



JACQUELINE OLIVEIRA DOS SANTOS

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE CLONES DE
SERINGUEIRA (*Hevea* spp.) EM FUNÇÃO DA
DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.**

LAVRAS – MG

2019

JACQUELINE OLIVEIRA DOS SANTOS

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE CLONES DE
SERINGUEIRA (*Hevea* spp.) EM FUNÇÃO DA
DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Prof. Dr. Luiz Edson Mota de Oliveira

LAVRAS – MG

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Santos, Jacqueline Oliveira dos.

Características fisiológicas de clones de seringueira (*Hevea*
spp.) em função da disponibilidade de água no solo, / Jacqueline
Oliveira dos Santos. - 2018.

97 p.: il.

Orientador(a): Luiz Edson Mota de Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.
Bibliografia.

1. Enzimas sacarolíticas. 2. Osmorreguladores. 3. Sistema
antioxidante. I. Oliveira, Luiz Edson Mota de. II. Título.

JACQUELINE OLIVEIRA DOS SANTOS

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE CLONES DE
SERINGUEIRA (*Hevea* spp.) EM FUNÇÃO DA
DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 25 de julho de 2018

Dr. Luiz Edson Mota de Oliveira - UFLA

Dr. Paulo Araquém Ramos Cairo - UESB

Dr. Nelson Delú Filho - UNIS

Dra. Meline de Oliveira Santos - EPAMIG

Dra. Letícia dos Anjos Silva - UFLA

Prof. Dr. Luiz Edson

Mota de Oliveira

Orientador

LAVRAS – MG

2019

*À minha mãe Alaide pelo carinho e apoio incondicional em todas as etapas da minha vida.
Ao meu pai Sebastião pelo exemplo de bondade e caráter.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade.

Aos meus pais pela compreensão e amor.

Ao professor Luiz Edson pela amizade, orientação e paciência.

Aos colegas de laboratório: Márcio, Thaiara, Victor, Caique, Givanildo, Nancy que ajudaram no desenvolvimento desse trabalho.

A todos os colegas de setor, pois muitos se tornaram amigos especiais.

À funcionária Salete que me ajudou bastante em todas as minhas solicitações.

Ao Joel e Odorêncio pelo cuidado e ajuda na implantação do experimento.

À minha eterna família francesa Madame Françoise e Monsieur Fernando *Pour l'amour, l'affection et l'amitié.*

Aos meus amigos de Montpellier: Clarisse, Mathieu, Adrien e Gosha.

Pela oportunidade de doutorado sanduíche agradeço ao Dr. Benoit Lacombe (SupAgro/Fraxe) pela supervisão.

As amigas do doutorado-sanduíche: Ana, Bárbara, Camila.

Aos amigos de Lavras que fizeram meus dias mais felizes: Barnabé, Andressa, Mutley, Rafaela, Iasminy, Larissa, Flávia, Katrina, Paloma, Iara, Kauane, Angelica, Fernanda.

Ao meu primo e amigo Bruno.

