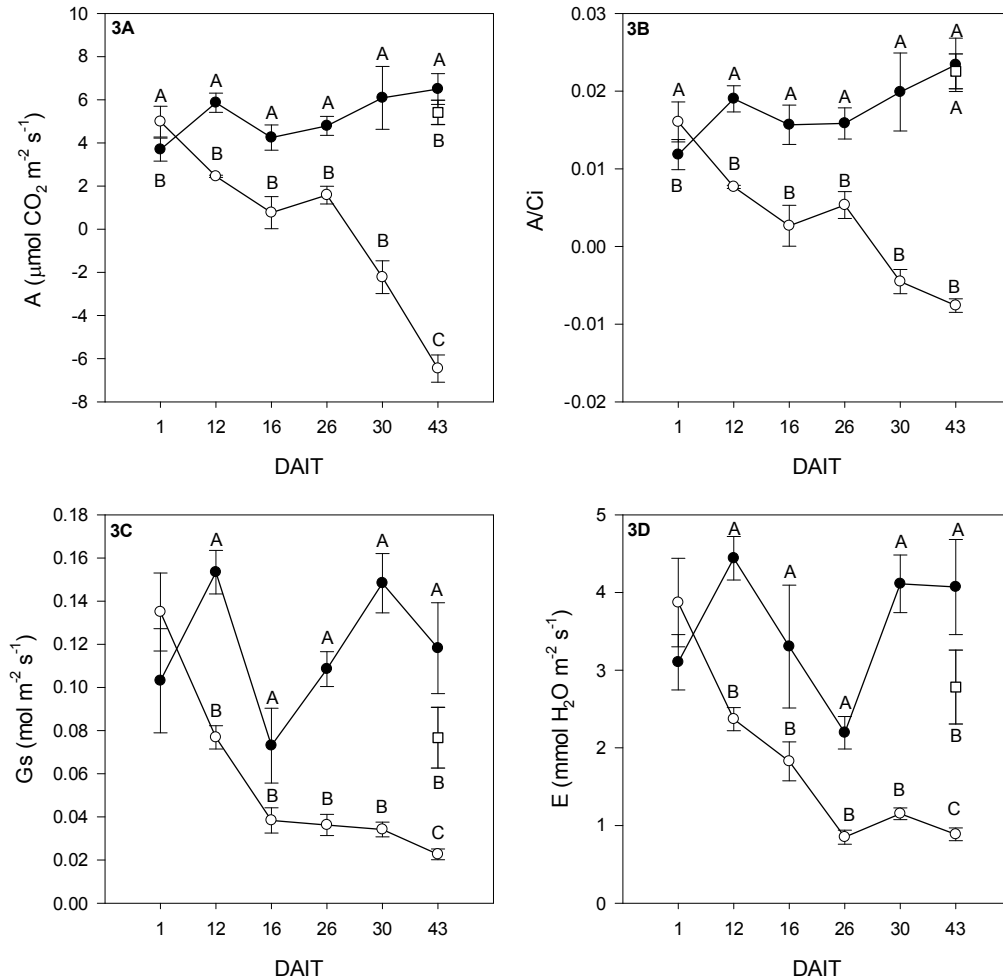


Figura 3: Assimilação de carbono (A) (3A), eficiência de carboxilação (A/C_i) (3B), condutância estomática (G_s) (3C) e transpiração (E) (3D) durante 43 dias após o início dos tratamentos. Círculos pretos representam o tratamento Irrigação, círculos brancos representam o tratamento Suspensão de Irrigação e quadrados brancos representam o tratamento Reidratação. Letras mostram a diferença entre os tratamentos, pelo teste de Tukey 5%. Valores representam médias $\pm$ desvio padrão de 4 repetições.

Trocas gasosas ao longo do dia

Aos 43 DAIT verificou-se que as plantas reidratadas aos 38 DAIT ainda não apresentavam recuperação total das trocas gasosas, quando comparadas às plantas sob irrigação (Figuras 4A, 4B, 4C, 4D, 4E e 4F, tabela 1 e tabela 2).

Deste modo durante o 43º dia (Figura 4A e na tabela 1) observa-se que a assimilação de carbono (A) foi maior em plantas irrigadas do que em reidratadas às 9 e 10h. O tratamento Irrigação apresentou plantas com maiores valores de assimilação de carbono as 9 e 10h, enquanto no tratamento Reidratação as plantas apresentaram os maiores valores de A entre 9 e 11h, após esse período a A foi reduzida para ambos os tratamentos.

Considerando o período das 9 e 10h onde a assimilação de CO_2 ao longo do tempo foi alta tanto para o tratamento Irrigação como Reidratação, é possível observar que a recuperação da assimilação das plantas reidratadas no período das 9h foi de 64,8% e de 83,3% as 10h (Tabela 2). Nestes mesmos momentos também se verifica que a condutância estomática apresentou recuperação de 58,3% as 9h e 64,5% as 10h. No entanto, a concentração de carbono interno (Ci) apresentou recuperação de 95,2% as 9h e de 87,2% as 10h, já com relação a eficiência de carboxilação (A/Ci) a recuperação as 9h foi de 68,1% e de 96,4% as 10h o que coincidiu com o aumento da assimilação e redução da Ci as 10h.

A suspensão de irrigação resultou em plantas com assimilação de carbono nula nas diferentes horas do dia, uma vez que os valores obtidos foram negativos, por isso estes dados não foram apresentados.

A concentração de carbono interno (Ci) das plantas reidratadas ao longo do dia apresentou os maiores valores às 9, 12, 14 e 16h e os menores às 10 e 11h (Figura 4D e tabela 1).

As menores concentrações de carbono interno estão relacionadas com o aumento do consumo desse carbono como observado pelo aumento da eficiência de carboxilação e ao mesmo tempo também podem estar relacionadas a redução da G_s que geraria aumento da resistência a entrada de CO_2 (Figura 4F e tabela 1) que foi maior no período das 10 e 11h.

As plantas do tratamento Irrigação apresentaram concentração de carbono interno constante às 9, 10, 11, 12 e 16h e redução da eficiência de carboxilação (A/Ci) a partir das 11h com os menores valores às 12h.

Essa diferença na eficiência de carboxilação teria surgido da redução da assimilação de carbono (A) ao longo do dia que acompanhou um mesmo padrão para a eficiência de carboxilação (A/Ci), uma vez que o cálculo da mesma depende da assimilação de carbono.

As plantas em suspensão de irrigação apresentaram altos valores de carbono interno com grande instabilidade entre as repetições devido ao fechamento estomático gerado pelo estresse severo, por isso esse dado não foi utilizado nesse estudo.

A G_S (Figura 4B e tabela 1) e a E (Figura 4C e tabela 1) variaram nas plantas submetidas aos três tratamentos até as 12h, sendo que as plantas irrigadas apresentaram G_S e E maiores do que os demais tratamentos.

Apesar das plantas reidratadas terem recuperado o conteúdo relativo de água nas folhas (Figura 2B), as mesmas apresentaram recuperação parcial tanto na G_S como na E (Figura 4B e 4C) alcançando o mesmo nível de condutância somente as 14 e 16h quando a G_S das irrigadas diminuiu e não porque a condutância das reidratadas aumenta, assim como na E .

Ao longo do dia plantas irrigadas apresentaram aumento da E até às 11h com posterior redução (Figura 4B e 4C e tabela 1) conforme ocorreu variação do DPV (Figura 1F), enquanto as plantas reidratadas apresentaram valores constantes de E durante todo o período.

A eficiência de uso da água (A/E) (Fig. 4E) entre as plantas dos tratamentos Irrigação e Reidratação apresentaram variação significativa apenas às 11h quando as plantas reidratadas apresentaram maior eficiência de uso da água. Entre as horas do dia no tratamento Irrigação foram observados os maiores valores as 9 e 10h, quando apesar dos estômatos abertos o DPV ainda não era tão elevado. Nas reidratadas os maiores valores de A/E foram observados em um período de tempo maior (9, 10 e 11h).

Tanto a eficiência de uso da água como a eficiência de carboxilação das plantas do tratamento Suspensão de Irrigação não foram apresentadas nesse estudo, pois o valor de assimilação de carbono desse tratamento apresentou-se negativo, indicando que não houve assimilação de carbono. Como o cálculo para ambas as variáveis necessitam da assimilação de carbono os cálculos não foram realizados.

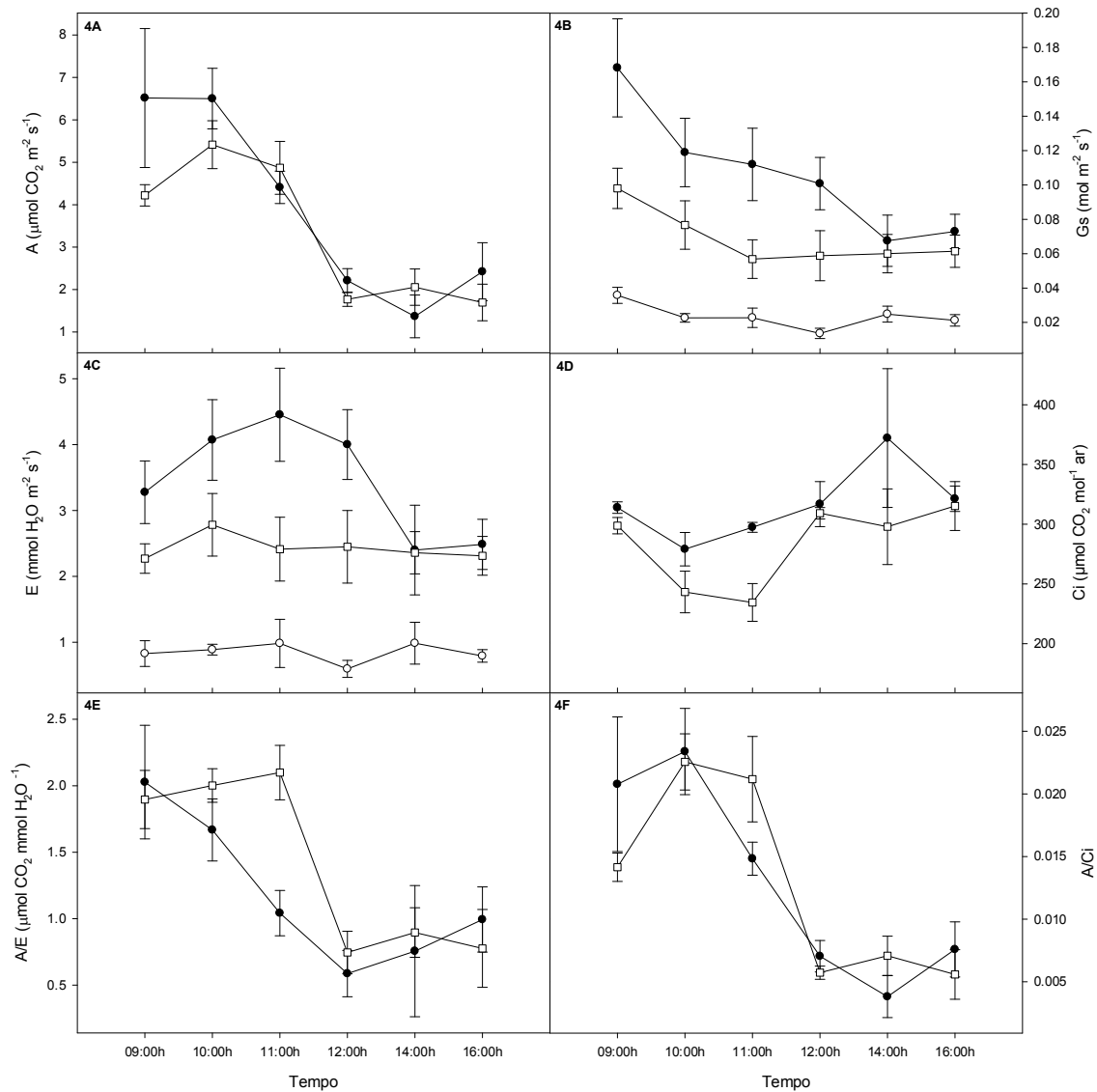


Figura 4: Trocas gasosas ao longo do 43^o DAIT. Assimilação de carbono (A) (4A), condutância estomática (G_s) (4B), transpiração (E) (4C), carbono interno (C_i) (4D), eficiência de uso da água (A/E) (4E) e eficiência de carboxilação (A/C_i) (4F) de *A. emarginata* as 9, 10, 11, 12, 14 e 16h nos tratamentos Irrigação (círculo preto), Reidratação (quadrado branco) e Suspensão de Irrigação (círculo branco), sendo que para esse ultimo foi apresentado apenas a G_s e E . Valores representam médias $\pm$ desvio padrão de 4 repetições.

Tabela 1: Média da assimilação de carbono (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (G_s) ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), carbono interno (Ci) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$), transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência de uso da água (A/E) ($\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) e eficiência de carboxilação (A/Ci) de *A. emarginata* nos períodos de 9, 10, 11, 12, 14 e 16h nos tratamentos de irrigação, reidratação e suspensão de irrigação, sendo que para esse tratamento foi apresentado apenas a G_s e E . As letras maiúsculas comparam estatisticamente tratamentos em uma mesma hora e as letras minúsculas comparam estatisticamente os períodos de cada tratamento por meio da análise de variância ANOVA (Tukey 5%).

A				G_s		
Tempo	Irrigação	Susp. de Irrigação	Reidratação	Irrigação	Susp. de Irrigação	Reidratação
9h	6.51 Aa	-	4.22 Ba	0.168 Aa	0.036 Ca	0.098 Ba
10h	6.50 Aa	-	5.41 Ba	0.119 Ab	0.023 Ca	0.077 Bab
11h	4.41 Ab	-	4.87 Aa	0.112 Ab	0.023 Ca	0.057 Bb
12h	2.21 Ac	-	1.77 Ab	0.101 Abc	0.014 Ca	0.059 Bb
14h	1.37 Ac	-	2.06 Ab	0.068 Acd	0.025 Ba	0.060 Ab
16h	2.42 Ac	-	1.70 Ab	0.073 Ad	0.021 Ba	0.061 Ab

Ci				E		
Tempo	Irrigação	Susp. de Irrigação	Reidratação	Irrigação	Susp. de Irrigação	Reidratação
9h	313.91 Ab	-	298.82 Aa	3.28 Abc	0.83 Ca	2.27 Ba
10h	279.13 Ab	-	243.31 Bb	4.07 Aab	0.89 Ca	2.78 Ba
11h	297.41 Ab	-	234.53 Bb	4.45 Aa	0.98 Ca	2.41 Ba
12h	316.85 Ab	-	309.23 Aa	4.00 Aab	0.59 Ca	2.45 Ba
14h	372.14 Aa	-	297.93 Ba	2.40 Ac	0.98 Ba	2.36 Aa
16h	321.35 Ab	-	315.27 Aa	2.48 Ac	0.79 Ba	2.31 Aa

A/E				A/Ci		
Tempo	Irrigação	Susp. de Irrigação	Reidratação	Irrigação	Susp. de Irrigação	Reidratação
9h	2.027 Aa	-	1.896 Aa	0.0208 Aa	-	0.0141 Bb
10h	1.667 Aa	-	2.002 Aa	0.0234 Aa	-	0.0226 Aa
11h	1.042 Bb	-	2.099 Aa	0.0148 Bb	-	0.0212 Aa
12h	0.587 Ab	-	0.746 Ab	0.0070 Ac	-	0.0057 Ac
14h	0.756 Ab	-	0.896 Ab	0.0038 Ac	-	0.0071 Ac
16h	0.994 Ab	-	0.776 Ab	0.0076 Ac	-	0.0056 Ac

Tabela 2: Porcentagem de recuperação da assimilação de CO₂ (*A*), condutância estomática (*G_s*), carbono interno (*Ci*), eficiência de carboxilação (*A/Ci*) no período das 9 e 10h

Tempo	9h				10h			
	<i>A</i>	<i>G_s</i>	<i>Ci</i>	<i>A/Ci</i>	<i>A</i>	<i>G_s</i>	<i>Ci</i>	<i>A/Ci</i>
% de recuperação	64,8	58,3	95,2	68,1	83,3	64,5	87,2	96,4

Atividade de enzimas antioxidantes (SOD e POD) e peroxidação lipídica

Os dados referentes a atividade da superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD), bem como a formação de malondialdeído (MDA) que é proporcional a peroxidação de lipídeos aos 45 DAIT estão na tabela 3.

Tabela 3: Média da atividade específica da superóxido dismutase (SOD) (U/mg prot.) e peroxidase (POD) (umol/min/mg prot.) e concentração de malondialdeído (MDA) (nmol/g) em folha e raiz de *A. emarginata* submetida aos tratamentos Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação aos 45 DAIT. Letras diferentes representam diferença estatística na análise de variância ANOVA (Tukey 5%).

Tratamentos	Folha			Raiz		
	SOD	POD	MDA	SOD	POD	MDA
Irrigação	31.35 AB	1.75 A	16.57 A	330.72 A	4.40 A	10.13 A
Susp. de Irrig.	14.65 B	0.52 B	22.10 A	114.12 B	2.38 B	9.77 A
Reidratação	43.42 A	1.31 AB	20.79 A	421.47 A	6.03 A	10.74 A

A SOD e a POD de folhas e raízes (Tabela 3) apresentaram os maiores valores nos tratamentos Reidratação e Irrigação respectivamente, nas plantas submetidas a suspensão de irrigação ocorreu a redução da atividade destas enzimas em folhas e raízes. No entanto, o conteúdo de malondialdeído (MDA) (Tabela 3) não apresentou diferença entre os tratamentos tanto nas folhas como nas raízes, o que indicou ausência de danos as membranas lipídicas ocasionadas pelas espécies reativas de oxigênio.

Discussão

A queda constante no conteúdo de água do substrato de 90 a 100% para 28% dos vasos sob suspensão de irrigação (Figura 2A) refletiu na redução do conteúdo relativo de água nas folhas do araticum de 87 para 73% aos 38 DAIT (Figura 2B) e, consequentemente

influenciou na redução das trocas gasosas desde o início da suspensão de irrigação (Figura 3). É bem conhecido que a taxa de assimilação de CO_2 seja reduzida durante moderados défices de água na folha, em resposta a diminuição da umidade do ar ou no potencial de água no solo (Kramer e Boyer, 1995; Lawlor, 2002; Chaves *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2006).