Aos governos de LULA E DILMA por investir em educação!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar alterações metabólicas relacionadas com a assimilação do carbono, sistemas antioxidantes e produção de osmólitos em plantas jovens de quatro clones de seringueira (GT1, IAC40, PR255 E RRIM600) submetidas ao déficit hídrico progressivo (32 DASH). Após esse período de suspensão hídrica, foi feita a reidratação do solo por 15 dias (15 DARI). As avaliações foram feitas aos 32 DASH e 15 DARI para trocas gasosas e análises bioquímicas. O potencial hídrico foi avaliado aos 0, 16 e 32 dias após a imposição do déficit hídrico e aos 15 dias após irrigação. Avaliou-se teor relativo de água (TRA), potencial hídrico (Ψ_w), trocas gasosas, fluorescência da clorofila, os metabolismos do carbono e antioxidantes assim como prolina e glicina betaína. A diminuição do Ψ_w levou a quedas em A , g_s , e E , quanto ao carbono interno (C_i) somente plantas PR255 não distinguiram do controle, demais clones reduziram seus teores de carbono interno sob déficit hídrico. Porém, foi observada uma recuperação desses valores, para todos os clones após 15 DARI. As relações A/C_i e da EUA foram afetadas pela supressão hídrica, de forma geral com aumento da eficiência do uso da água nos clones e redução de A/C_i . O processo fotoquímico foi alterado sob déficit hídrico. Aos 32 DASH, foi observado um menor acúmulo de massa seca foliar para todos os clones em 15 DARI, as plantas também apresentaram um menor acúmulo comparado com plantas irrigadas. Observou-se um aumento no teor de AST e AR e aminoácidos para todos os clones em 32 DASH. Em relação a proteínas solúveis totais, amido, e as enzimas IAPC, INC, SUSY e SPS com exceção do clone GT1 (SPS), ocorreu uma redução em todos os clones aos 32 DASH. Quanto a IAV, no período de suspensão da irrigação, os clones GT1 e RRIM600 foram os únicos que tiveram aumentadas a atividade da IAV em comparação ao controle. O déficit hídrico estimulou o sistema antioxidante enzimático, as enzimas; SOD, CAT e APX de uma maneira geral tiveram suas atividades aumentadas com o retorno dos valores em 15 DARI. Neste estudo, foi observada uma elevação nos teores de H_2O_2 sob déficit hídrico, em que após o restabelecimento da irrigação, os clones RRIM600, IAC40 e PR255 continuaram com maiores teores comparados ao controle. Os teores de peroxidação lipídica (MDA), atingiram maiores teores devido à baixa disponibilidade hídrica. A deficiência hídrica promoveu um acúmulo nos teores de PRO e GB e como nas demais características, após a reidratação do substrato esses teores forma similares aos seus respectivos controles. Os clone GT1, IAC40 e RRIM600 demonstraram superioridade ao clone PR255 em termos de estabilidade e eficiência na utilização de energia e atividade antioxidante e acúmulo de osmólitos orgânicos em condições de baixa disponibilidade de água. Sugere-se que os clones GT1, IAC 40 e RRIM 600 sejam mais tolerantes ao estresse hídrico e mais adequados para áreas não tradicionais de cultivos de seringueira que apresentem veranicos ou distribuição irregular de chuvas.

Palavras-chaves: Enzimas sacarolíticas. Osmorreguladores. Trocas gasosas.

ABSTRACT

The objective of the present study was to verify metabolic changes related to carbon assimilation, antioxidant systems and osmolyte production in young plants of four rubber tree clones (GT1, IAC40, PR255 and RRIM600) submitted to progressive soil water deficit 32 days of water suspension (32 DIS). After this period of water suspension, the soil was rehydrated for 15 days (15 DRS). Evaluations were made at 32 DIS and 15 DRS for gas exchange and biochemical analyzes. The water potential was evaluated at 0, 16 and 32 days after the imposition of the water deficit and at 15 days after irrigation. Relative water content (RWC), water potential (Ψ_w), gas exchange, chlorophyll fluorescence, carbon metabolism and antioxidants as well as proline and glycine betaine were evaluated. The decrease of Ψ_w led to decreases in A, gs, and E. In relation to the internal carbon (C_i) only PR255 plants did not distinguish from the control, other clones reduced their internal carbon contents under water deficit. However, a recovery of these values was observed for all clones after 15 DRS. The A / C_i and US ratios were affected by water suppression, generally with increased water use efficiency in clones and A / C_i reduction. The photochemical process was altered under water deficit. At 32 DIS, a lower accumulation of dry leaf mass was observed for all the clones. An increase in the content of AST and AR and amino acids was observed for all clones in 32 DIS. In relation to total proteins, starch IAPC, INC and SUSY, a decrease occurred in all the clones at 32 DIS and after the restoration of the irrigation, no differences were observed compared to irrigated plants with the exception of the GT1 clone that did not differ in the activity of the SPS enzyme. The water deficit stimulated the enzymatic antioxidant system, the enzymes; SOD, CAT and APX in general had their activities increased with the return of values in 15 DRS in which the activity of the antioxidant enzymes remained similar to the control. In this study, an increase was observed in H_2O_2 contents under water deficit, in which, after restoration of irrigation, RRIM600, IAC40 and PR255 clones continued with higher levels compared to control. The levels of lipid peroxidation (MDA), reached higher levels due to the low water availability. The water deficiency promoted an accumulation in the contents of PRO and GB and as in the other characteristics, after the rehydration of the substrate these contents were similar to their respective controls. Clones GT1, IAC40 and RRIM600 showed superiority to clone PR255 in terms of stability and efficiency in the use of energy and antioxidant activity and accumulation of organic osmolytes under conditions of low availability of water. It is suggested that the clones GT1, IAC 40 and RRIM 600 are more tolerant to water stress and more suitable for non-traditional areas of rubber tree plantations that present summer or irregular distribution of rainfall.

Keywords: Saccharolytic enzymes. Osmoregulators. Gas exchange.

Sumário

CAPÍTULO I.....	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 A cultura da seringueira e a produção de borracha natural.....	14
2.2 Deficiência hídrica e efeitos fisiológicos em plantas	15
2.3 Fatores que influenciam o estresse hídrico.	16
2.4 Respostas fotossintéticas, estomáticas e antioxidantes.....	21
2.5 Estresse hídrico induz a acumulação de Espécies reativas de oxigênio.....	25
2.6 Descrição dos clones utilizados.....	28
2.7 Clone RRIM 600	29
2.8 Clone GT1	30
2.9 Clone PR 255.....	31
2.10 Clone IAC 40.....	31
3 REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO II- COMPORTAMENTO FOTOSSINTÉTICO DE CLONES DE SERINGUEIRA (Hevea spp) EM FUNÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.....	42
1 INTRODUÇÃO	44
2 MATERIAL E MÉTODOS	46
2.1 Clones estudados e condições experimentais	46
2.2 Preparo do substrato e transplântio das mudas	46
2.3 Delineamento experimental	47
2.4 Curva de retenção de água do solo	48
2.5 Trocas Gasosas	49
2.6 Potencial hídrico e teor relativo de água	49
2.7 Fluorescência da clorofila	50
2.8 Clorofilas e Carotenóides.....	50
2.9 Análise de dados	50
3 RESULTADOS	51
3.1 Temperatura e DPV durante o período experimental	51
3.2 Estado hídrico das plantas.....	52
3.3 Trocas gasosas.....	54
3.4 Fluorescência da clorofila	57
3.5 Clorofila e Carotenoides	58
4 DISCUSSÃO	60
5 CONCLUSÃO	65
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
CAPÍTULO III- METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E SISTEMAS ANTIOXIDANTES EM CLONES DE SERINGUEIRA (Hevea spp.) EM FUNÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.....	71
1 INTRODUÇÃO	73
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	76
2.1 Aquisição dos clones e condições experimentais.....	76

2.2	Preparo do substrato e transplante das mudas	76
2.3	Delineamento experimental e Análise dos dados.....	77
2.4	Massa seca do limbo foliar.....	78
2.5	Carboidratos solúveis, amido, proteínas solúveis e aminoácidos.....	78
2.6	Atividade das isoformas de invertase	78
2.7	Enzimas do metabolismo antioxidante, Teor de prolina e Glicina betaína e conteúdo de H ₂ O ₂	79
2.8	Peroxidação lipídica	81
3	RESULTADOS	82
3.1	Massa seca das Folhas	82
3.2	Teores de Açúcares redutores (AR), açúcares solúveis totais (AST), aminoácidos (Aas), Proteínas solúveis (PTNs) e Amido em folhas.	82
3.3	Enzimas sacarolíticas	84
3.4	Metabolismo antioxidante, teor de peróxido de Hidrogênio e peroxidação lipídica	85
3.5	Prolina e glicina betaína.....	86
4	DISCUSSÃO	88
5	CONCLUSÃO	92
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
7	93

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A seringueira (*Hevea brasiliensis* [(Willd. ex. ADR. Jussieu.) Muell. Arg.]) é uma arbórea de grande importância comercial e social. Essa espécie produz látex de qualidade utilizado na produção de matéria-prima para a produção de inúmeras indústrias, a exemplo da fabricação de pneumáticos (SILVEIRA, 2004). Além da importância comercial dos seus produtos, essa espécie gera ganhos ambientais e sociais, sendo fonte de emprego e renda (CORNISH; CASTILLÓN; SCOTT, 2000).