Além da suspensão da irrigação, deve ser considerada a variação ambiental afetando o gradiente de potencial hídrico entre solo, planta e atmosfera. Plantas de araticum-de-terra-fria mantidas com maior potencial hídrico no solo e nas folhas (tratamento Irrigação) apresentaram ao longo dos 45 DAIT sempre maiores valores de A , A/C_i , G_s e E (Figura 3), sendo que reduções pontuais observadas na condutância estomática e transpiração (Figura 3C, 3D) foram decorrências diretas de flutuações no DPV em função de aumento e redução de temperatura respectivamente (Figura 1).

Em contrapartida as plantas de araticum submetidas ao aumento gradativo do estresse hídrico (tratamento Suspensão de Irrigação) apresentaram reduções mais drásticas na condutância estomática e transpiração logo nos primeiros dias da suspensão da irrigação. Posteriormente, estes valores se mantiveram baixos independentemente das variações do DPV, demonstrando que a partir de certo limite a variação do ambiente não consegue mais afetar a condutância estomática e a transpiração da mesma forma que nas plantas irrigadas, pelo fato de já terem ocorrido reduções no conteúdo de água nas folhas (Figura 3C, 3D e 2B). No caso do araticum-de-terra-fria a redução de H_2O da folha de 89% para 87% aos 17 DAIT não teve relação com a redução da G_s aos 16 DAIT, enquanto E ainda não tinha atingido o limite inferior, que ocorreu aos 26 DAIT.

O volume celular é um importante, e possivelmente, o maior determinante da atividade metabólica e da sobrevivência da folha (Kaiser, 1982; Sinclair e Ludlow, 1985). Segundo Hewitt *et al.* (1985) é esperado que o CRA de plantas sob estresse hídrico apresente baixos valores ficando entre 80 e 60% e decrescendo continuamente, o que foi observado neste estudo aos 38 DAIT com CRA de 73% quando o teor de água no solo foi de 28% (Figura 2B). Além disso, em muitas espécies a fotossíntese se torna irreversivelmente reduzida quando o conteúdo relativo de água na folha cai por volta de 70-60% (Lawlor e Cornic, 2002).

No caso do araticum verificou-se que após a reidratação as folhas apresentaram recuperação do conteúdo relativo de água na folha (90%) (Figura 2B) mas as trocas gasosas, embora tivessem demonstrado recuperação aos 43 DAIT, ainda não apresentavam o mesmo padrão das plantas mantidas sob irrigação (Tabela 1 e figura 4).

Após a reidratação a recuperação da assimilação de carbono foi parcial, apresentando recuperação de 64,8% as 9h e 83,3% as 10h (Tabela 2) igualando-se às plantas irrigadas a

partir das 11h uma vez que não houve diferenças significativas entre A de irrigadas e reidratadas (Tabela 1). Em geral as plantas submetidas ao estresse hídrico severo recuperam somente 40 a 60% da máxima taxa de fotossíntese no dia após a reidratação, sendo que a recuperação continua nos dias seguintes, no entanto a máxima taxa de fotossíntese nem sempre se recupera (Flexas *et al.*, 2004; Sofo *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2004). O balanço de carbono durante o período de estresse hídrico e recuperação pode depender muito da velocidade e do grau de recuperação fotossintético, como também depende do grau e velocidade do declínio da fotossíntese durante a baixa disponibilidade de água (Flexas *et al.*, 2006a).

Embora o CRA das plantas reidratadas tenha recuperado ao nível das plantas irrigadas assim como tiveram mesma taxa A a partir das 11h, é possível observar que mesmo após cinco dias de reidratação a condutância estomática e a transpiração apresentaram recuperação parcial alcançando as irrigadas somente quando da redução nos valores de G_s e E destas. É sabido que em algumas espécies, a manutenção da menor condutância estomática após a reidratação impõe uma substancial limitação para a recuperação da fotossíntese (Bogeat-Triboulot *et al.*, 2007; Gallé *et al.*, 2007; Galmés *et al.*, 2007a).

Em *Vitis berlandieri* x *V. rupestris* (variedade Richter-110) Flexas *et al.* (2009) observaram que a recuperação da condutância estomática foi lenta levando duas semanas até a completa recuperação da mesma ao nível das plantas irrigadas. Da mesma forma em dois clones de *Populus euramericana* (Luisa Avanzo e Dorskamp) foi observado 50% de recuperação da condutância estomática no primeiro dia de reidratação e foram necessários mais 4 dias para alcançar a completa recuperação (Marron *et al.*, 2002), já em *Populus euphratica* a condutância estomática também se manteve reduzida após 6 dias de reidratação apresentando recuperação de 60% (Bogeat-Triboulot *et al.*, 2007).

Dentre os fatores que podem ter colaborado para a manutenção da baixa G_s em plantas reidratadas de araticum pode-se relatar a limitação da recuperação da condutância hidráulica foliar (Galmés *et al.*, 2007b). Segundo Manzoni *et al.* (2012) quando a água se torna limitante, tanto a condutância estomática como a condutância do xilema são reduzidas em relação as plantas bem hidratadas, pois a regulação da condutância hidráulica foliar depende da cavitação e da recuperação dos vasos do xilema, sendo que estes vasos são mais sensíveis nas nervuras das folhas (Cochard *et al.*, 2002; Brodribb e Holbrook, 2003).

Da mesma forma, em *Vitis berlandieri* x *V. rupestris* (Richter-110) a condutância hidráulica da planta apresentou redução durante o estresse hídrico sendo que parte dessa redução se manteve mesmo após a reidratação. No mesmo híbrido após a reidratação foi

observado que a relação entre a condutância estomática e a condutância hidráulica da planta foi mais forte do que a relação entre a condutância estomática e a concentração de ABA, sendo que sob condições de estresse hídrico ocorreu o contrário (Pou *et al.*, 2008). Uma vez que sob seca o ácido abscísico controla a abertura estomática limitando assim a perda de água por transpiração (Hirayama e Shinozaki, 2010).

Outros mecanismos regulatórios também devem ser considerados, tais como sinais químicos (citocininas, pH da seiva xilemática) (Wilkinson, 2004), sinais elétricos (Grams *et al.*, 2007) ou a formação de oclusões estomáticas de natureza desconhecida que persistem por muito tempo após a reidratação (Gallé e Feller, 2007). Além disso, as aquaporinas desempenham um importante papel na dinâmica de mudanças da condutância hidráulica das folhas (Cochard *et al.*, 2007).

As plantas de araticum mantidas sob irrigação também apresentaram variações na condutância estomática ao longo do dia (Tabela 1 e Figura 4B), o que pode estar relacionado com o alto DPV (Figura 1F), que é reconhecido como uma das mais importantes fontes de variação da condutância estomática (Condon *et al.*, 1992; Bunce, 1998; Chaves *et al.*, 2009). Endres (2007) também observou redução na condutância estomática de plantas irrigadas de *Annona squamosa* submetidas ao alto DPV. Além disso, o autor sugere que talvez a alta demanda por evaporação tenha efeito prejudicial na abertura estomática em outras anonáceas independentemente da hidratação da planta, o que foi confirmado com as plantas de araticum-de-terra-fria e de *Annona cherimola* Mill. e *Annona squamosa* L. quando Higuchi *et al.* (1998) também observaram diminuição da condutância estomática com o aumento do déficit de pressão de vapor.

Um mecanismo que poderia explicar a redução da G_s em plantas irrigadas pode ser aquele no qual o estômato responde ao DPV por meio do sistema de “feedback” com base no efeito da taxa de transpiração no estado hídrico da folha, ou no gradiente de potencial hídrico entre células guarda e outras células epidérmicas (Monteith, 1995; Bunce, 1996).

Além da redução da condutância estomática, que poderia aumentar a resistência a perda de água, o alto DPV também teve influência no aumento da taxa de transpiração de *A. emarginata* das plantas mantidas sob irrigação, cujos maiores valores foram observados no período das 10, 11 e 12h (Tabela 1 e Figura 4C). Durante o período da estação seca do ano Endres (2007), relatou que com o aumento do déficit de pressão de vapor ocorreu a queda da condutância estomática de *Annona squamosa* e aumento da transpiração das plantas que estavam bem hidratadas, o que demonstrou o efeito positivo do déficit de pressão de vapor sobre a transpiração. Baixos valores de DPV melhoram o estado hídrico da planta, refletindo

em menor taxa de transpiração, maior potencial hídrico foliar e maior taxa de expansão foliar (Liu *et al.*, 2006).

Estudos mostram que o controle estomático não é governado apenas por fatores ambientais mas também pelo efeito desses fatores induzindo sinais químicos nas plantas para a produção de substâncias como o ácido abscísico (Moriana *et al.*, 2002; Tognetti *et al.*, 2004; Romero e Botía, 2006 e Chaves *et al.*, 2009). Porém, Assmann *et al.* (2000) encontraram que o aumento do DPV fecha o estômato em plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana* que são ABA deficiente e ABA insensível, mostrando que em algumas espécies é necessário recorrer a visão mais tradicional de que o ar seco tem efeito mais direto no turgor da célula guarda e ou epidérmica.

Tem sido proposto que tanto fatores estomáticos (resistência a entrada de CO₂) como fatores não estomáticos (baixa atividade enzimática na assimilação de CO₂,) podem ser as principais causas da redução da assimilação de carbono, sendo reflexos das mudanças dos padrões de condutância estomática e carbono interno (Farquhar e Sharkey, 1982; Mielke *et al.*, 2003; Herrera *et al.*, 2008).

Se o carbono interno e condutância estomática decrescem simultaneamente, a assimilação é limitada principalmente pela redução da condutância estomática (Cramer *et al.*, 2007; Yan *et al.*, 2010). Em contraste, se a condutância estomática decresce mas o carbono interno aumenta ou apresenta-se constante, o decréscimo da assimilação pode ser atribuído a fatores não estomáticos (Yan *et al.*, 2010). Além disso, a avaliação da relação A/Ci também permite a diferenciação entre a limitação estomática e não estomática (Ennahli e Earl, 2005).

A redução da assimilação observada a partir das 12h nas plantas de araticum-de-terra-fria, em ambos os tratamentos, parece ter como uma das causas, fatores não estomáticos, uma vez que neste período a condutância estomática dos dois tratamentos ao longo do tempo apresentou baixos valores. O carbono interno apresentou altos valores a partir das 12h nas plantas reidratadas e valores constantes de Ci nas plantas irrigadas, com exceção das 14h onde houve aumento da Ci. Isso resultou em uma baixa eficiência de carboxilação principalmente a partir do meio dia, momento em que houve redução da assimilação de CO₂ (Figura 4A, 4B, 4D, 4F e tabela 1).

A limitação não estomática inclui tanto a redução da condutância do mesófilo como a limitação fotoquímica e enzimática (Grassi e Magnani, 2005; Galmés *et al.*, 2007a), podendo ocorrer a inibição ou a baixa regulação da fotossíntese (Ennahli e Earl, 2005). A condutância do mesófilo compreende os componentes físicos (solubilidade do CO₂, área de superfície apoplastica e rotas simplásticas do CO₂) e metabólicos (anidrase carbônica) (Pinheiro e

Chaves, 2011). Além disso, tem se mostrado que o déficit hídrico pode reduzir substancialmente a condutância do mesófilo (Flexas *et al.*, 2008), entretanto em geral a condutância do mesófilo é menos sensível ao estresse hídrico do que a condutância estomática (Bunce, 2009). A importância da limitação da condutância do mesófilo ainda está sob debate, com críticas decorrentes de questões metodológicas relacionadas a estimação da concentração intercelular de CO₂ ou da concentração de CO₂ do cloroplasto (Bunce, 2009; Lawlor e Tezara, 2009).

Em algodão submetido ao estresse hídrico seguido de reidratação Ennahli e Earl, (2005) verificaram substancial recuperação da maioria dos parâmetros após 24 de reidratação, no entanto a assimilação de carbono, o rendimento quântico efetivo, a taxa de transporte de elétrons e a relação da assimilação de carbono com a concentração de carbono no cloroplasto (A/Cc) permaneceu significativamente baixa indicando a limitação da recuperação da assimilação de carbono por fatores não estomáticos. No entanto, a redução da relação A/Cc não necessariamente significa que ocorreu injúria no aparato fotossintético, podendo simplesmente representar uma baixa regulação da capacidade fotossintética em virtude da baixa concentração de CO₂ no cloroplasto (Escalona *et al.*, 1999).

Neste estudo, a A/E de *A. emarginata* ao longo das horas do tratamento reidratado apresentou os maiores valores no período das 9, 10 e 11h, já o tratamento irrigado apresentou alta A/E apenas no período das 9 e 10h.

Segundo Bogaert-triboulot *et al.* (2007), Gallé *et al.* (2007) e Galmés *et al.* (2007a), apesar da baixa condutância limitar a recuperação da fotossíntese a A/E aumenta. Porém esse comportamento possui uma desvantagem para a fotossíntese, pois com a baixa condutância ocorre menor entrada de carbono e assim menor aproveitamento da capacidade fotossintética, uma vez que em algumas espécies como *Vitis berlandieri* X *V. rupestris* a manutenção da baixa condutância estomática após a reidratação pode durar semanas (Galmés *et al.*, 2007c). Em *Quercus pubescens* a recuperação da condutância estomática foi ligeiramente retardada durante as primeiras duas semanas de reidratação, o que resultou no aumento da eficiência intrínseca do uso da água (Gallé *et al.*, 2007).

Neste estudo o estresse hídrico severo causou a redução na atividade da SOD e POD (Tabela 2) tanto em folhas como em raízes no tratamento Suspensão de Irrigação. É possível que o déficit hídrico severo tenha influenciado na redução da atividade da SOD e POD. Embora a atividade destas enzimas não tenha sido avaliada sob déficit hídrico leve e moderado é possível que a atividade destas tenha sido alta nesses níveis de estresse. Pois em duas variedades de *Triticum aestivum* L., uma tolerante a seca (HF9703) e a outra sensível a

seca (SN215953) foi verificado que na variedade tolerante a seca a atividade da ascorbato peroxidase e da catalase apresentaram aumento quando estava sob estresse leve. No entanto, com o aumento do estresse a atividade da ascorbato peroxidase reduziu ao nível do controle enquanto na catalase houve redução em relação as irrigadas. Já a variedade sensível ao estresse houve redução da atividade de ambas as enzimas em relação as irrigadas (Ma *et al.*, 2006). Além disso, em *Picea abies* (L.) Karst. submetida ao estresse hídrico severo também não foi observado diferença na atividade da SOD e da guaiacol POD em relação as plantas bem hidratadas (Blödner *et al.*, 2005).

Os mecanismos de desintoxicação das EROs existem em todas as plantas e podem ser classificadas como enzimáticas: Superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), peroxidase (POD), glutathione redutase (GR) e monodeidroascorbato redutase (MDAR), e não enzimáticos: flavonoides, antocianinas, carotenoides e ácido ascórbico. O grau de atividade das enzimas antioxidantes e o aumento do montante de antioxidantes sob estresse hídrico é extremamente variável entre varias espécies de plantas e mesmo entre dois cultivares da mesma espécie (Reddy *et al.*, 2004).

Embora a atividade da SOD e POD tenha sido reduzida sob déficit hídrico severo, o conteúdo de malondialdeído (Tabela 3) entre os três tratamentos não apresentou alteração tanto em folhas como em raízes. Isso indica que não houve danos as membranas ocasionados pelo acúmulo de EROs, uma vez que o MDA, um produto da peroxidação lipídica tem sido considerado um indicador de dano oxidativo (Calatayud *et al.*, 2002; Møller *et al.*, 2007). EROs são capazes de iniciar uma reação em cadeia nos ácidos graxos poli-insaturados que levam a peroxidação de lipídios (Montillet *et al.*, 2004). A extensão da peroxidação de lipídios representada pelo conteúdo de MDA reflete o estado e a integridade das membranas nas células vegetais (Calatayud *et al.*, 2002).

Conclusão

Embora a espécie *A. emarginata* tenha apresentado recuperação da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD) após a reidratação e não tenha sido detectada peroxidação lipídica causada pelas espécies reativas de oxigênio, as trocas gasosas tiveram capacidade de recuperação parcial após o estabelecimento de estresse hídrico por falta de água.

Referencias Bibliográficas

- Abbasi AR, Hajirezaei M, Hofius D, Sonnewald U, Voll LM.** 2007. Specific roles of alpha- and gamma-tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. *Plant Physiology* **143**, 1720–1738.
- Assmann SM, Snyder JA, Lee YJ.** 2000. ABA-deficient (*aba1*) and ABA-insensitive (*abi1-1*, *abi2-1*) mutants of *Arabidopsis* have a wild-type stomatal response to humidity. *Plant, Cell and Environment* **23**, 387–395.
- Bettiol Neto JE, Pio R, Bueno SCS, Bastos DC, Scarpore Filho JA.** 2006. Enraizamento de estacas dos portaenxertos Araticum-de-terra-fria (*Rollinia* sp.) e Araticum-mirim (*Rollinia emarginata* Schltdl.) para anonáceas. *Ciência Agrotecnológica* **30**, 1077-1082.
- Blödner C, Skroppa T, Johnsen Ø, Polle A.** 2005. Freezing tolerance in two Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) progenies is physiologically correlated with drought tolerance. *Journal of Plant Physiology* **162**, 549–558.
- Bogeat-Triboulot M-B, Brosché M, Renaut J, Jouve L, Le Thiec D, Fayyaz P, Vinocur B, Witters E, Laukens K, Teichmann T, Altman A, Hausman J-F, Polle A, Kangasjärvi J, Dreyer E.** 2007. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant physiology* **143**, 876–892.
- Bonaventure L.** 1999. *A cultura de Cherimóia e seu híbrido, a Atemóia*. São Paulo: Nobel.
- Bradford MM.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**, 248–254.
- Brodribb TJ, Holbrook NM.** 2003. Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits. *Plant physiology* **132**, 2166–2173.
- Bunce JA.** 1996. Does transpiration control stomatal responses to water vapour pressure deficit? *Plant, Cell and Environment* **20**, 131–135.

Bunce JA. 1998. Effects of humidity on short-term responses of stomatal conductance to an increase in carbon dioxide concentration. *Plant, Cell and Environment* **21**, 115–120.

Bunce JA. 2009. Use of the response of photosynthesis to oxygen to estimate mesophyll conductance to carbon dioxide in water-stressed soybean leaves. *Plant, cell & environment* **32**, 875–881.

Caemmerer S, Farquhar GD. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**, 376–387.

Calatayud A, Ramirez JW, Iglesias DJ, Barreno E. 2002. Effects of ozone on photosynthetic CO₂ exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant systems in lettuce leaves. *Physiologia Plantarum* **116**, 308–316.

Cavalcante LF, Carvalho SS, Lima EM, Feitosa Filho JC, Silva DA. 2001. Desenvolvimento inicial da gravioleira sob fontes e níveis de salinidade da água. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**, 455-459.

Centritto M, Wahbi S, Serraj R, Chaves M. 2005. Effects of partial rootzone drying (PRD) on adult olive tree (*Olea europaea*) in field conditions under arid climateII. Photosynthetic responses. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **106**, 303–311.

Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS. 2003. Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* **30**, 239–264.

Chaves M, Oliveira M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany* **55**, 2365-2384.

Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany* **103**, 551–560.

Cochard H, Coll L, Le Roux X, Ameglio T. 2002. Unraveling the Effects of Plant Hydraulics on Stomatal Closure during Water Stress in Walnut. *Plant physiology* **128**, 282–290.

Cochard H, Venisse J-S, Barigah TS, Brunel N, Herbette S, Guilliot A, Tyree MT, Sakr S. 2007. Putative role of aquaporins in variable hydraulic conductance of leaves in response to light. *Plant physiology* **143**, 122–133.

Condon AG, Richards RA, Farquhar GD. 1992. The effect of variation in soil water availability, vapour pressure deficit and nitrogen nutrition on carbon isotope discrimination in wheat. *Australian journal of agricultural research* **43**, 935–947.

Cornic G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* **5**, 187-188.

Cramer GR, Ergül A, Grimplet J, Tillett RL, Tattersall EAR, Bohlman MC, Vincent D, Sonderegger J, Evans J, Osborne C, Quilici D, Schlauch KA, Schooley DA, Cushman JC. 2007. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional & integrative genomics* **7**, 111–134.

Damatta FM. 2007. Ecophysiology of tropical tree crops: an introduction. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **19**, 239-244.

Ditmarová L, Kurjak D, Palmroth S, Kmet J, Strelcová K. 2010. Physiological responses of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings to drought stress. *Tree Physiology* **30**, 205–213.

Endres L. 2007. Daily and seasonal variation of water relationship in sugar apple (*Annona squamosa* L.) under different irrigation regimes at semi-arid Brazil. *Scientia Horticulturae* **113**, 149–154.

Ennahli S, Earl HJ. 2005. Physiological Limitations to Photosynthetic Carbon Assimilation in Cotton under Water Stress. *Crop Science* **45**, 2374-2382.

Escalona JM, Flexas J, Medrano H. 1999. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**, 421-433.

Farquhar GD, Sharkey TD. 1982. Stomatal Conductance and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* **33**, 317–345.

Flexas J, Medrano H. 2002a. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* **89**, 183-189.

Flexas J, Bota J, Cifre J, Mariano Escalona J, Galmes J, Gulias J, Lefi K, Florinda Martinez-Canellas S, Teresa Moreno M, Ribas-Carbo M, Riera D, Sampol B, Medrano H. 2004. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology* **144**, 273–283.

Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, Galmés J, Henkle M, Martínez-Cañellas S, Medrano H. 2006a. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *The New phytologist* **172**, 73–82.

Flexas J, Ribas-Carbó M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, cell & environment* **31**, 602–621.

Flexas J, Barón M, Bota J, Ducruet J-M, Gallé A, Galmés J, Jiménez M, Pou A, Ribas-Carbó M, Sajnani C, Tomàs M, Medrano H. 2009. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). *Journal of experimental botany* **60**, 2361–2377.

Ferreira G, Gimenez J, Corsato J, Oliveira M. 2013. Germinação de sementes de anonáceas. In: Ferreira G, Kavati R, Boaro CSF, Ferrari TB, Leonel S, eds. *Anonáceas: Propagação e produção de mudas*. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 19–43.

Gallé A, Haldimann P, Feller U. 2007. Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *The New phytologist* **174**, 799–810.

Gallé A, Feller U. 2007. Changes of photosynthetic traits in beech saplings (*Fagus sylvatica*) under severe drought stress and during recovery. *Physiologia plantarum* **131**, 412–421.

Galmés J, Medrano H, Flexas J. 2007a. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *The New phytologist* **175**, 81–93.

Galmés J, Flexas J, Savé R, Medrano H. 2007b. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil* **290**, 139–155.

Galmés J, Pou A, Alsina MM, Tomàs M, Medrano H, Flexas J. 2007c. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. *Planta* **226**, 671–681.

Giannopolitis CN, Ries SK. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology* **59**, 309–314.

Grams TEE, Koziolk C, Lautner S, Matyssek R, Fromm J. 2007. Distinct roles of electric and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon re-irrigation in *Zea mays* L. *Plant, cell & environment* **30**, 79–84.

Grassi G, Magnani F. 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Environment* **28**, 834–849.

Heath RL, Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **125**, 189–198.

- Herrera A, Tezara W, Marín O, Rengifo E.** 2008. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis in trees of a tropical seasonally flooded forest. *Physiologia Plantarum* **134**, 41–48.
- Hewitt F, Hough T, O'Neill P, Sasse JM, Williams EG, Rowan KS.** 1985. Who Taught Plants Thermodynamics? The Unfulfilled Potential of Plant Water Potential. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**, 213-217.
- Higuchi H, Utsunomiya N, Sakuratani T.** 1998. Effects of temperature on growth, dry matter production and CO₂ assimilation in cherimoya (*Annona cherimola* Mill) and sugar apple (*Annona squamosa* L.) seedlings. *Scientia Horticulturae* **73**, 89-97.
- Hirayama T, Shinozaki K.** 2010. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *The Plant journal: for cell and molecular biology* **61**, 1041-1052.
- Kaiser WM.** 1982. Correlation between changes in photosynthetic activity and changes in total protoplast volume in leaf tissue from hygro- meso- and xerophytes under osmotic stress. *Planta* **154**, 538-45.
- Koussevitzky S, Suzuki N, Huntington S, Armijo L, Sha W, Cortes D, Shulaev V, Mittler R.** 2008. Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 34197–34203.
- Kramer PJ, Boyer JS.** 1995. *Water relations of plants and Soils*. San Diego: Academic Press.
- Lawlor DW.** 2002. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany* **89**, 871-885.
- Lawlor DW, Cornic G.** 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* **25**, 275–294.

- Lawlor DW, Tezara W.** 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Annals of botany* **103**, 561–579.
- Lemos-Filho JP.** 2000. Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. *Revista Brasileira de Botânica* **23**, 45-50.
- Liu F, Cohen Y, Fuchs M, Plaut Z, Grava A.** 2006. The effect of vapor pressure deficit on leaf area and water transport in flower stems of soil-less culture rose. *Agricultural Water Management* **81**, 216–224.
- Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernard S, Foyer CH.** 2005. Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany* **56**, 417–423.
- Ma Q-Q, Wang W, Li Y-H, Li D-Q, Zou Q.** 2006. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine. *Journal of plant physiology* **163**, 165–75.
- Manzoni S, Vico G, Porporato A, Katul G.** 2012. Biological constraints on water transport in the soil–plant–atmosphere system. *Advances in Water Resources* **51**, 292–304.
- Marron N, Delay D, Petit J-M, Dreyer E, Kahlem G, Delmotte FM, Brignolas F.** 2002. Physiological traits of two *Populus x euramericana* clones, Luisa Avanzo and Dorskamp, during a water stress and re-watering cycle. *Tree physiology* **22**, 849–858.
- Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulias J, Flexas J.** 2002. Regulation of photosynthesis of C-3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* **89**, 895–905.
- Mielke MS, Almeida AAF, Gomes FP, Aguilar AG, Mangabeira PAO.** 2003. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany* **50**, 221–231.

- Miranda MRA, Filgueiras HAC, Alves RE, Soares AA, Benbadis AK.** 2008. Caracterização físico química e histológica do desenvolvimento de sapoti. *Revista Ciência Agronômica* **39**, 575-582.
- Møller IM, Jensen PE, Hansson A.** 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual review of plant biology* **58**, 459–81.
- Monteith JL.** 1995. A reinterpretation of stomatal responses to humidity. *Plant, Cell and Environment* **18**, 357–364.
- Montillet J-L, Cacas J-L, Garnier L, Montané M-H, Douki T, Bessoule J-J, Polkowska-Kowalczyk L, Maciejewska U, Agnel J-P, Vial A, et al.** 2004. The upstream oxylipin profile of *Arabidopsis thaliana*: a tool to scan for oxidative stresses. *The Plant journal : for cell and molecular biology* **40**, 439–51.
- Moriana A, Villalobos FJ, Fereres E.** 2002. Stomatal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficits. *Plant, Cell and Environment* **25**, 395–405.
- Núñez-Elisea R, Schaffer B, Fisher JB, Colls AM, Crane JH.** 1999. Influence of Flooding on Net CO₂ Assimilation, Growth and Stem Anatomy of *Annona* Species. *Annals of Botany* **84**, 771-780.
- Ojeda M, Schaffer B, Davies FS.** 2004. Soil temperature, physiology, and growth of containerized *Annona* species. *Scientia Horticulturae* **102**, 243-255.
- Okumura HH, Junior ATC, Costa JTA, Correa D.** 2008. Fertilizantes minerais e orgânicos na formação de mudas enxertadas de gravioleira. *Revista Ciência Agronômica* **39**, 590-596.
- Pinheiro C, Chaves MM.** 2011. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *Journal of experimental botany* **62**, 869–882.

Pou A, Flexas J, Alsina M del M, Bota J, Carambula C, de Herralde F, Galmés J, Lovisolo C, Jiménez M, Ribas-Carbó M, et al. 2008. Adjustments of water use efficiency by stomatal regulation during drought and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). *Physiologia plantarum* **134**, 313–23.

Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* **161**, 1189–1202.

Romero P, Botía P. 2006. Daily and seasonal patterns of leaf water relations and gas exchange of regulated deficit-irrigated almond trees under semiarid conditions. *Environmental and Experimental Botany* **56**, 158–173.

Santos MG, Ribeiro RV, Oliveira RF de, Machado EC, Pimentel C. 2006. The role of inorganic phosphate on photosynthesis recovery of common bean after a mild water deficit. *Plant Science* **170**, 659–664.

Sinclair TR, Tanner CB, Bennett JM. 1984. Water-Use Efficiency in Crop Production. *BioScience* **34**, 36-40.

Sinclair TR, Ludlow MM. 1985. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of water potential. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**, 213-217.

Sinclair TR, Zwieniecki MA, Holbrook NM. 2008. Low leaf hydraulic conductance associated with drought tolerance in soybean. *Physiologia Plantarum* **132**, 446-451.

Sofa A, Dichio B, Xiloyannis C, Masia A. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. *Plant Science* **166**, 293–302.

Souza RP, Machado EC, Silva JAB, Lagôa AMMA, Silveira JAG. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environmental and Experimental Botany* **51**, 45–56.

Teisseire H, Guy V. 2000. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Science* **153**, 65–72.

Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW. 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* **401**, 914–917.

Thameur A, Lachiheb B, Ferchichi A. 2012. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. *Journal of environmental management* **113**, 495–500.

Tian X, Lei Y. 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. *Biologia Plantarum* **50**, 775–778.

Tognetti R, Diandria R, Morelli G, Calandrelli D, Fragnito F. 2004. Irrigation effects on daily and seasonal variations of trunk sap flow and leaf water relations in olive trees. *Plant Soil* **263**, 249–264.

Tokunaga T. 2005. *A cultura da atemóia*. Campinas-SP: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI).

Varone L, Ribas-Carbo M, Cardona C, Gallé A, Medrano H, Gratani L, Flexas J. 2012. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Environmental and Experimental Botany* **75**, 235–247.

Yamada F, Fukamachi H, Hidaka T. 1996. Photosynthesis in longan and mango as influenced by high temperatures under high irradiance. *Journal of Japan Society Horticulture Science* **64**, 749–756.

Yan K, Chen W, He X, Zhang G, Xu S, Wang L. 2010. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O₃. *Environmental and Experimental Botany* **69**, 198–204.

Weatherley PE. 1949. Studies in the water relations of the cotton plant: The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* **49**, 81-97.

Wilkinson S. 2004. Water use efficiency and chemical signalling. In: *Water use efficiency in plant biology*. Oxford (UK): Blackwell Publishing.

5.2. Capítulo II

Fluorescência da clorofila *a* em plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer submetidas a estresse hídrico e após reidratação

Luís Paulo Benetti Mantoan¹ e Gisela Ferreira¹

¹Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista - UNESP.

Resumo - O presente estudo teve como objetivo avaliar a tolerância do aparato fotoquímico de plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer ao estresse hídrico por falta de água seguido de reidratação. O experimento foi implantado em blocos casualizados com três tratamentos (Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação) e quatro repetições de seis plantas por parcela totalizando 24 plantas. Destas, 12 foram submetidas apenas a suspensão de irrigação para monitoramento semanal do conteúdo relativo de água na folha (CRA). As outras 12 foram utilizadas para avaliações de fluorescência da clorofila *a* aos 32 DAIT (Dias Após o Início dos Tratamentos ou seis dias antes da reidratação) nos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação e aos 44 DAIT (seis dias depois da reidratação) nos tratamentos Irrigação e Reidratação. Os dados de fluorescência mínima da folha adaptada ao escuro (F_o), fluorescência máxima da folha adaptada ao escuro (F_M) e rendimento quântico máximo (F_V/F_M) foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, as médias das demais variáveis foram apresentadas com desvio padrão. Aos 31 DAIT o CRA foi reduzido para 82% com recuperação aos 44 DAIT (90%). No entanto, aos 32 DAIT e 44 DAIT não foram observados danos ao fotossistema II devido a ocorrência de recuperação do F_V/F_M no período das 17h em relação as 12h o que caracterizou a ocorrência de fotoinibição dinâmica, além disso, os valores de F_V/F_M as 5h e 17h ficaram acima de 0,7 considerado como valor limite para a fotoinibição. Também não foram observadas alterações no padrão do rendimento quântico efetivo, “quenching” fotoquímico e taxa de transporte de elétrons em todos os tratamentos. A maior proporção do rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (Φ_{NPQ}) em relação ao rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (Φ_{NO}) indicou maior capacidade de fotoproteção. Desta forma, a espécie *A. emarginata* apresenta o aparato fotoquímico tolerante ao estresse hídrico, uma vez que não foram verificadas alterações no nível de eficiência fotoquímica entre plantas mantidas sob irrigação e reidratadas após o estabelecimento do estresse.

Palavras-chave: Annonaceae, araticum-de-terra-fria, fotossíntese, fotossistemas.

Abstract - The present study aimed to evaluate the tolerance of the photochemical apparatus of *Annona emarginata* plants to water stress due lack of water followed by rehydration. The experiment was implanted in a randomized block design with three treatments (Irrigation, Suspension of Irrigation and Rehydration) and four replicates of six plants per plot totaling 24 plants. Of these, 12 were subjected only to suspension of irrigation for weekly monitoring of the relative water content in leaf (RWC). The others 12 were used for evaluation of chlorophyll a fluorescence at 32 DATB (Day After Treatments Beginning or six days before rehydration) in Irrigation and Suspension of Irrigation treatments and at 44 DATB (six days after rehydration) in Irrigation and Rehydration treatments. The data of minimum leaf fluorescence under dark (F_0), maximal leaf fluorescence under dark (F_M), maximum quantum yield (F_V/F_M) were submitted to analysis of variance and means were compared by Tukey test at 5% probability, the averages of remaining variables were presented with standard deviation. At 31 DATB the RWC was reduced to 82% with recovery at 44 DATB (90%). However, at 32 and 44 DATB were not observed photosystem II damage due to occurrence of F_V/F_M recovery during the period from 17h in relation to 12h characterizing the occurrence of dynamic photoinhibition, moreover, the values of F_V/F_M at 5h and 17h were above 0,7 considered as threshold for photoinhibition. Were also not found changes in the pattern of the effective quantum yield, photochemical quenching and electron transport rate in all treatments. The largest proportion of the quantum yield of regulated non-photochemical energy loss in PS II (ϕ_{NPQ}) in relation to the quantum yield of non-regulated non-photochemical energy loss in PS II (ϕ_{NO}) indicated a greater ability to photoprotection. Therefore, the species *A. emarginata* presents the photochemical apparatus tolerant to water stress, since no changes were observed in the level of photochemical efficiency between plants grown under irrigation and rehydrated after the establishment of stress.

Keywords: Annonaceae, araticum-de-terra-fria, photosynthesis, photosystems.

Introdução

As espécies do gênero *Annona* podem apresentar importância na medicina popular contra febre, cólicas, diarreia, problemas digestivos; ação na agricultura como inseticida natural, ornamental, recuperação de áreas degradadas e alimento para animais pertencentes a fauna local (Mittal *et al.*, 2010; Okoye *et al.*, 2012).

A necessidade de se obter pomares homogêneos de anonáceas, com elevada produtividade e com frutos de qualidade comprovada, tem levado os produtores de mudas a evitarem o uso da propagação sexuada (Ferreira *et al.*, 2013). Métodos vegetativos, como estaquia, mergulhia, enxertia (garfagem ou borbulhia) e micropropagação podem ser utilizados (Kitamura *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2010; Lemos, 2013; Scaloppi Junior e Martins, 2013).

Após observações à campo e devido à necessidade de encontrar portaenxertos adequados para a atemóia, Tokunaga (2005), Bettiol Neto *et al.* (2006) e Ferreira *et al.*, (2013) sugerem que o araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata*) possui tolerância satisfatória à podridões de raiz e colo causadas por *Phytophthora nicotianae* var. parasitica, *Pythium* sp. e *Rhizoctonia solani* e menor atratividade às brocas que atacam o colo das plantas (Bettiol Neto *et al.*, 2006), além de boa compatibilidade com a atemóia. De acordo com Tokunaga (2005), esta espécie apresenta tolerância a solos com falta d'água, sendo indicado como alternativa adequada de enxertia para este tipo de solo.

O estresse hídrico é um dos fatores que afetam a assimilação fotossintética, assim como nutrição e regime de luz. Mudanças na taxa de assimilação de CO₂ refletem de mudanças na condutância estomática e capacidade fotossintética do mesófilo (Caemmerer e Farquhar, 1981; Medrano *et al.*, 2002; Ditmarová *et al.*, 2010). Sendo assim, a limitação na assimilação de CO₂ imposta por um fechamento estomático pode promover um desequilíbrio entre a atividade fotoquímica no fotossistema II e a exigência de elétrons para a fotossíntese, o que leva a excitação e consequentemente um dano fotoinibitório do centro de reação do PSII (Manes *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2006).

Plantas frequentemente encontram níveis de luz que excedem sua capacidade fotossintética, especialmente quando sua capacidade para a fixação do CO₂ é reduzida por condições de estresse (Zhou *et al.*, 2007). O excesso de energia pode causar fotoinibição e mesmo danos severos ao aparato fotossintético (Sanda *et al.*, 2011; Wu e Bao, 2011). A ação sinérgica do alto nível de irradiação e estresse hídrico reduz a capacidade do sistema fotossintético de utilizar a radiação incidente, levando a um aumento no grau de dano ao aparato fotossintético (Foyer *et al.*, 1994; Wingler *et al.*, 2000).