A seringueira é originária da Bacia Amazônica, região caracterizada por um clima equatorial úmido. As condições ideais de crescimento da grande maioria das espécies de *Hevea* são altas temperaturas, em torno de 28 ± 2 °C, e precipitação entre 2000 e 4000 mm de precipitação por ano (PRIYADARSHAN et al., 2005). No entanto, ao contrário das plantações tradicionais de cultivo da América do Sul e do Sudeste Asiático, no Brasil, o plantio de seringueira estende-se a áreas sub-ótimas ou regiões de produção de borracha não tradicionais, como os estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia e Mato Grosso (IBGE, 2018), que geralmente enfrentam algum tipo de estresse abiótico, como a seca, ventos fortes e baixa temperatura.

O estresse por seca resulta em retardo de crescimento de plantas jovens e árvores em exploração, que encurta o período de sangria e bloqueia o fluxo de látex, diminuindo a produção de borracha, além de aumentar a ocorrência de TPD (secagem do painel), que, em condições severas, provoca a morte da árvore (ZONGDAO e YANQING, 1992).

A restrição de água no solo causa mudanças metabólicas no vegetal, diminuindo a sua produtividade. Embora o crescimento e a produção de látex sejam dois fenômenos fisiologicamente distintos em seringueira (SANJEEVA RAO; SARASWATHYAMMA; SETHURAJ, 1998), estes estão intimamente relacionados com a disponibilidade de água e a demanda evaporativa. A relação entre a planta e o seu estado hídrico, apesar de bem fundamentada e conhecida para a produção de látex, tem sido tema de estudos recorrentes, com o propósito de esclarecer melhor o impacto da restrição de água para a planta e o incremento da circunferência do caule e qualidade do látex (CHANDRASHEKAR et al., 1990).

A redução da água disponível no solo gera desbalanço entre a transpiração, movida pela demanda evaporativa, e a captação de água pela raiz, impactando negativamente no crescimento e desenvolvimento das plantas (SINCLAIR e LUDLOW, 1986). Os efeitos da

seca do solo são potencializados pela forte evaporação causada pelo ar seco, que, em tempo prolongado, leva à supressão do fluxo de água, reduzindo a abertura estomática e, por sua vez, fixação de dióxido de carbono. Nessas condições, a planta pode entrar em colapso metabólico, por falha hidráulica e/ou deficiência de carbono durante o estresse (ZEPPEL et al., 2012).

A inibição da fotossíntese e a dissipação de energia são eventos comuns no metabolismo vegetal sob estresse hídrico. Em muitas espécies de vegetais, ocorre instabilidade no transporte de elétrons, levando a mudanças conformacionais no fotossistema II (ZIVCAK et al., 2014). A plasticidade fenotípica anti-seca é associada, principalmente, à baixa transpiração e ao eficiente ajuste osmótico. O ajuste osmótico se caracteriza pelo acúmulo de solutos compatíveis (osmolitos orgânicos de baixo peso molecular), como prolina, manitol, sorbitol, frutanos, sacarose e oligossacarídeos entre outros (RHODES e HANSON, 2003). Essa grande variedade de compostos desempenha papel chave na manutenção do equilíbrio osmótico e na proteção das membranas e macromoléculas (HOEKSTRA; GOLOVINA; BUITINK, 2001).

Em condições de seca, ocorre ajuste fino do metabolismo vegetal, no qual as plantas ativam várias vias metabólicas, baseadas na percepção, tradução de sinal e síntese de proteínas responsivas ao estresse (HUANG et al., 2012), assim como a super-expressão de genes relacionados à maior tolerância à seca (ZHOU et al., 2017).

Estabelecido o estresse, ocorre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO's) principalmente nos cloroplastos e na mitocôndria (APEL; HIRT, 2004). Em contrapartida, o sistema antioxidante desempenha uma importante função na detoxificação dessas espécies, aumentando a síntese de enzimas que as neutralizam, incluindo a superóxido dismutase (SOD), peroxidases (POD), peroxidase do ascorbato (APX), redutase do monodehidroascorbato (MDAR) e catalase (CAT) (MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2016).