Sob condições de déficit hídrico, a ausência de água induz ao fechamento estomático (Chaves, 1991; Medrano *et al.*, 2002; Pompelli *et al.*, 2010). Portanto, devido ao correspondente aumento da resistência, a concentração de CO₂ dentro da folha tem tendência de cair e como resultado desta menor concentração menos NADPH e ATP são consumidos dentro do ciclo de Calvin. Consequentemente, a concentração de NADP⁺ e assim os potenciais aceptores de elétrons para a cadeia transportadora de elétrons decresce (Gratão *et al.*, 2005; Selmar e Kleinwächter, 2013). Em consequência, os elétrons poderiam ser transferidos para o oxigênio, produzindo radicais superóxido, denotado como reação de Mehler ou ciclo água-água (Hideg *et al.*, 1995; Chen *et al.*, 2004).

Sob essas condições desfavoráveis, as plantas desviam a luz absorvida para outros processos, como dissipação térmica para proteger o aparato fotossintético (Demmig-Adams e Adams, 1996). A eficiência fotoquímica sob seca pode ser monitorada pela mensuração da fluorescência da clorofila *a* para avaliar o funcionamento fotossintético (Osmond *et al.*, 1999; Maxwell e Johnson, 2000).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a tolerância do aparato fotoquímico de plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer ao estresse hídrico por falta de água seguido de reidratação.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Câmpus de Botucatu-SP (22° 53’ S, 48° 26’ O), no período de setembro a outubro de 2012.

Delineamento experimental

O experimento foi implantado em blocos casualizados com três tratamentos (Irrigação, Suspensão de Irrigação e Reidratação) e quatro repetições de seis plantas por parcela, totalizando 24 plantas. Destas, 12 plantas foram utilizadas para as avaliações de fluorescência da clorofila *a* empregando-se uma planta por repetição de cada tratamento. As outras 12 plantas foram submetidas apenas a Suspensão de Irrigação para o monitoramento semanal do conteúdo relativo de água na folha.

Condições ambientais

No interior da casa de vegetação as plantas estavam sob sombrite 50% de luz, onde a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) medida semanalmente as 10h, apresentou

uma média de $757 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As médias diárias de temperatura, umidade e déficit de pressão de vapor do ar desde o início dos tratamentos até o final (45 DAIT) estão apresentadas nas figuras 1A, 1B e 1C respectivamente.

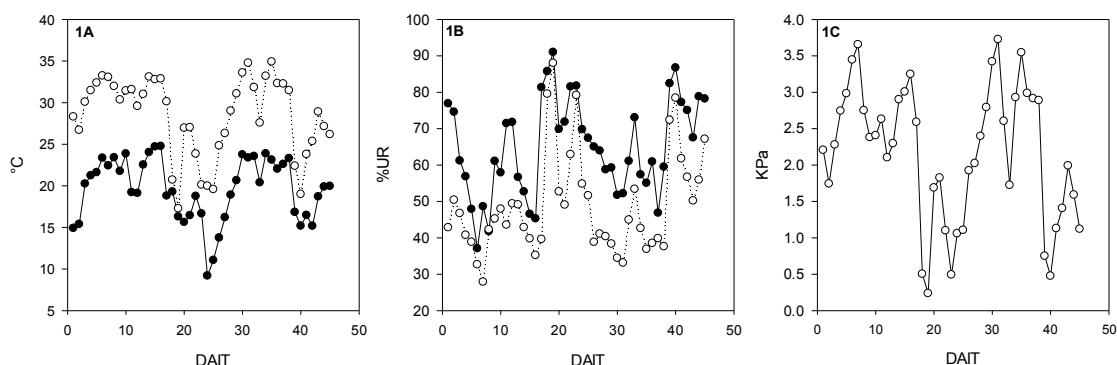


Figura 1: Médias de temperatura do ar (Fig. 1A) diurna (circulo branco) e noturna (circulo preto), umidade relativa do ar (Fig. 1B) diurna (circulo branco) e noturna (circulo preto) e déficit de pressão de vapor do ar diurna (Fig. 1C) desde o início dos tratamentos até o final (45 DAIT).

Controle da irrigação

O monitoramento da perda de água do substrato (vermiculita de textura média) foi realizado conforme Thameur *et al.* (2012) por meio da pesagem dos vasos (Kg) ao longo do tempo, comparado com a massa (Kg) dos mesmos quando irrigados até a capacidade máxima de retenção de água (100%), condição em que os vasos foram irrigados até a ocorrência de percolação e posteriormente mantidos durante a noite para a saída do excesso de água. Nesse período, a superfície do vaso foi vedada para evitar evaporação. Na manhã seguinte os vasos eram pesados e as massas obtidas foram utilizadas como as suas massas na capacidade máxima de retenção de água (100%). Esses dados foram usados para calcular o conteúdo de água no substrato (CAS) pela fórmula: $CAS = (MV_{\text{tratamento}} / MV_{100\%}) * 100$ (Varone *et al.*, 2012), duas vezes por semana em cada tratamento.

Os vasos foram mantidos com sua máxima retenção de água até 524 dias após a semeadura quando foi dado início aos tratamentos. No tratamento Irrigação foram realizadas duas irrigações por dia para manter a massa do vaso entre 90 e 100% da sua capacidade de retenção inicial (100%). No tratamento Suspensão de Irrigação houve interrupção da irrigação aos 524 dias após a semeadura, quando foi considerado o início dos tratamentos. A suspensão da irrigação teve duração de 45 dias (Dias após início dos tratamentos - DAIT), dos 524 aos 569 DAIT. A reidratação no tratamento Reidratação foi realizada após observação visual da

murcha das folhas (73% de conteúdo relativo de água na folha, observado aos 38 DAIT), aos 38 DAIT quando o conteúdo de água no substrato era de 28%.

Conteúdo relativo de água nas folhas (CRA)

A cada semana foi retirada uma folha completamente expandida do segundo ou terceiro nó de uma planta por repetição para avaliar o conteúdo relativo de água na folha (CRA), das plantas sob suspensão de irrigação (monitoramento).

Para a avaliação foram utilizados dois quadrados (2cm x 2cm) de uma folha madura por repetição que foram pesados para determinação da massa fresca (MF). Logo após a pesagem as amostras foram imersas em água deionizada por quatro horas para a determinação da massa túrgida (MT). Após esta determinação, as amostras foram levadas para estufa de circulação forçada de ar a 70°C até atingirem massa constante para a determinação da massa seca (MS). Os valores das massas obtidas foram usados na fórmula proposta por Weatherley (1949), $CRA = (MF - MS) / (MT - MS) * 100$, para a determinação do CRA.

Fluorescência da clorofila a

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada utilizando-se um fluorômetro de pulso modulado (JUNIOR-PAM, Walz®). As medidas foram realizadas em dois momentos, nos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação aos 32 DAIT, seis dias antes da reidratação, e nos tratamentos Irrigação e Reidratação aos 44 DAIT, seis dias após a reidratação. Em ambos os momentos as avaliações foram realizadas no período das 5h, 12h e 17h. Com exceção do período das 5h as folhas foram aclimatadas a um período de 30 minutos no escuro cobrindo-as com papel alumínio. Em seguida, um pulso de saturação de $10000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFF com 0.6s foi aplicado para a obtenção da F_m (fluorescência máxima adaptada ao escuro) e F_m' (fluorescência máxima adaptada a luz). Além da fluorescência máxima da folha adaptada a luz e ao escuro, também foram obtidos os valores da F_o' (fluorescência mínima adaptada ao escuro) e F_o (fluorescência mínima adaptada a luz). Entre cada pulso de saturação foram dados oito pulsos de luz actínica de 125, 190, 285, 420, 625, 820, 1150 e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de DFFF de 15 segundos de duração.

Por meio da F_m , F_o , F_m' e F_o' foram calculados o rendimento quântico máximo (F_v/F_m) (Kitajima e Butler, 1975), rendimento quântico efetivo (Φ_{PSII}) (Genty *et al.*, 1989), “quenching” fotoquímico (qP) (Schreiber *et al.*, 1986), “quenching” não fotoquímico (NPQ) (Bilger e Björkman, 1990), taxa de transporte de elétrons (ETR), considerando que 84% da luz seja absorvida pela clorofila, com 50% dos fótons ativando a clorofila do fotossistema II e

50% o fotossistema I, rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (ϕNO) (Klughammer e Schreiber, 2008) e rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (ϕNPQ) (Klughammer e Schreiber, 2008).

Resultados

Estado hídrico da planta

Os vasos nos quais suspendeu-se a irrigação para a imposição do estresse hídrico (tratamento Suspensão de Irrigação), alcançaram 34% de H_2O aos 31 DAIT (Figura 2A) e nas folhas o conteúdo relativo de água foi reduzido de 89% no tratamento Irrigação para 82% no tratamento Suspensão de Irrigação aos 31 DAIT (Figura 2B).

Após a reidratação, realizada 38 DAIT, foi observado que com o aumento da quantidade de água no substrato (99%) (Figura 2A) o conteúdo relativo de água na folha, alcançou 90% aos 44 DAIT (Figura 2B), assim como estava no momento de implantação dos tratamentos.

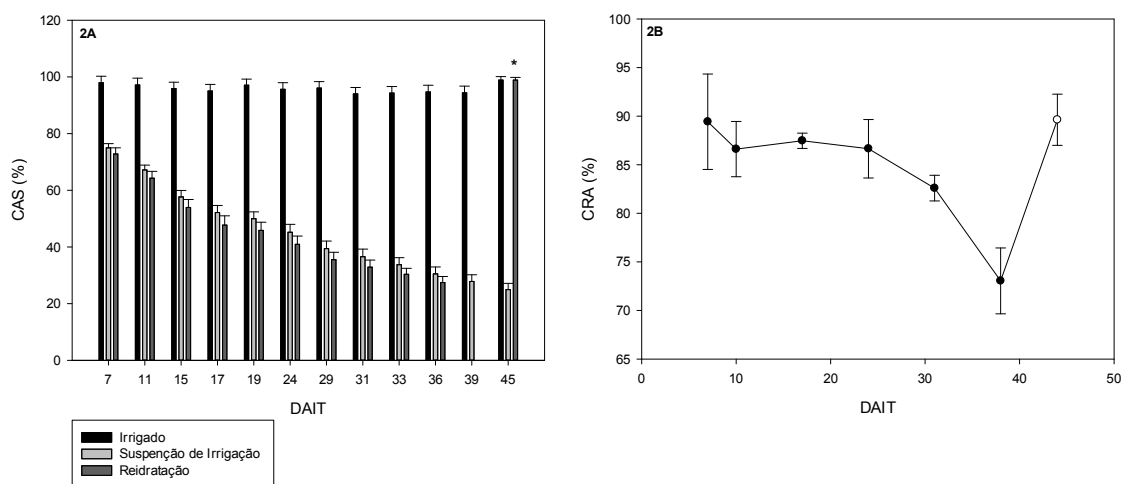


Figura 2: Monitoramento do conteúdo de água no substrato (CAS) (%) (2A) para os tratamentos Irrigação (barra preta), Suspensão de Irrigação (barra cinza clara) e Reidratação (barra cinza escuro indicada com asterisco) e conteúdo de água na folha (CRA) (%) (2B) para os tratamentos Suspensão de Irrigação durante os 38 DAIT (circulo preto) e Reidratação aos 44 DAIT (circulo branco). Desvio padrão indicado pelas linhas verticais.

Fluorescência da clorofila *a*

Os dados obtidos com as medidas da fluorescência da clorofila *a* aos 32 DAIT (6 dias antes da reidratação) e aos 44 DAIT (6 dias depois da reidratação) estão na tabela 1 e figuras 3A, 3B, 3C, 3D, 4A, 4B, 4C, 4D, 5A e 5B.

Tabela 1: Média do rendimento quântico máximo (F_v/F_m), fluorescência máxima da folha sob escuro (F_m) e fluorescência mínima da folha sob escuro (F_o) de plantas de *A. emarginata* submetidas a irrigação e suspensão de irrigação seis dias antes da reidratação (32 DAIT), e em plantas submetidas a irrigação e reidratação seis dias após a reidratação (44 DAIT) as 5, 12 e 17h.

32 DAIT	F_v/F_m		F_m		F_o	
	Irrigação	Susp. de Irrigação	Irrigação	Susp. de Irrigação	Irrigação	Susp. de Irrigação
5h	0.789 Aa*	0.751 Ba	1325 Aa	1153 Ba	280 Aa	284 Aab
12h	0.698 Ab	0.691 Ab	948 Ab	989 Aab	286 Aa	305 Aa
17h	0.760 Aa	0.750 Aa	1016 Ab	937 Ab	245 Aa	234 Ab
44 DAIT	F_v/F_m		F_m		F_o	
	Irrigação	Reidratação	Irrigação	Reidratação	Irrigação	Reidratação
5h	0.780 Aa	0.747 Ba	1053 Aa	1032 Aa	230 Aa	262 Aa
12h	0.711 Ab	0.670 Bb	1021 Aa	997 Aa	294 Aa	327 Aa
17h	0.753 Aa	0.728 Aa	984 Aa	966 Aa	243 Aa	262 Aa

*Médias seguidas por letras maiúsculas comparam os tratamentos, letras minúsculas comparam as horas das avaliações dentro de cada tratamento pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O rendimento quântico máximo (F_v/F_m) e a fluorescência máxima da folha adaptada a condição de escuro (F_m) (Tabela 1) do araticum-de-terra-fria aos 32 DAIT apresentaram maiores valores somente as 5h quando as plantas se mantiveram submetidas a Irrigação. Já a fluorescência mínima da folha adaptada ao escuro (F_o) não diferiu entre os tratamentos em nenhuma das horas. O F_v/F_m , a F_m e a F_o também não diferiram as 12 e 17h entre os tratamentos (Tabela 1).

No 44^o DAIT houve diferença no rendimento quântico máximo (F_v/F_m) entre as plantas irrigadas e reidratadas às 5 e 12h, no entanto, não foi observado diferença na F_m e F_o entre os tratamentos nos três períodos (Tabela 1).

Ao longo do tempo, tanto os tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação aos 32 DAIT como os tratamentos Irrigação e Reidratação aos 44 DAIT apresentaram redução do

F_V/F_M as 12h seguido de aumento as 17h (Tabela 1). Desta forma, plantas irrigadas, em suspensão de irrigação e reidratadas apresentaram fotoinibição dinâmica ocasionada pelo aumento da DFFF as 12h, sendo $720 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aos 32 DAIT e $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aos 44 DAIT.

De modo geral o rendimento quântico efetivo (ΦPSII) e o “quenching” fotoquímico (qP) (Figura 3A e 3B) das plantas submetidas a suspensão de irrigação apresentaram o mesmo padrão que as plantas irrigadas aos 32 DAIT conforme aumento da DFFF. Aos 44 DAIT as mesmas variáveis também apresentaram o mesmo padrão, embora de 190 a $420 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ apresentaram maior rendimento quântico efetivo e as médias foram próximas a partir da DFFF de $625 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

A taxa de transporte de elétrons (ETR) das plantas em suspensão de irrigação (Figura 3C), aos 32 DAIT, não sofreu redução ou estabilização com o estresse imposto ocorrendo inclusive aumento da ETR com o aumento da DFFF quando comparado com as plantas irrigadas. O mesmo foi observado para as plantas reidratadas aos 44 DAIT, sendo observado um padrão semelhante às irrigadas onde a ETR de ambos os tratamentos aumentaram com o aumento da DFFF (Figura 4C).

O “quenching” não fotoquímico (NPQ) das plantas submetidas à suspensão de irrigação (32 DAIT) (Figura 3D) apresentou redução com o aumento da DFFF quando comparado com as plantas irrigadas, o que demonstrou uma menor dissipação de energia na forma de calor nas plantas sob suspensão de irrigação. No entanto, o NPQ das plantas reidratadas (44 DAIT) (Figura 4D) apresentaram recuperação em relação as plantas irrigadas.

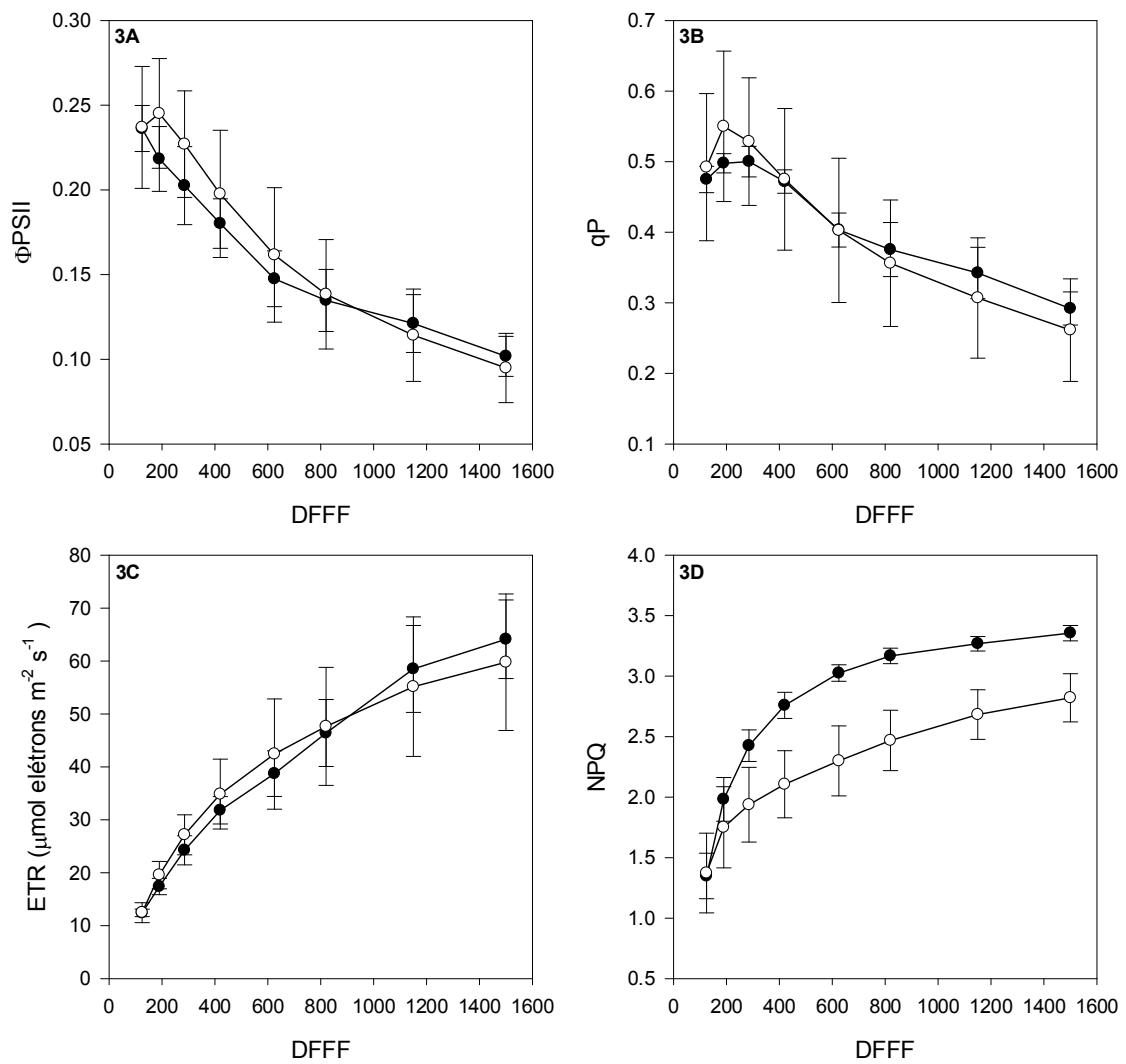


Figura 3: Fluorescência da clorofila *a* submetida a 8 pulsos de luz actínica (125, 190, 285, 420, 625, 820, 1150, 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) seis dias antes da reidratação (32 DAIT) nos tratamentos Irrigação (círculo preto) e Suspensão de Irrigação (círculo branco). Rendimento quântico efetivo (ϕ_{PSII}) (3A), “quenching” fotoquímico (qP) (3B), taxa de transporte de elétrons (ETR) (3C) e “quenching” não fotoquímico (NPQ) (3D). Linhas verticais representam o desvio padrão.

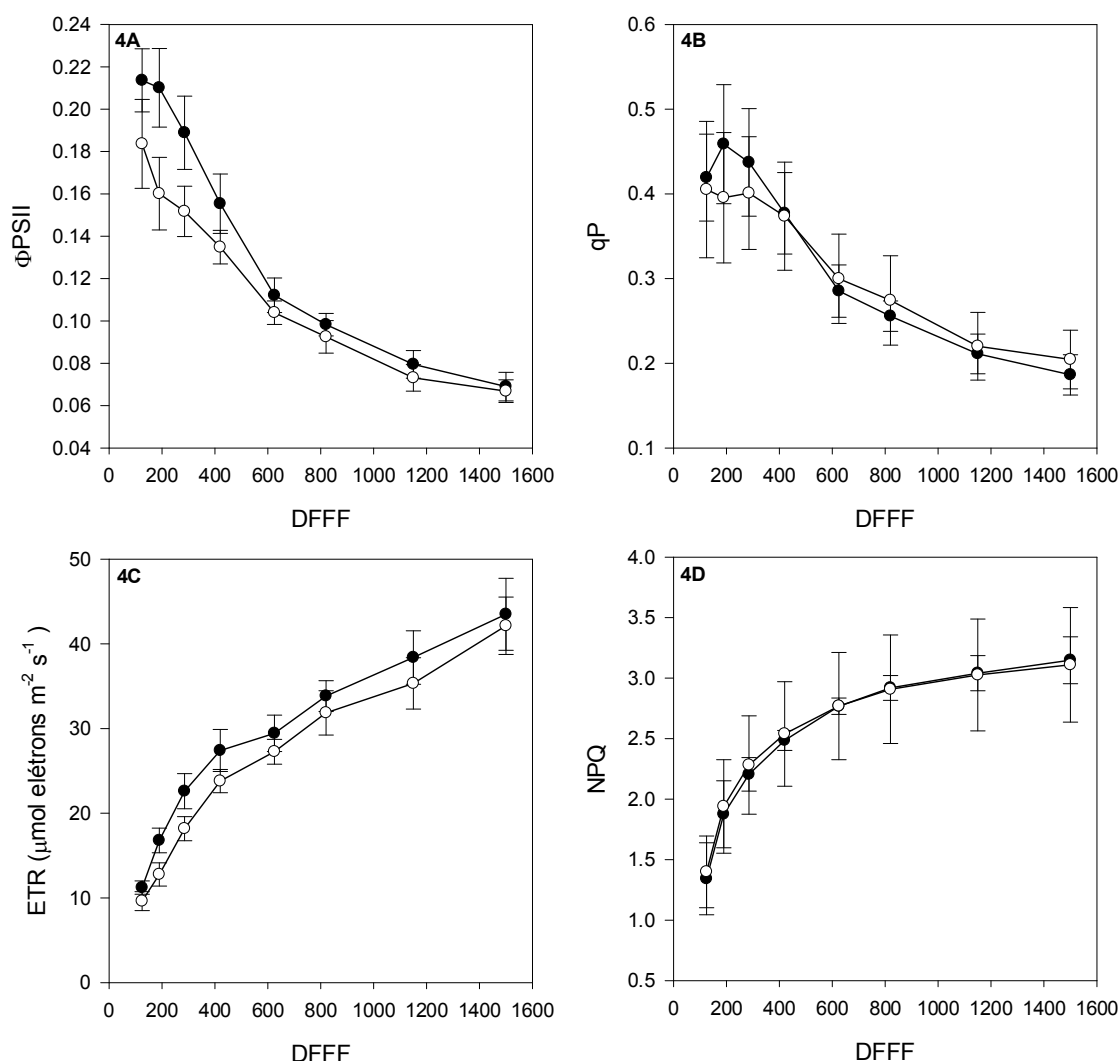


Figura 4: Fluorescência da clorofila *a* submetida a 8 pulsos de luz actínica (125, 190, 285, 420, 625, 820, 1150, 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) seis dias depois da reidratação (44 DAIT) nos tratamentos Irrigação (círculo preto) e Reidratação (círculo branco). Rendimento quântico efetivo (ϕPSII) (4A), “quenching” fotoquímico (qP) (4B), taxa de transporte de elétrons (ETR) (4C) e “quenching” não fotoquímico (NPQ) (4D). Linhas verticais representam o desvio padrão.

O rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (ϕNO) foi maior nas plantas sob suspensão de irrigação (Figura 5A), 32 DAIT, a partir da DFFF de 190 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ o que indicou maior dissipação de energia por perdas constitutivas nesse tratamento do que nas irrigadas. Já no rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (ϕNPQ) do tratamento Suspensão de Irrigação foi observado redução em relação as plantas irrigadas, também a partir da DFFF de

190 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Aos 44 DAIT, tanto o tratamento Irrigação como o Reidratação apresentaram recuperação do ϕNO e ϕNPQ , não sendo observada grande diferença entre os dois tratamentos (Figura 5B).

Embora as plantas em suspensão de irrigação tenham apresentado redução do NPQ e consequente redução da dissipação do excesso de energia como calor. Houve maior proporção do ϕNPQ do que do ϕNO tanto nas plantas submetidas a suspensão de irrigação como nas plantas reidratadas, o que indica maior capacidade de fotoproteção (Figura 5A e 5B).

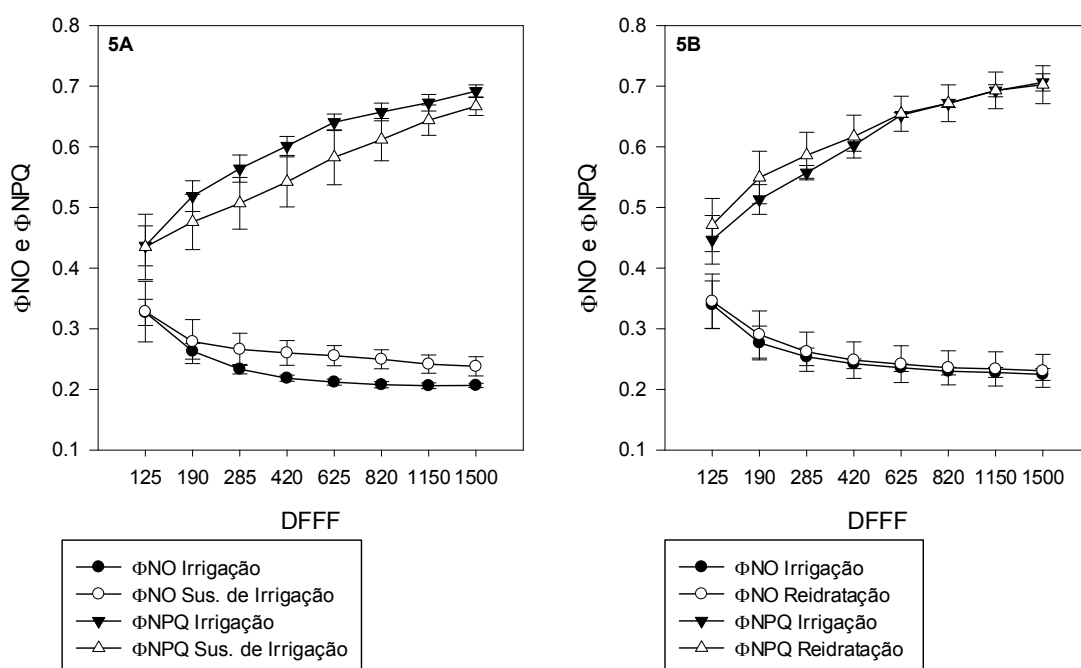


Figura 5: Média do rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (ϕNO) e do rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (ϕNPQ) em função da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) nos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação seis dias antes da reidratação (32 DAIT) (5A) e seis dias depois da reidratação (44 DAIT) (5B). Barras verticais indicam o desvio padrão.

Discussão

A queda constante no conteúdo de água do substrato de 90 a 100% para 34% dos vasos sob suspensão de irrigação (Figura 2A) refletiu na redução do conteúdo relativo de água nas folhas do araticum de 89 para 82% (Figura 2B), e está próximo de valores entre 80 e 60% relatados por Hewitt *et al.* (1985) para plantas sob estresse hídrico.

A redução no conteúdo de água das folhas de 89% para 82% provocou alterações significativas entre Irrigação e Suspensão de Irrigação as 5h, no rendimento quântico máximo, e mesmo após reidratação essa diferença continuou a ser observada entre Irrigação e Reidratação. Assim plantas sob suspensão de irrigação tiveram redução do F_V/F_M em função do estresse, enquanto as diferenças observadas entre irrigadas e reidratadas pode ter sido devido ao fato de ainda não terem se recuperado totalmente do estresse imposto, uma vez que o rendimento quântico máximo (F_V/F_M) é amplamente usado para detectar perturbações induzidas pelo estresse no aparato fotossintético (Maxwell e Johnson, 2000; Baker e Rosenqvist, 2004). A fluorescência máxima da folha sob escuro (F_M) também é conhecida por diminuir devido a baixa temperatura ou outros estresses abióticos (Prakash *et al.*, 2003; Pietrini *et al.*, 2005).

Deste modo, em *A. emarginata* a redução do F_V/F_M e da F_M as 5h nas plantas sob suspensão de irrigação e do F_V/F_M as 5 e 12h nas plantas sob reidratação quando comparadas com as irrigadas, além da redução desta mesma variável em todos os tratamentos no período das 12h (Tabela 1), é um reflexo da redução da habilidade do PSII em reduzir o aceptor primário Q_A (quinona A) (Calatayud e Barreno, 2001). No entanto, mesmo com a diferença do F_V/F_M entre os tratamentos aos 32 DAIT e 44 DAIT no período das 5h (Tabela 1), os valores de F_V/F_M ficaram acima de 0,7 considerado como valor limite para o dano por fotoinibição como afirmam Björkman e Demmig, (1987) sendo assim, não foi observado danos ao PSII.

A redução do F_V/F_M observada em todos os tratamentos no período das 12h (Tabela 1), momento de alta DFFF, com consequente aumento as 17h, momento de baixa DFFF, indica a ocorrência da fotoinibição dinâmica, considerada uma inibição reversível do PSII (Tyystjärvi, 2013). A fotoinibição dinâmica ocorre quando a intensidade de luz é alta e também quando existe um equilíbrio entre a fotoinibição e o ciclo de reparo do PSII, levando a uma baixa atividade do PSII sob condições de alta luminosidade (Campbell e Tyystjärvi, 2012). O efeito da fotoinibição dinâmica é temporário e a eficiência quântica pode retornar ao seu valor inicial mais alto, quando o fluxo fotônico decresce (Taiz e Zeiger, 2004). Por isso, a restauração noturna da atividade do PSII, que teve baixa regulação no período do meio dia, indica a reversibilidade da fotoinibição deste período, implicando na preservação da funcionalidade do aparato fotossintético ou pelo menos nos rápidos mecanismos de reparo (Gallé *et al.*, 2007).

De acordo com Gilmore *et al.* (1996) a fluorescência mínima da folha sob escuro (F_O) aumenta quando o aparato fotoquímico está danificado. Porém, o F_O neste estudo não

apresentou diferença entre os tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação e entre os tratamentos Irrigação e Reidratação no período das 5, 12 e 17h (Tabela 1). Isto contribuiu para enfatizar a ausência de dano ao PSII, uma vez que o aumento desta variável serve como um indicativo de que houve dano ao centro de reação do PSII (Ouzounidou, 1993; Zlatev e Yordanov, 2004; Efeoğlu *et al.*, 2009), pois o efeito do estresse causa inibição do ciclo de reparo do PSII em especial a proteína D1 (Hakala *et al.*, 2005; Ohnishi *et al.*, 2005; Nishiyama *et al.*, 2006).

As plantas frequentemente encontram níveis de luz que excedem sua capacidade fotossintética, especialmente quando sua capacidade para a fixação do CO₂ é reduzida por condições de estresse (Zhou *et al.*, 2007). O excesso de energia pode causar fotoinibição e mesmo danos severos ao aparato fotossintético (Sanda *et al.*, 2011; Wu e Bao, 2011). No entanto, neste estudo as plantas de *A. emarginata* estiveram sob redução de 50% da luz onde a DFFF aos 32 DAIT foi de 720 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, isso pode ter refletido nos valores próximos do rendimento quântico efetivo (ΦPSII) observados entre os tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação (Figura 3A), pois não houve danos por excesso de energia luminosa, o que poderia reduzir o ΦPSII do tratamento Suspensão de Irrigação. Da mesma forma, em *Mesembryanthemum crystallinum* L. submetidas ao estresse salino e baixa irradiação, bem como em plantas controle sob baixa irradiação, Broetto *et al.* (2007) também observaram que o ΦPSII variou pouco durante o experimento e ao longo do dia.

Com a manutenção do ΦPSII das plantas sob suspensão de irrigação ao nível das irrigadas, a taxa de transporte de elétrons (ETR) também apresentou valores próximos entre esses tratamentos (Figura 3C). A manutenção da taxa de transporte de elétrons (ETR) pode estar relacionada com o aumento da atividade dos drenos alternativos e elétrons como a fotorrespiração e o ciclo água-água, onde o acceptor de elétrons da etapa fotoquímica seria o oxigênio, consumindo assim o excesso de elétrons e protegendo o aparato fotoquímico de danos (Noctor *et al.*, 2002; Ort e Baker, 2002; Wilhelm e Selmar, 2011), resultando assim em pequenas ou nenhuma mudança no ΦPSII (Baker e Rosenqvist, 2004).

Além disso, o aumento da quantidade de NADPH sob estresse hídrico pode influenciar no aumento da síntese de produtos secundários. Qualquer aumento da força redutora muda todas as reações envolvendo o consumo de NADPH para o lado de redução do equilíbrio. Consequentemente, sem mudar qualquer atividade enzimática, a taxa de síntese dos produtos secundários altamente reduzidos pode ser aumentada (Nowak *et al.*, 2010; Selmar e Kleinwächter, 2013), entre esses produtos estão isoprenoides, fenóis e alcaloides (Steinbrecher *et al.*, 2006; Selmar, 2008).

Em *Mesembryanthemum crystallinum* L. os valores da taxa de transporte de elétrons (ETR) máxima do tratamento de estresse salino sob baixa irradiação apresentaram-se dispersos no período das 9:30 e 14:30h entre os valores do controle sob baixa irradiação, demonstrando não haver diferença na ETR máxima entre estes tratamentos sob baixa irradiação (Broetto *et al.*, 2007). O transporte de elétrons é consideravelmente tolerante ao estresse hídrico, variações de 20 a 30% (redução no transporte de elétrons) entre espécies de plantas não são incomuns (Ladjal *et al.*, 2000; Reddy *et al.*, 2004).

O “quenching” não fotoquímico (NPQ) da energia de excitação representa um importante mecanismo de fotoproteção nas plantas. Uma grande proporção de energia é dissipada pelo NPQ que converte a energia luminosa absorvida em calor (Nilkens *et al.*, 2010). Embora nas plantas submetidas a suspensão de irrigação tenha sido observado redução do NPQ (Figura 3D), foi verificado que o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II (Φ_{NPQ}) tanto dos tratamentos Irrigação e Suspensão de Irrigação aos 32 DAIT (Figura 5A) como nos tratamentos Irrigação e Reidratação aos 44 DAIT (Figura 5B) foram maiores do que o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II (Φ_{NO}). Mishra *et al.* (2012), também observaram redução do NPQ em plantas de tomate do tipo selvagem (cv. UC82b) e transgênicas tolerantes a seca (DTL-20) submetidas ao estresse hídrico severo.

O Φ_{NPQ} corresponde a fração de energia dissipada na forma de calor regulada por mecanismos de fotoproteção. Portanto, altos valores desta variável são indicativos de alta capacidade fotoprotetora, enquanto que altos valores de Φ_{NO} refletem a inabilidade da planta em se proteger contra danos causados pelo excesso de luz (Kramer *et al.*, 2004; Klughammer e Schreiber, 2008).

Considerando-se que os valores de F_v/F_m apresentaram se maiores que 0,7 as 5h e 17h e a ocorrência de fotoinibição dinâmica em todos os tratamentos. Verifica-se as plantas de araticum-de-terra-fria (*A. emarginata*) são tolerantes ao déficit hídrico, pois o aparato fotoquímico não foi danificado sob condições do estresse imposto. Um dos motivos é porque não foi observado diferenças na taxa de transporte de elétrons entre os tratamentos nas diferentes DFFF. Outro motivo é porque a proporção do Φ_{NPQ} foi maior que o Φ_{NO} em todos os tratamentos indicando alta capacidade fotoprotetora. Demonstrando a capacidade da espécie em tolerar o estresse.