Para seringueiras cultivadas em campo, a chuva é a principal fonte de umidade. Plantas jovens, no período de crescimento inicial de 2 a 3 anos, submetidas a longos períodos de estiagem, devem receber uma irrigação “salva-vidas”, para que não comprometa seu desenvolvimento produtivo posterior (RAO; SARASWATHYAMMA; SETHURAJ, 2002). Porém a implantação de um sistema de irrigação em larga escala nos seringais no período inicial da cultura gera custos altos para o pequeno produtor. Assim, a avaliação dos efeitos do período seco contínuo, não somente com vistas à produção econômica, mas procurando esclarecer como e em quais proporções os marcadores fisiológicos podem contribuir para a sobrevivência durante tais períodos, são fundamentais

ao cultivo de clones de seringueira (LUKE et al., 2015).

A necessidade de novos genótipos de seringueira que aliem alto rendimento de látex com certa tolerância a elementos agroclimáticos tais como temperatura, veranicos, salinidade, constitui um fator estratégico para o alavanque da heveicultura no Brasil. Genótipos tidos como produtivos em algumas regiões podem comportar-se diferentemente em outras áreas, principalmente aquelas sujeitas a diferentes características edafoclimáticas (PRIYADARSHAN et al., 2005) . Neste contexto, os clones GT1, IAC40, PR255 e RRIM 600 apesar de serem considerados clones elites com alta produtividade látex e cultivados em grande escala nos estados produtores como São Paulo e sul de Minas Gerais, não há um estudo comparativo entre, que avaliem o efeito do déficit hídrico na fase de estabelecimento da cultura. Portanto estudos que avaliem o desenvolvimento inicial de clones nas condições climáticas do sul de Minas Gerais que simulem uma situação de veranicos ou sistemas não irrigados são de grande importância para seleção dos mesmos para o cultivo nessas áreas.

O conhecimento acerca de respostas fisiológicas de plantas a restrições hídricas no solo é de extrema importância para a seleção de clones para o cultivo em regiões sujeitas a períodos prolongados de seca. Tendo em vista que as respostas das plantas à deficiência hídrica podem variar de acordo com a espécie, severidade e duração do estresse (HONG-BO; LI-YE; MING-AN, 2008), o presente estudo teve como objetivo verificar os efeitos da baixa disponibilidade de água sobre características biofísicas, bioquímicas e metabólicas relacionadas com a fotossíntese, sistemas antioxidantes enzimáticos e produção de biomoléculas osmorreguladoras.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da seringueira e a produção de borracha natural

A seringueira pertence ao gênero *Hevea*, e é uma das mais importantes espécies da família *Euphorbiaceae*, com ocorrência abrangendo a Amazônia brasileira, Bolívia, Colômbia, Peru, Venezuela, Equador, Suriname e Guiana. Há cerca de onze espécies, sendo elas: *H. brasiliensis*; *H. guianensis*; *H. benthamiana*; *H. nitida*; *H. rigidifolia*; *H. camporum*; *H. sipruceana*; *H. microphylla*; *H. camargoana*; *H. paludosa*; *H. pauciflora*. A *Hevea* spp. destaca-se por apresentar boa capacidade produtiva e alta qualidade de látex, sendo, portanto, a única espécie cultivada e explorada comercialmente (SECCO et al., 2012).

A *H. brasiliensis* tem seu cultivo distribuído em uma vasta área geográfica, alcançando as latitudes de 3°N e 15°S ou 24°N e 25°S, o que justifica a sua adaptação às diversas condições climáticas (PRIYADARSHAN, 2017). No Brasil, a seringueira tem como principais zonas de cultivo as áreas nomeadas como de “escape do mal-das-folhas”, localizadas nos estados de São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia e noroeste do Paraná (CAMARGO; MARIN; CAMARGO, 2003). O estado de Minas Gerais destaca-se por apresentar uma grande área climaticamente favorável ao desenvolvimento da cultura, sendo o Triângulo Mineiro, a Zona da Mata e o Sul de Minas Gerais responsáveis por 20% da produção brasileira (CAMARGO; MARIN; CAMARGO, 2003).