Conclusão

Com esse estudo podemos concluir que a espécie *A. emarginata* apresenta o aparato fotoquímico tolerante ao estresse hídrico, uma vez que não foram verificadas alterações no nível de eficiência fotoquímica entre plantas mantidas sob irrigação e reidratadas após o estabelecimento do estresse.

Referencias bibliográficas

Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of experimental botany* **55**, 1607–21.

Bettiol Neto JE, Pio R, Bueno SCS, Bastos DC, Scarpore Filho JA. 2006. Enraizamento de estacas dos porta-enxertos Araticum-de-Terra-Fria (*Rollinia* sp.) e Araticum-Mirim (*Rollinia emarginata* Schltdl.) para anonáceas. *Ciência e Agrotecnologia* **30**, 1077–1082.

Bilger W, Björkman O. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research* **25**, 173–185.

Björkman O, Demmig B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**, 489–504.

Broetto F, Monteiro Duarte H, Lüttge U. 2007. Responses of chlorophyll fluorescence parameters of the facultative halophyte and C3-CAM intermediate species *Mesembryanthemum crystallinum* to salinity and high irradiance stress. *Journal of plant physiology* **164**, 904–12.

Caemmerer S, Farquhar GD. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**, 376–387.

Calatayud A, Barreno E. 2001. Chlorophyll a fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* **115**, 283–9.

- Campbell DA, Tyystjärvi E.** 2012. Parameterization of photosystem II photoinactivation and repair. *Biochimica et biophysica acta* **1817**, 258–65.
- Chaves MM.** 1991. Effects of Water Deficits on Carbon Assimilation. *Journal of Experimental Botany* **42**, 1–16.
- Chen H-X, Gao H-Y, An S-Z, Li W-J.** 2004. Dissipation of Excess Energy in Mehler-Peroxidase Reaction in Rumex Leaves During Salt Shock. *Photosynthetica* **42**, 117–122.
- Demmig-Adams B, Adams WW.** 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* **1**, 21–26.
- Ditmarová L, Kurjak D, Palmroth S, Kmet J, Strelcová K.** 2010. Physiological responses of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings to drought stress. *Tree Physiology* **30**, 205–213.
- Efeoğlu B, Ekmekçi Y, Çiçek N.** 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany* **75**, 34–42.
- Ferreira G, Gimenez JI, Corsato JM, Oliveira MC.** 2013. Germinação de sementes de anonáceas. In: Ferreira G, Kavati R, Boaro CSF, Ferrari TB, Leonel S, eds. *Anonáceas: Propagação e produção de mudas*. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 19–43.
- Foyer CH, Lelandais M, Kunert KJ.** 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* **92**, 696–717.
- Gallé A, Haldimann P, Feller U.** 2007. Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *The New phytologist* **174**, 799–810.
- Genty B, Briantais J-M, Baker NR.** 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **990**, 87–92.

Gilmore AM, Hazlett TL, Debrunner PG. 1996. Comparative Time-Resolved Photosystem II Chlorophyll a Fluorescence Analyses Reveal Distinctive Differences between Photoinhibitory Reaction Center Damage and Xanthophyll Cycle-Dependent Energy Dissipation. *Photochemistry and Photobiology* **64**, 552–563.

Gratão PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA. 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* **32**, 481–494.

Hakala M, Tuominen I, Keränen M, Tyystjärvi T, Tyystjärvi E. 2005. Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. *Biochimica et biophysica acta* **1706**, 68–80.

Hewitt F, Hough T, O'Neill P, Sasse J, Williams E, Rowan K. 1985. Who Taught Plants Thermodynamics? The Unfulfilled Potential of Plant Water Potential. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**, 213.

Hideg É, Spetea C, Vass I. 1995. Superoxide radicals are not the main promoters of acceptor-side-induced photoinhibitory damage in spinach thylakoids. *Photosynthesis Research* **46**, 399–407.

Kitajima M, Butler WL. 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **376**, 105–115.

Kitamura MC, Ramos JD, Lemos EEP de. 2004. Avaliação de tipos de enxertia e recipientes para produção de mudas de graviola (*Annona muricata* L.). *Ciência e Agrotecnologia* **28**, 24–33.

Klughammer C, Schreiber U. 2008. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Application Notes* **1**, 27–35.

Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE. 2004. New fluorescence parameters for the determination of q(a) redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis research* **79**, 209–218.

Ladjal M, Epron D, Ducrey M. 2000. Effects of drought preconditioning on thermotolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings. *Tree physiology* **20**, 1235–1241.

Lee J-M, Colla G, Kubota C, Tsao SJ, Bie Z, Echevarria PH, Morra L, Oda M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Scientia Horticulturae* **127**, 93–105.

Lemos EEP. 2013. Bases anatômicas e aspectos fisiológicos da enxertia em anonáceas. In: Ferreira G, Kavati R, Boaro CSF, Ferrari TB, Leonel S, eds. *Anonáceas: Propagação e produção de mudas*. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 45–58.

Manes F, Donato E, Vitale M. 2001. Physiological response of *Pinus halepensis* needles under ozone and water stress conditions. *Physiologia Plantarum* **113**, 249–257.

Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany* **51**, 659–668.

Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulias J, Flexas J. 2002. Regulation of photosynthesis of C-3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* **89**, 895–905.

Mishra KB, Iannaccone R, Petrozza A, Mishra A, Armentano N, La Vecchia G, Trtílek M, Cellini F, Nedbal L. 2012. Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. *Plant science : an international journal of experimental plant biology* **182**, 79–86.

Mittal M, Juveal V, Singh A. 2010. Antidiabetic and crioprotective effect of *Annona squamosa* L. leaves on diabetic wistar albino rat. *Pharmacology, Basel* **2**, 908-913.

Nilkens M, Kress E, Lambrev P, Miloslavina Y, Müller M, Holzwarth AR, Jahns P. 2010. Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. *Biochimica et biophysica acta* **1797**, 466–475.

Nishiyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N. 2006. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochimica et biophysica acta* **1757**, 742–749.

Noctor G, Veljovic-Jovanovic S, Driscoll S, Novitskaya L, Foyer CH. 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? *Annals of botany* **89** Spec No, 841–850.

Nowak M, Kleinwächter M, Manderscheid R, Weigel H-J, Selmar D. 2010. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. *Journal of Applied Botany and Food Quality* **83**, 133–136.

Ohnishi N, Allakhverdiev SI, Takahashi S, Higashi S, Watanabe M, Nishiyama Y, Murata N. 2005. Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* **44**, 8494–8499.

Okoye TC, Akah PA, Ezike AC, Okoye MO, Onyeto CA, Ndukwu F, Ohaegbulam E, Ikele L. 2012. Evaluation of the acute and sub acute toxicity of *Annona senegalensis* root bark extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine* **5**, 277–282.

Ort DR, Baker NR. 2002. A photoprotective role for O(2) as an alternative electron sink in photosynthesis? *Current opinion in plant biology* **5**, 193–8.

Osmond B, Schwartz O, Gunning B. 1999. Photoinhibitory printing on leaves, visualised by chlorophyll fluorescence imaging and confocal microscopy, is due to diminished fluorescence from grana. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**, 717-724.

Ouzounidou G. 1993. Changes in variable chlorophyll fluorescence as a result of Cu-treatment: dose-response relations in *Silene* and *Thlaspi*. *Photosynthetica* **29**, 455–462.

Pietrini F, Chaudhuri D, Thapliyal AP, Massacci A. 2005. Analysis of chlorophyll fluorescence transients in mandarin leaves during a photo-oxidative cold shock and recovery. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **106**, 189–198.

Pompelli MF, Barata-Luís R, Vitorino HS, Gonçalves ER, Rolim E V., Santos MG, Almeida-Cortez JS, Ferreira VM, Lemos EE, Endres L. 2010. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass and Bioenergy* **34**, 1207–1215.

Prakash JSS, Srivastava A, Strasser RJ, Mohanty P. 2003. Senescence-induced alterations in the photosystem II functions of *Cucumis sativus* cotyledons: Probing of senescence driven alterations of photosystem II by chlorophyll a fluorescence induction O-J-I-P transients. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* **40**, 160–168.

Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* **161**, 1189–1202.

Sanda S, Yoshida K, Kuwano M, Kawamura T, Munekage YN, Akashi K, Yokota A. 2011. Responses of the photosynthetic electron transport system to excess light energy caused by water deficit in wild watermelon. *Physiologia plantarum* **142**, 247–264.

Santos MG, Ribeiro RV, de Oliveira RF, Machado EC, Pimentel C. 2006. The role of inorganic phosphate on photosynthesis recovery of common bean after a mild water deficit. *Plant Science* **170**, 659–664.

Scaloppi Junior EJ, Martins ABG. 2013. A estaquia em espécies de Annonaceae potenciais como porta-enxertos. In: Ferreira G, Kavati R, Boaro CSF, Ferrari TB, Leonel S, eds. *Anonáceas: Propagação e produção de mudas*. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 59–73.

Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis Research* **10**, 51–62.

Selmar D. 2008. Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. *Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research* **58**, 139–144.

Selmar D, Kleinwächter M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products* **42**, 558–566.

Steinbrecher R, Magel E, Mayrhofer S, Müller A, Zimmer I, Hampp R, Schnitzler J-P. 2006. Photosynthesis and substrate supply for isoprene biosynthesis in poplar leaves. *Atmospheric Environment* **40**, 138–151.

Taiz L, Zeiger E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed.

Thameur A, Lachiheb B, Ferchichi A. 2012. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. *Journal of environmental management* **113**, 495–500.

Tokunaga T. 2005. *A cultura da atemóia*. Campinas-SP: Coordenadoria de Assistencia Tecnica Integral (CATI).

Tyystjärvi E. 2013. Photoinhibition of Photosystem II. *International review of cell and molecular biology* **300**, 243–303.

Varone L, Ribas-Carbo M, Cardona C, Gallé A, Medrano H, Gratani L, Flexas J. 2012. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Environmental and Experimental Botany* **75**, 235–247.

Weatherley PE. 1949. studies in the water relations of the cotton plant. i. the field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* **49**, 81–97.

Wilhelm C, Selmar D. 2011. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *Journal of plant physiology* **168**, 79–87.

Wingler A, Lea PJ, Quick WP, Leegood RC. 2000. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* **355**, 1517–1529.

Wu X, Bao W. 2011. Leaf growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in response to different water deficits in wheat cultivars. *Plant Production Science* **14**, 254–259.

Zhou Y, Lam HM, Zhang J. 2007. Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice. *Journal of experimental botany* **58**, 1207–1217.

Zlatev ZS, Yordanov IT. 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*. **30**, 3–18.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os relatos na literatura de que a espécie *Annona emarginata* apresenta compatibilidade com atemóia bem como tolerância a podridões de raiz e colo, muitos produtores de atemóia tem investido na produção de mudas de *Annona emarginata* para o uso como portaenxerto. Além disto, também é relatado que o araticum-de-terra-fria é tolerante a solos secos sendo uma alternativa de portaenxerto para estas condições. No entanto, não se encontra informações nas bases de dados referentes a tolerância desta espécie ao estresse hídrico.

Desta forma, este estudo contribuiu com informações valiosas sobre a capacidade de recuperação do araticum-de-terra-fria após estabelecimento de estresse hídrico por falta de água. O que ficou evidente foi que a espécie apresenta capacidade de recuperação das trocas gasosas, mesmo que de forma parcial. No entanto, foi avaliada a recuperação até cinco dias após a reidratação, o que poderá ser avaliado por mais tempo em outros estudos, a fim de verificar se com o tempo a recuperação passa a ser completa. Além disso, dados de fluorescência e de atividade enzimática sinalizaram que a espécie é capaz de suportar o estresse hídrico, o que também são fatores importantes de caracterização da espécie como tolerante a estresses hídricos.

Embora ainda existam muitos fatores importantes que estejam relacionados com a tolerância e a capacidade de recuperação das plantas que foram submetidas a estresse hídrico como alterações bioquímicas, expressão de genes de tolerância, modificações anatômicas e outras alterações fisiológicas que não foram avaliadas neste estudo, pode-se ressaltar que os dados obtidos neste estudo servirão de base para o aprimoramento de estudos sobre a tolerância de *Annona emarginata* ao estresse hídrico assim como explica o porque a espécie é considerada pelos produtores tolerante a solos com falta de água.

7. CONCLUSÕES

- Embora a espécie *A. emarginata* tenha apresentado recuperação da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD) após a reidratação e não tenha sido detectada peroxidação lipídica causada pelas espécies reativas de oxigênio, as trocas gasosas tiveram capacidade de recuperação parcial após o estabelecimento de estresse hídrico por falta de água.
- Com esse estudo podemos concluir que a espécie *A. emarginata* apresenta o aparato fotoquímico tolerante ao estresse hídrico, uma vez que não foram verificadas alterações no nível de eficiência fotoquímica entre plantas mantidas sob irrigação e reidratadas após o estabelecimento do estresse.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, A. R.; HAJIREZAEI, M.; HOFIUS, D.; SONNEWALD, U.; VOLL, L. M. Specific roles of alpha- and gamma-tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. **Plant Physiology**, v.143, n.4, p.1720–1738, 2007.

ALMEIDA, L. F. P. **Propagação por enxertia de araticum (*Annona crassiflora* Mart.) e atemóia (*Annona squamosa* L. x *Annona cherimola* Mill.) em diferentes portaenxertos de Annonaceae**. 2009. 115f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

APGIII. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105–121, out. 2009.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da Fotossíntese, **Revista Brasileira de Biociências**, 31 dez. 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1009/900>>. Acesso em: 8 set. 2013.

ARO, E. M.; MCCAFFERY, S.; ANDERSON, J. M. Photoinhibition and D1 Protein Degradation in Peas Acclimated to Different Growth Irradiances. **Plant physiology**, v. 103, n. 3, p. 835–843, nov. 1993.

ASADA, K. THE WATER-WATER CYCLE IN CHLOROPLASTS: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 50, p. 601–639, jun. 1999.

ASSMANN, S.; SHIMAZAKI, K. The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. **Plant physiology**, v. 119, n. 3, p. 809–816, mar. 1999.

ASSMANN, S. M.; SNYDER, J. A.; LEE, Y. J. ABA-deficient (*aba1*) and ABA-insensitive (*abi1-1*, *abi2-1*) mutants of *Arabidopsis* have a wild-type stomatal response to humidity. **Plant, Cell and Environment**, v. 23, n. 4, p. 387–395, 2000.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 403, p. 1607–1621, ago. 2004.

BARON, D.; FERREIRA, G.; RODRIGUES, J. D.; BOARO, C. S. F.; MACEDO, A.C. Gas exchange, physiological indexes and ionic accumulation in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer seedlings in nutrients solution. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 361–376, jun. 2013.

BAYER, J. S. Measurement of plant water status. **Annual Review of Plant Physiology**, v.20, p.351-364, 1969.

BETTIOL NETO, J. E.; PIO, R.; BUENO, S. C. S.; BASTOS, D. C.; SCARPARE FILHO, J. A. Enraizamento de estacas dos portaenxertos *Araticum-de-terra-fria* (*Rollinia* sp.) e *Araticum-mirim* (*Rollinia emarginata* Schltdl.) para anonáceas. **Ciência Agrotecnológica**. v.30, n.6, p.1077-1082, 2006.

BILGER, W.; BJÖRKMAN, O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. **Photosynthesis Research**, v. 25, n. 3, p. 173–185, 1 set. 1990.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, n. 4, p. 489–504, abr. 1987.

BLÖDNER, C.; SKROPPA, T.; JOHNSEN, Ø.; POLLE, A. Freezing tolerance in two Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) progenies is physiologically correlated with drought tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 5, p. 549–558, maio. 2005.

BOGEAT-TRIBOULOT, M.-B.; BROSCHE, M.; RENAUT, J.; JOUVE, L.; LE THIEC, D.; FAYYAZ, P.; VINOCUR, B.; WITTERS, E.; LAUKENS, K.; TEICHMANN, T.; ALTMAN, A.; HAUSMAN, J.-F.; POLLE, A.; KANGASJÄRVI, J.; DREYER, E. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology,

and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. **Plant physiology**, v. 143, n. 2, p. 876–92, 1 fev. 2007.

BONAVENTURE, L. **A cultura de Cherimóia e seu híbrido, a Atemóia**. São Paulo: Nobel, 1999. 182 p.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. V; INZE, D. Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, n. 1, p. 83–116, 28 jun. 1992.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248–254, maio. 1976.

BRAGA, J. F. **Efeito de Reguladores Vegetais na Germinação de Sementes e desenvolvimento de Plantas de Atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *Annonas squamosa* L.) cv. Gefner**. 2008, 71f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in plant science**, v.2, n.2, p.48-54, 1997.

BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M. Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits. **Plant physiology**, v. 132, n. 4, p. 2166–2173, 1 ago. 2003.

BROETTO, F.; MONTEIRO DUARTE, H.; LÜTTGE, U. Responses of chlorophyll fluorescence parameters of the facultative halophyte and C3-CAM intermediate species *Mesembryanthemum crystallinum* to salinity and high irradiance stress. **Journal of plant physiology**, v. 164, n. 7, p. 904–912, jul. 2007.

BUNCE, J. A. Does transpiration control stomatal responses to water vapour pressure deficit? **Plant, Cell and Environment**, v. 20, n. 1, p. 131–135, jan. 1996.

BUNCE, J. A. Effects of humidity on short-term responses of stomatal conductance to an increase in carbon dioxide concentration. **Plant, Cell and Environment**, v. 21, n. 1, p. 115–120, jan. 1998.

BUNCE, J. A. Use of the response of photosynthesis to oxygen to estimate mesophyll conductance to carbon dioxide in water-stressed soybean leaves. **Plant, cell & environment**, v. 32, n. 7, p. 875–881, jul. 2009.

CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, v. 153, n. 4, p. 376–387, dez. 1981.

CALATAYUD, A.; BARRENO, E. Chlorophyll *a* fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 115, n. 2, p. 283–289, jan. 2001.

CALATAYUD, A.; RAMIREZ, J. W.; IGLESIAS, D. J.; BARRENO, E. Effects of ozone on photosynthetic CO₂ exchange, chlorophyll *a* fluorescence and antioxidant systems in lettuce leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 116, n. 3, p. 308–316, nov. 2002.

CAMARGO, C. M. M. S.; KAVATI, R. Observações preliminares sobre o desenvolvimento vegetativo da fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) sobre diferente porta-enxertos. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 14., 1996, Curitiba, PR. **Anais**. Londrina: IAPAR, 1996. p.225.

CAMPBELL, D. A.; TYYSTJÄRVI, E. Parameterization of photosystem II photoinactivation and repair. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1817, n. 1, p. 258–265, jan. 2012.

CAUTÍN, R.; AGUSTÍ, M. Phenological growth stages of the cherimoya tree (*Annona cherimola* Mill). **Scientia Horticulturae**, v.105, n.4, p.491-497, 2005.

CAVALCANTE, L. F.; CARVALHO, S. S.; LIMA, E. M.; FEITOSA FILHO, J. C.; SILVA, D. A. Desenvolvimento inicial da gravioleira sob fontes e níveis de salinidade da água. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.455-459, 2001.

CENTRITTO, M.; WAHBI, S.; SERRAJ, R.; CHAVES, M. Effects of partial rootzone drying (PRD) on adult olive tree (*Olea europaea*) in field conditions under arid climateII. Photosynthetic responses. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 106, p. 303–311, 2005.

CHAN, J. L.; FOWLER, J. L. Validation of relative water content for studying plant water relations in crambe. **Industrial Crops and Products**, n.1, v.1, p.21-29, 1992.

CHANDRA, A.; BHATT, R. K.; MISRA, L. P. Effect of water stress on biochemical and physiological characteristics in oat genotypes. **Journal Agronomical Crop Science**. v.181, n.1, p.45–48, 1998.

CHATROU, L. W. Las Annonaceae y el proyecto Annonaceae: una breve revisión de su estado actual. **Acta Horticulturae**, v.497. n.1, p.51-57, 1999.

CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v.42, n.234, p.1-16, 1991.

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, n. 7, p. 907–916, 15 jun. 2002.

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 3, p. 239-264, 2003.

CHAVES, M.; OLIVEIRA, M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v.55, n.407, p.2365-2384, 2004.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551–560, 1 fev. 2009.

CHEN, H. -X.; GAO, H. -Y.; AN, S. -Z.; LI, W. -J. Dissipation of Excess Energy in Mehler-Peroxidase Reaction in *Rumex* Leaves During Salt Shock. **Photosynthetica**, v. 42, n. 1, p. 117–122, 1 mar. 2004.

COCHARD, H.; COLL, L.; LE ROUX, X.; AMEGLIO, T. Unraveling the Effects of Plant Hydraulics on Stomatal Closure during Water Stress in Walnut. **PLANT PHYSIOLOGY**, v. 128, n. 1, p. 282–290, 1 jan. 2002.

COCHARD, H.; VENISSE, J.-S.; BARIGAH, T. S.; BRUNEL, N.; HERBETTE, S.; GUILLIOT, A.; TYREE, M. T.; SAKR, S. Putative role of aquaporins in variable hydraulic conductance of leaves in response to light. **Plant physiology**, v. 143, n. 1, p. 122–33, 1 jan. 2007.

COLOM, O. A.; POPICH, S.; BARDON, A. Bioactive constituents from *Rollinia emarginata* (Annonaceae). **Natural Products Research**, v.21, n.3, p.254-259, 2007.

COMSTOCK, J.; MENCUCCINI, M. Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. & G.), a desert subshrub. **Plant, Cell and Environment**, v. 21, n. 10, p. 1029–1038, out. 1998.

CONDON, A. G.; RICHARDS, R. A.; FARQUHAR, G. D. The effect of variation in soil water availability, vapour pressure deficit and nitrogen nutrition on carbon isotope discrimination in wheat. **Australian journal of agricultural research**, v. 43, n. 5, p. 935–947, 1992.

CORNIC, G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis. **Trends in Plant Science**, v.5, n.5, p.187-188, 2000.

CRAMER, G. R.; ERGÜL, A.; GRIMPLET, J.; TILLET, R. L.; TATTERSALL, E. A. R.; BOHLMAN, M. C.; VINCENT, D.; SONDEREGGER, J.; EVANS, J.; OSBORNE, C.; QUILICI, D.; SCHLAUCH, K. A.; SCHOOLEY, D. A.; CUSHMAN, J. C. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. **Functional & integrative genomics**, v. 7, n. 2, p. 111–34, abr. 2007.

DAMATTA, F. M. Ecophysiology of tropical tree crops: an introduction. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.19, n.4, p. 239-244, 2007.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. **Trends in Plant Science**, v. 1, n. 1, p. 21–26, jan. 1996.

DEWAR, R. C. Interpretation of an empirical model for stomatal conductance in terms of guard cell function. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, n. 4, p. 365–372, abr. 1995.

DITMAROVÁ, L.; KURJAK, D.; PALMROTH, S.; KMET, J.; STRELCOVÁ, K. Physiological responses of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings to drought stress. **Tree Physiology**, v.30, n.2, p.205-213, 2010.

DONADIO, L. C. Situação atual e perspectivas das anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. **Anonáceas, Produção e Mercado**: Pinha, Graviola, Atemóia e Cherimólia. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997. p.1-4.

DOWNTON, W. J. S.; LOVEYS, B. R.; GRANT, W. J. R. Non-uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non-stomatal inhibition of photosynthesis. **New Phytologist**, v. 110, n. 4, p. 503–509, dez. 1988.

DUBEY, A.; CHANDRA, A. Differential changes in enzyme activities caused by water stress in *Cenchrus* species. **Indian Journal Plant Physiology**. v.8, p.339–345, 2003.

EAMUS, D.; TAYLOR, D. T.; MACINNIS-NG, C. M. O.; SHANAHAN, S.; SILVA, L. Comparing model predictions and experimental data for the response of stomatal conductance and guard cell turgor to manipulations of cuticular conductance, leaf-to-air vapour pressure difference and temperature: feedback mechanisms are able to account for. **Plant, cell & environment**, v. 31, n. 3, p. 269–77, mar. 2008.

EFEÖĞLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇİÇEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 1, p. 34–42, jan. 2009.

ENCINA, C. L.; PADILLA, I. M. G.; CAZORLA, J. M.; CARO, E. Tissue culture in cherimoya. **Acta Horticulturae**, v.497, n.1, p.289-302, 1999.

ENDRES, L. Daily and seasonal variation of water relationship in sugar apple (*Annona squamosa* L.) under different irrigation regimes at semi-arid Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 113, n. 2, p. 149-154, 26 jun. 2007.

ENNAHLI, S.; EARL, H. J. Physiological Limitations to Photosynthetic Carbon Assimilation in Cotton under Water Stress. **Crop Science**, v. 45, n. 6, p. 2374-2382, 2005.

ESCALONA, J. M.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 26, n. 5, p. 421-433, 1999.

FARQUHAR, G. D.; CAEMMERER, S.; BERRY, J. A. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. **Planta**, v. 149, n. 1, p. 78–90, jun. 1980.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal Conductance and Photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, n. 1, p. 317–345, 28 jun. 1982.

FEDDES, R.; DAM, J. VAN. Plant-Soil-Water Relations. In: **Encyclopedia of Soils in the Environment**. [s.l.] Elsevier, 2005. v. null.

FERREIRA, G.; GIMENEZ, J. I.; CORSATO, J. M.; OLIVEIRA, M. C. Germinação de sementes de anonáceas. In: FERREIRA, G.; KAVATI, R.; BOARO, C. S. F.; FERRARI, T. B.; LEONEL, S. (Eds.). **Anonáceas: Propagação e produção de mudas**. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2013. p. 19–43.

FLEXAS, J.; ESCALONA, J. M.; MEDRANO, H. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, n. 1, p. 39–48, jan. 1999.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, v.89, n.2, p.183-189, 2002a.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Photosynthetic responses of C3 plants to drought. In: HERMANTARANJAN, A. (Ed.). **Advances In Plant Physiology IV**. Jodhpur: Scientific Publishers, 2002b, p.1-56.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; CIFRE, J.; MARIANO ESCALONA, J.; GALMES, J.; GULIAS, J.; LEFI, K.; FLORINDA MARTINEZ-CANELLAS, S.; TERESA MORENO, M.; RIBAS-CARBO, M.; RIERA, D.; SAMPOL, B.; MEDRANO, H. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. **Annals of Applied Biology**, v. 144, n. 3, p. 273–283, jun. 2004.

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

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ, M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 3, p. 343–352, 6 fev. 2006b.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. **Plant, cell & environment**, v. 31, n. 5, p. 602–21, maio. 2008.

FLEXAS, J.; BARÓN, M.; BOTA, J.; DUCRUET, J-M.; GALLÉ, A.; GALMÉS, J.; JIMÉNEZ, M.; POU, A.; RIBAS-CARBÓ, M.; SAJNANI, C.; TOMÀS, M.; MEDRANO, H. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-

adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 8, p. 2361–77, 1 jan. 2009.

FORTUNATI, A.; BARTA, C.; BRILLI, F.; CENTRITTO, M.; ZIMMER, I.; SCHNITZLER, J.-P.; LORETO, F. Isoprene emission is not temperature-dependent during and after severe drought-stress: a physiological and biochemical analysis. **The Plant journal: for cell and molecular biology**, v. 55, n. 4, p. 687–97, ago. 2008.

FOYER, C. H.; LELANDAIS, M.; KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 92, n. 4, p. 696–717, dez. 1994.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. **New Phytologist**, v. 146, n. 3, p. 359–388, 2000.

GALLÉ, A.; HALDIMANN, P.; FELLER, U. Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. **The New phytologist**, v. 174, n. 4, p. 799–810, jan. 2007.

GALLÉ, A.; FELLER, U. Changes of photosynthetic traits in beech saplings (*Fagus sylvatica*) under severe drought stress and during recovery. **Physiologia plantarum**, v. 131, n. 3, p. 412–21, nov. 2007.

GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. **The New phytologist**, v. 175, n. 1, p. 81–93, jan. 2007a.

GALMÉS, J.; FLEXAS, J.; SAVÉ, R.; MEDRANO, H. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. **Plant and Soil**, v. 290, n. 1-2, p. 139–155, 11 nov. 2007b.

GALMÉS, J.; POU, A.; ALSINA, M. M.; TOMÀS, M.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. **Planta**, v. 226, n. 3, p. 671–81, ago. 2007c.

GASPAR, T.; FRANCK, T.; BISBIS, B.; KEVERS, C.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J. F.; DOMMES, J. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. **Plant Growth Regulation**, v. 37, n. 3, p. 263–285, 1 jul. 2002.

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 (BBA) - General Subjects**, v. 990, n. 1, p. 87–92, 27 jan. 1989.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–14, fev. 1977.

GILMORE, A. M.; HAZLETT, T. L.; DEBRUNNER, P. G. Comparative Time-Resolved Photosystem II Chlorophyll a Fluorescence Analyses Reveal Distinctive Differences between Photoinhibitory Reaction Center Damage and Xanthophyll Cycle-Dependent Energy Dissipation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 64, n. 3, p. 552–563, set. 1996.

GIMENEZ, C.; GALLARDO, M.; THOMPSON, R. Plant–Water Relations. In: **Encyclopedia of Soils in the Environment**. [s.l.] Elsevier, 2005. v. null, p. 231-238.

GRAMS, T. E. E.; KOZIOLEK, C.; LAUTNER, S.; MATYSSEK, R.; FROMM, J. Distinct roles of electric and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon re-irrigation in *Zea mays* L. **Plant, cell & environment**, v. 30, n. 1, p. 79–84, jan. 2007.

GRASSI, G.; MAGNANI, F. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, n. 7, p. 834–849, jul. 2005.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, n. 6, p. 481–494, 15 jun. 2005.

HAKALA, M.; TUOMINEN, I.; KERÄNEN, M.; TYYSTJÄRVI, T.; TYYSTJÄRVI, E. Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1706, n. 1-2, p. 68–80, 7 jan. 2005.

HARBORNE, J. B. **Introduction to Ecological Biochemistry**. 3. ed. London: Academic Press, 1988.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, abr. 1968.

HEIDE, T.; POOLMAN, B. Osmoregulated ABC-transport system of *Lactococcus lactis* senses water stress via changes in the physical state of the membrane. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.97, n.13, p.7102-7106, 2000.

HENDRICKSON, L.; FURBANK, R. T.; CHOW, W. S. A simple alternative approach to assessing the fate of absorbed light energy using chlorophyll fluorescence. **Photosynthesis research**, v. 82, n. 1, p. 73–81, jan. 2004.

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

HEWITT, F. HOUGH, T.; O'NEILL, P.; SASSE, J. M.; WILLIAMS, E. G.; ROWAN, K. S. Who Taught Plants Thermodynamics? The Unfulfilled Potential of Plant Water Potential. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 12, n. 3, p. 213-217, 1985.

HIDEG, É.; SPETEA, C.; VASS, I. Superoxide radicals are not the main promoters of acceptor-side-induced photoinhibitory damage in spinach thylakoids. **Photosynthesis Research**, v. 46, n. 3, p. 399–407, 1 jan. 1995.

HIGUCHI, H.; UTSUNOMIYA, N.; SAKURATANI, T. Effects of temperature on growth, dry matter production and CO assimilation in cherimoya (*Annona cherimola* Mill) and sugar apple (*Annona squamosa* L.) seedlings. **Scientia Horticulturae**, v.73, n.2-3, p.89-97, 1998.

HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. **The Plant journal: for cell and molecular biology**, v. 61, n. 6, p. 1041-52, mar. 2010.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station Circular**. v.347, p.1-32, 1950.

HOFFMANN, A.; CHALFUN, N. N. J.; ANTUNES, L. E. C.; RAMOS, J. D.; PASDER, M.; SILVA, C. R. R. **Fruticultura comercial**: propagação de plantas frutíferas. Lavras: UFLA/FAEPE, 1996. 319p.

HU, Y.-C.; SHAO, H.-B.; CHU, L.-Y.; GANG, W. Relationship between water use efficiency (WUE) and production of different wheat genotypes at soil water deficit. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 53, n. 2, p. 271–7, 1 dez. 2006.

IBRAF. **Perspectivas da Fruticultura Brasileira**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/news>>. Acesso em 14 Jan 2009.

IMLAY, J. A. Pathways of oxidative damage. **Annual review of microbiology**, v. 57, p. 395–418, jan. 2003.

IZANLOO, A.; CONDON, A. G.; LANGRIDGE, P.; TESTER, M.; SCHNURBUSCH, T. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. **Journal of experimental botany**, v. 59, n. 12, p. 3327–3346, jan. 2008.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução a taxonomia vegetal**. 13.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 2002. 777p.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: Um enfoque filogenético**. 3ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 632p.

KAISER, W. M. Correlation between changes in photosynthetic activity and changes in total protoplast volume in leaf tissue from hygro- meso- and xerophytes under osmotic stress. **Planta**, n.6, v.154, p.538-45, 1982.

KAVATI, R. Cultivo de atemóia. In: DONADIO, L. C.; MARTINS, A. B. G.; VALENTE, J. P. (Eds.) **Fruticultura tropical**, Jaboticabal: FUNEP, 1992 p. 39-70.

KAVATI, R. Porta-enxertos em anonáceas. *In*: FERREIRA, G.; KAVATI, R.; BOARO, C. S. F.; FERRARI, T. B.; LEONEL, S. (Eds.). **Anonáceas: Propagação e produção de mudas**. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2013. p. 111–123.

KITAJIMA, M.; BUTLER, W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 376, n. 1, p. 105–115, jan. 1975.

KITAMURA, M. C.; RAMOS, J. D.; LEMOS, E. E. P. de. Avaliação de tipos de enxertia e recipientes para produção de mudas de gravioleira (*Annona muricata* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.1, p.24-33, 2004.

KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM Application Notes**, v. 1, p. 27–35, 2008.

KOUSSEVITZKY, S.; SUZUKI, N.; HUNTINGTON, S.; ARMIJO, L.; SHA, W.; CORTES, D.; SHULAEV, V.; MITTLER, R. Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. **Journal of Biological Chemistry**, v.283, n.40, p.34197–34203, 2008.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and Soils**. San Diego: Academic Press, 1995, 495p.

KRAMER, D. M.; JOHNSON, G.; KIIRATS, O.; EDWARDS, G. E. New fluorescence parameters for the determination of q(a) redox state and excitation energy fluxes. **Photosynthesis research**, v. 79, n. 2, p. 209–218, jan. 2004.

LADJAL, M.; EPRON, D.; DUCREY, M. Effects of drought preconditioning on thermotolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings. **Tree physiology**, v. 20, n. 18, p. 1235–1241, dez. 2000.

LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v.89, n.7, p.871-885, 2002.

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

LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 561–579, 1 fev. 2009.

LEE, J. M.; KUBOTA, C.; TSAO, S. J.; BIE, Z.; HOYOS ECHEVARRIA, P.; MORRA, L.; ODA, M. Current status of vegetable grafting: Diffusion grafting techniques, automation. **Scientia Horticulturae**, v.127, n.2, p.93-105, 2010.

LEMOS, E. E. P. Bases anatômicas e aspectos fisiológicos da enxertia em anonáceas. In: FERREIRA, G.; KAVATI, R.; BOARO, C. S. F.; FERRARI, T. B.; LEONEL, S. (Eds.). **Anonáceas: Propagação e produção de mudas**. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2013. p. 45–58.

LEMOS-FILHO, J. P. Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. **Revista Brasileira de Botânica**, v.23, n.1, p.45-50, 2000.

LI, H.; SYVERTSEN, J. P.; STUART, R. J.; MCCOY, C. W.; SCKUMANN, A. W.; CASTLE, W. S. Soil and *Diaprepes abbreviatus* root weevil spatial variability in a poorly drained citrus grove. **Soil Science**. v.169, n.9, p.650–662, 2004.

LIU, F.; COHEN, Y.; FUCHS, M.; PLAUT, Z.; GRAVA, A. The effect of vapor pressure deficit on leaf area and water transport in flower stems of soil-less culture rose. **Agricultural Water Management**, v. 81, n. 1-2, p. 216–224, 10 mar. 2006.

LOBÃO, A. Q.; ARAUJO, DOROTHY, S. D. de.; KURTZ, B. C. Annonaceae das restingas do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v.56, n.87, p.85-96, 2005.

LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 45, n. 1, p. 633–662, 28 jun. 1994.

LUNA, C. M.; PASTORI, G. M.; DRISCOLL, S.; GROTEN, K.; BERNARD, S.; FOYER, C. H. Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 417–423, 2005.

MA, Q.-Q.; WANG, W.; LI, Y.-H.; LI, D.-Q.; ZOU, Q. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine. **Journal of plant physiology**, v. 163, n. 2, p. 165–75, fev. 2006.

MAAS, P. J. M.; KAMER, H.; VAN, M.-; JUNIKKA, L.; MELLO-SILVA, R. De.; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguésia**, v.52, n.80, p.65-98, 2001.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.444, n.2, p.139-158, 2005.

MANES, F.; DONATO, E.; VITALE, M. Physiological response of *Pinus halepensis* needles under ozone and water stress conditions. **Physiologia Plantarum**, v. 113, p. 249–257, 2001.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, K. P; OLIVEIRA, M. A. S.; CUNHA, M. M. da., OLIVEIRA Jr., M. E. de.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ALVES, R. T. **Frutas anonáceas: ata ou pinha, atemóia, cherimóia e graviola: Tecnologia de produção, colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco continentes, 2003. 596p.

MANZONI, S.; VICO, G.; PORPORATO, A.; KATUL, G. Biological constraints on water transport in the soil–plant–atmosphere system. **Advances in Water Resources**, v. 51, n. null, p. 292–304, jan. 2012.

MARRON, N.; DELAY, D.; PETIT, J.-M.; DREYER, E.; KAHLEM, G.; DELMOTTE, F. M.; BRIGNOLAS, F. Physiological traits of two *Populus x euramericana* clones, Luisa

Avanzo and Dorskamp, during a water stress and re-watering cycle. **Tree physiology**, v. 22, n. 12, p. 849–58, ago. 2002.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence--a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659–668, 1 abr. 2000.

MEDRANO, H.; ESCALONA, J. M.; BOTA, J.; GULÍAS, J.; FLEXAS, J. Regulation of photosynthesis of C-3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. **Annals of Botany**, v.89, n.7, p.895-905, 2002.

MELIS, A. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? **Trends in Plant Science**, v. 4, n. 4, p. 130–135, 1 abr. 1999.

MIELKE, M. S.; ALMEIDA, A. A. F.; GOMES, F. P.; AGUILAR, A. G.; MANGABEIRA, P. A. O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. Environ. **Environmental and Experimental Botany**, v.50, n.3, p.221–231, 2003.

MIRALHA, J. M. S. **As Annonaceae da Reserva Florestal Ducke**. 1995. 165f (Tese de Doutorado) - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) / Universidade Federal de Manaus (UFAM), Manaus, 1995.

MIRANDA, M. R. A.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; SOARES, A. A.; BENBADIS, A. K. Caracterização físico química e histológica do desenvolvimento de sapoti. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 04, p. 575-582, 2008.

MISHRA, K. B.; IANNAcone, R.; PETROZZA, A.; MISHRA, A.; ARMENTANO, N.; LA VECCHIA, G.; TRTÍLEK, M.; CELLINI, F.; NEDBAL, L. Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. **Plant science: an international journal of experimental plant biology**, v. 182, n. 1, p. 79–86, jan. 2012.

MITTAL, M.; JUVEAL, V.; SINGH, A. Antidiabetic and crioprotective effect of *Annona squamosa* L. leaves on diabetic wistar albino rat. **Pharmacology, Basel**, v. 2, p. 908-13, 2010.

MITTLER, R.; ZILINSKAS, B. A. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 5, n. 3, p. 397–405, mar. 1994.

MOHD KHALID, M. Z. Hybridizations between selected Annonaceae Species. **Acta Horticulturae**, v.575, n.2, p.367-369, 2002.

MOLLER, I. M. PLANT MITOCHONDRIA AND OXIDATIVE STRESS: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 52, p. 561–591, jun. 2001.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual review of plant biology**, v. 58, p. 459–81, jan. 2007.

MONTEITH, J. L. A reinterpretation of stomatal responses to humidity. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, n. 4, p. 357–364, abr. 1995.

MONTILLET, J.-L.; CACAS, J.-L.; GARNIER, L.; MONTANÉ, M.-H.; DOUKI, T.; BESSOULE, J.-J.; POLKOWSKA-KOWALCZYK, L.; MACIEJEWSKA, U.; AGNEL, J.-P.; VIAL, A.; TRIANTAPHYLIDÈS, C. The upstream oxylipin profile of *Arabidopsis thaliana*: a tool to scan for oxidative stresses. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 40, n. 3, p. 439–51, nov. 2004.

MORIANA, A.; VILLALOBOS, F. J.; FERERES, E. Stomatal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficits. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 3, p. 395–405, mar. 2002.

MORTON, J. F. **Annonaceae. In Fruits for Warm Climates. Creative Resources Systems.** Winterville: USA, 1987, p.65-90.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. D. **Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação**. Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical, 2006. 28p.

MOTT, K. A.; PARKHURST, D. F. Stomatal responses to humidity in air and helox. **Plant, Cell and Environment**, v. 14, n. 5, p. 509–515, jun. 1991.

NILKENS, M.; KRESS, E.; LAMBREV, P.; MILOSLAVINA, Y.; MÜLLER, M.; HOLZWARTH, A. R.; JAHNS, P. Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1797, n. 4, p. 466–475, abr. 2010.

NISHIYAMA, Y.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; MURATA, N. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1757, n. 7, p. 742–749, jul. 2006.

NOBEL, P. S. **Biophysical Plant Physiology and Ecology**. San Francisco: W. H. Freeman, 1983, 608p.

NOCTOR, G.; VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; DRISCOLL, S.; NOVITSKAYA, L.; FOYER, C. H. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? **Annals of botany**, v. 89 Spec No, p. 841–850, jun. 2002.

NOGUEIRA, E. A.; MELLO, N. T. C. de; CASER, V. C.; ALMEIDA, G. V. B. de. **Anonáceas: do Brasil império a Atemóia**. 2007. Disponível em: <<http://www.uraonline.com.br/especial/esp-07/anonaceas.html>> Acesso em: 25 jul. 2009.

NOWAK, M.; KLEINWÄCHTER, M.; MANDERSCHIED, R.; WEIGEL, H.-J.; SELMAR, D. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 83, n. 2, p. 133–136, 5 dez. 2010.

NUÑEZ-ELISEA, R.; SCHAFFER, B.; FISHER, J. B.; COLLS, A. M.; CRANE, J. H. Influence of Flooding on Net CO₂ Assimilation, Growth and Stem Anatomy of *Annona* Species. **Annals of Botany**, v.84, n.6, p.771-780, 1999.

OHNISHI, N.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; TAKAHASHI, S.; HIGASHI, S.; WATANABE, M.; NISHIYAMA, Y.; MURATA, N. Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. **Biochemistry**, v. 44, n. 23, p. 8494–8499, 14 jun. 2005.

OJEDA, M., SCHAFFER, B., DAVIES, F. S. Soil temperature, physiology, and growth of containerized *Annona* species. **Scientia Horticulturae**, v.102, n.2, p.243-255, 2004.

OKOYE, T. C.; AKAH, P. A.; EZIKE, A. C.; OKOYE, M. O.; ONYETO, C. A.; NDUKWU, F.; OHAEBGULAM, E.; IKELE, L. Evaluation of the acute and sub acute toxicity of *Annona senegalensis* root bark extracts. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 5, n. 4, p. 277–282, abr. 2012.

OKUMURA, H. H.; JUNIOR, A. T. C.; COSTA, J. T. A.; CORREA, D. Fertilizantes minerais e orgânicos na formação de mudas enxertadas de graviola. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 04, p. 590-596, 2008.

ORT, D. R.; OXBOROUGH, K.; WISE, R. R. Depressions of photosynthesis in crops with water deficits. In: **Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. BAKER, N. R.; BOWYER, J. R. Bios Scientific Publishers: Oxford, 1994, p.315-329.

ORT, D. R.; BAKER, N. R. A photoprotective role for O(2) as an alternative electron sink in photosynthesis? **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 3, p. 193–198, jun. 2002.

OSMOND, B.; SCHWARTZ, O.; GUNNING, B. Photoinhibitory printing on leaves, visualised by chlorophyll fluorescence imaging and confocal microscopy, is due to diminished fluorescence from grana. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 26, n. 7, p. 717–724, 1999.

OUZOUNIDOU, G. Changes in variable chlorophyll fluorescence as a result of Cu-treatment: dose-response relations in *Silene* and *Thlaspi*. **Photosynthetica**, v. 29, n. 3, p. 455–462, 1993.

PELTZER, D.; DREYER, E.; POLLE, A. Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 141–150, fev. 2002.

PÉREZ-PÉREZ, J. G.; ROBLES, J. M.; TOVAR, J. C.; BOTÍA, P. Response to drought and salt stress of lemon “Fino 49” under field conditions: Water relations, osmotic adjustment and gas exchange. **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 1, p. 83–90, set. 2009.

PIETRINI, F.; CHAUDHURI, D.; THAPLIYAL, A. P.; MASSACCI, A. Analysis of chlorophyll fluorescence transients in mandarin leaves during a photo-oxidative cold shock and recovery. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 106, n. 2-3, p. 189–198, abr. 2005.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 3, p. 869–82, 1 jan. 2011.

PINTO, A. C. Q. Influência de hormônio sobre o poder germinativo de sementes de graviola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., 1975, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1976. p.415-420.

PINTO, A. C. Q.; CORDEIRO, M. C. R.; ANDRADE, S. M. R. de; FERREIRA, F. R.; FILGUEIRAS, H. A. de C.; ALVES, R. E.; KINPARA, D. I. **Annonas Species**. Southampton: ICUC, 2005. 268p.

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

POU, A.; FLEXAS, J.; ALSINA, M. DEL M.; BOTA, J.; CARAMBULA, C.; HERRALDE, F.; GALMÉS, J.; LOVISOLO, C.; JIMÉNEZ, M.; RIBAS-CARBÓ, M.; RUSJAN, D.; SECCHI, F.; TOMÀS, M.; ZSÓFI, Z.; MEDRANO, H. Adjustments of water use efficiency by stomatal regulation during drought and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). **Physiologia plantarum**, v. 134, n. 2, p. 313–23, out. 2008.

PRAKASH, J. S. S.; SRIVASTAVA, A.; STRASSER, R. J.; MOHANTY, P. Senescence-induced alterations in the photosystem II functions of *Cucumis sativus* cotyledons: Probing of senescence driven alterations of photosystem II by chlorophyll a fluorescence induction O-J-I-P transients. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v. 40, n. 3, p. 160–168, 2003.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A.St.-Hil. **Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien**, v.108 B, p.191-205, 2007.

REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 11, p. 1189–1202, nov. 2004.

RIBEIRO, R. C. F.; SOUZA, T. H. R.; XAVIER, A. A.; MIZOBUTSI, E. H.; PEREIRA, F. R.; BARROS, R. F. X. Reação de diferentes anonáceas a *Meloidogyne javanica*. **Unimontes Científica**, v.6, n.2, p.123-127, 2004.

ROMERO, P.; BOTÍA, P. Daily and seasonal patterns of leaf water relations and gas exchange of regulated deficit-irrigated almond trees under semiarid conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.56, n.2, p.158–173, 2006.

SANDA, S.; YOSHIDA, K.; KUWANO, M.; KAWAMURA, T.; MUNEKAGE, Y. N.; AKASHI, K.; YOKOTA, A. Responses of the photosynthetic electron transport system to excess light energy caused by water deficit in wild watermelon. **Physiologia plantarum**, v. 142, n. 3, p. 247–264, jul. 2011.

SANTOS, M. G.; RIBEIRO, R. V.; OLIVEIRA, R. F. de; MACHADO, E. C.; PIMENTEL, C. The role of inorganic phosphate on photosynthesis recovery of common bean after a mild water deficit. **Plant Science**, v.170, n.3, p.659–664, 2006.

SÃO JOSÉ, A. R. Aspectos gerais das anonáceas no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.). **Anonáceas: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1997.

SÃO JOSÉ, A. R. **Cultivo e mercado da graviola**. Fortaleza: Frutal, 2003, 36 p.

SCALOPPI JUNIOR, E. J. **Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares**. 2007. 92f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. A estaquia em espécies de Annonaceae potenciais como porta-enxertos. In: FERREIRA, G.; KAVATI, R.; BOARO, C. S. F.; FERRARI, T. B.; LEONEL, S. (Eds.). **Anonáceas: Propagação e produção de mudas**. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2013. p. 59–73.

SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research**, v. 10, p. 51–62, 1986.

SCHROEDER, J. I.; ALLEN, G. J.; HUGOUVIEUX, V.; KWAK, J. M.; WANER, D. Guard cell signal transduction. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 52, p. 627–658, 28 jun. 2001.

SCUC. *Annona*(*Annona cherimola*, *Annona muricata*, *Annona reticulata*, *Annona senegalensis* and *Annona squamosa*), **Field manual for extension workers and farmers**. Southampton: University of Southampton, 2006. 46p.

SELMAR, D. Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. **Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research**, v. 58, p. 139–144, 2008.

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. null, p. 558–566, mar. 2013.

SILVA, J. M. DA; ARRABACA, M. C. Photosynthesis in the water-stressed C4 grass *Setaria sphacelata* is mainly limited by stomata with both rapidly and slowly imposed water deficits. **Physiologia Plantarum**, v. 121, n. 3, p. 409–420, jul. 2004.

SINCLAIR, T. R.; TANNER, C. B.; BENNETT, J. M. Water-Use Efficiency in Crop Production. **BioScience**, v.34, n.1, p.36-40, 1984.

SINCLAIR, T. R.; LUDLOW, M. M. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of water potential. **Australian Journal of Plant Physiology**, n.3, v.12, p.213-217, 1985.

SINCLAIR, T. R.; ZWIENIECKI, M. A.; HOLBROOK, N. M. Low leaf hydraulic conductance associated with drought tolerance in soybean. **Physiologia Plantarum**, v.132, n.3, p.446-451, 2008.

SLAMA, I.; GHNAYA, T.; MESSEDI, D.; HSSINI, K.; LABIDI, N.; SAVOURE, A.; ABDELLY, C. Effect of sodium chloride on the response of the halophyte species *Sesuvium portulacastrum* grown in mannitol-induced water stress. **Journal of Plant Research**, v.120, n.2, p.291–299, 2007.

SLAVIK, B. **Methods of Studying Plant Water Relations**. Prague: Academia, 1974, 449p.

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

SOBRINHO, R. B. Potencial de exploração de anonáceas no nordeste do Brasil. IN: **17ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria**. Fortaleza: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Agroindústria Tropical. 27 p., 2010.

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, n. 2, p. 293–302, fev. 2004.

SOUZA, R. P.; MACHADO, E. C.; SILVA, J. A. B.; LAGÔA, A. M. M. A.; SILVEIRA, J. A. G. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, n. 1, p. 45–56, fev. 2004.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII**. 2ª Ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 640p.

STEINBRECHER, R.; MAGEL, E.; MAYRHOFER, S.; MÜLLER, A.; ZIMMER, I.; HAMPP, R.; SCHNITZLER, J. -P. Photosynthesis and substrate supply for isoprene biosynthesis in poplar leaves. **Atmospheric Environment**, v. 40, p. 138–151, 2006.

STEUDLE, E. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 52, p. 847-875, jun. 2001.

SZABÓ, I.; BERGANTINO, E.; GIACOMETTI, G. M. Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. **EMBO reports**, v. 6, n. 7, p. 629–34, jul. 2005.

USDA, A. R. S. National Genetic Resources Program. **Germplasm Resources Information Network - (GRIN)** [Online Datbase]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?455970>>. Acesso em: 18 dez. 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 719.

TARDIEU, F.; SIMONNEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. Special, p. 419–432, 1 mar. 1998.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, n. 1, p. 65–72, abr. 2000.

TEZARA, W.; MITCHELL, V. J.; DRISCOLL, S. D.; LAWLOR, D. W. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. **Nature**, v.401, n.10, p.914-917, 1999.

THAMEUR, A.; LACHIHEB, B.; FERCHICHI, A. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. **Journal of environmental management**, v. 113, n. null, p. 495–500, 30 dez. 2012.

TIAN, X.; LEI, Y. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. **Biologia Plantarum**, v.50, n.4, p.775–778, 2006.

TOGNETTI, R.; DIANDRIA, R.; MORELLI, G.; CALANDRELLI, D.; FRAGNITO, F. Irrigation effects on daily and seasonal variations of trunk sap flow and leaf water relations in olive trees. **Plant Soil**, v.263, n.1, p.249–264, 2004.

TOKUNAGA, T. **A cultura da atemóia**. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 2000. 80 p.

TOKUNAGA, T. **A cultura da atemóia.2**. Ed. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 2005. 80p.

TYREE, M. T. Water relations and hydraulic architecture. In: PUGNAIRE, F. I.; VALLADARES, F. (Eds.) **Handbook of functional plant ecology**, New York: Marcel Dekker Inc., 1999, 901p.

TYYSTJÄRVI, E. Photoinhibition of Photosystem II. **International review of cell and molecular biology**, v. 300, n. null, p. 243–303, jan. 2013.

VARONE, L.; RIBAS-CARBO, M.; CARDONA, C.; GALLÉ, A.; MEDRANO, H.; GRATANI, L.; FLEXAS, J. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 75, n. null, p. 235–247, jan. 2012.

YAMADA, F.; FUKAMACHI, H.; HIDAKA, T. Photosynthesis in longan and mango as influenced by high temperatures under high irradiance. **Journal of Japan Society Horticulture Science**, v.64, n.14, p.749-756, 1996.

YAN, K.; CHEN, W.; HE, X.; ZHANG, G.; XU, S.; WANG, L. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O₃. **Environmental and Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 198–204, nov. 2010.

YIN, C.; PENG, Y.; ZANG, R.; ZHU, Y.; LI, C. Adaptive responses of *Populus kangdingensis* to drought stress. **Physiologia Plantarum**, v. 123, n. 4, p. 445–451, abr. 2005.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. **Photosynthetica**, v.38, n.2, p.171-186, 2000.

WAN, J.; GRIFFITHS, R.; YING, J.; MCCOURT, P.; HUANG, Y. Development of Drought-Tolerant Canola (*L.*) through Genetic Modulation of ABA-mediated Stomatal Responses. **Crop Science**, v. 49, n. 5, p. 1539–1554, 2009.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant: The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v.49, n.1, p.81-97, 1949.

WILHELM, C.; SELMAR, D. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. **Journal of plant physiology**, v. 168, n. 2, p. 79–87, 15 jan. 2011.

WILKINSON, S.; DAVIES, W. J. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 195-210, fev. 2002.

WILKINSON, S. Water use efficiency and chemical signalling. *In: Water use efficiency in plant biology*, Oxford (UK): Blackwell Publishing, 2004. p. 75–112.

WINGLER, A.; LEA, P. J.; QUICK, W. P.; LEEGOOD, R. C. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 355, n. 1402, p. 1517–1529, 29 out. 2000.

WU, X.; BAO, W. Leaf growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in response to different water deficits in wheat cultivars. **Plant Production Science**, v. 14, n. 3, p. 254–259, 2011.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 13, p. 3737–49, jan. 2009.

ZHOU, Y.; LAM, H. M.; ZHANG, J. Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice. **Journal of experimental botany**, v. 58, n. 5, p. 1207–1217, jan. 2007.

ZLATEV, Z. S.; YORDANOV, I. T. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v. 30, n. 3-4, p. 3–18, 2004.