A produção de borracha natural viabiliza inúmeras utilizações e seu uso extrapola mais de 50 mil produtos. Graças às suas propriedades, como elasticidade, flexibilidade, isolante elétrico, impermeabilidade e fácil adesão a tecidos e ao aço, a borracha natural é uma excelente matéria-prima para vários setores industriais, como pneumáticos, farmacêuticos, brinquedos, revestimentos e forrações, dentre outros (BEGA, 2004). Ainda que a borracha sintética apresente alta similaridade química à borracha natural, suas propriedades físicas são consideradas inferiores para a fabricação de muitos produtos. Essa característica reforça a importância da borracha natural no mundo, limitando o grau de sua substituição pela borracha sintética (SANTOS; MOTHÉ, 2007). O cultivo de seringueira, além da sua destinação para produtos derivados da borracha natural, possibilita renda alternativa em relação a outros produtos, a exemplo do uso das suas sementes para a obtenção de óleo e da torta para a alimentação animal (LORENZI, 1998).

Nas décadas de 20 a 60, durante o século XX, o Brasil detinha o monopólio da

produção mundial de borracha natural, alavancado pela segunda guerra mundial, no contexto da era Vargas, quando a produção era escoada em sua totalidade para suprir a demanda das indústrias norte-americanas. Porém, devido ao sistema de produção extrativista, à ausência de políticas governamentais de incentivo a extração de borracha na região Amazônica, à incidência do fungo *Microcyclus ulei* nessa região, e ao fato de os plantios novos entrarem em produção somente a partir do sexto ano, esses fatores acabaram prejudicando a expansão da cultura no País (BEGA, 2004).

Centro de origem da espécie, o Brasil representa, na atualidade, pouco mais de 1% da produção mundial, e passou de exportador a importador de borracha natural, em especial de países asiáticos, como Tailândia e Indonésia, que adotaram uma produção em massa, em oposição ao sistema de produção praticado no Brasil.

Com a expansão da heveicultura, paralelamente, cresce também a geração de empregos no país. Atualmente, a commodity da borracha natural é responsável por 80 mil empregos diretos, a exemplo do setor pneumático, onde são gerados, aproximadamente, 20 mil empregos diretos e 100 mil empregos indiretos. Por ser uma cultura em que a coleta de látex necessita de mão-de-obra intensiva, a heveicultura promove a permanência do homem no campo, assim como favorece o aumento de renda do produtor (IAC, 2018).

2.2 Deficiência hídrica e efeitos fisiológicos em plantas

Evento normal da variabilidade climática, a seca apresenta flutuações em diferentes regiões do planeta (DAI, 2011). Desde a década de 1970, a seca tem afetado a produção de maneira prejudicial em nas áreas agricultáveis no planeta. No entanto, esse fenômeno aumentou, tanto em escalas regionais quanto globais. A área impactada pela seca teve um acréscimo acentuado, o qual tem sido atribuído, em parte, ao aquecimento global (KALLIS, 2008).

Considerado como um dos estresses mais destrutivos, o estresse causado pela seca afeta grande áreas agrícolas e coloca em risco a segurança alimentar e o agronegócio em todo o mundo (FLOOD; HARBINSON; AARTS, 2011; KASIM et al., 2013). Períodos de chuvas insuficientes e o prolongamento de veranicos provocam diminuição progressiva da disponibilidade de água nos solos e nas plantas, comprometendo o seu crescimento e desenvolvimento, podendo culminar em morte prematura (BATISTA et al., 2010).

O estresse hídrico em plantas consiste na perda de água que conduz ao fechamento de estômatos e limitação das trocas gasosas. Caracteriza-se pela redução do conteúdo de

água, da turgidez e do potencial hídrico total, acarretando murcha, e diminuição no alongamento e crescimento celular e em casos severos a inibição metabólica de processos vitais (DE OLIVEIRA; MENDES ALENCAR; GOMES-FILHO, 2013). As plantas, quando submetidas a diferentes estresses abióticos e bióticos, desenvolvem adaptações para lidar com tais estresses, por meio de mudanças bioquímicas e fisiológicas, sintetizando moléculas adaptativas dentro de estruturas organizadas. Em consequência, inicia-se uma série de traduções de sinais originados pelo estresse, que envolvem diferentes tipos de genes (ZIAF et al., 2011).

As plantas desenvolvem mecanismos que lhes permitem perceber o início do estresse hídrico e, rapidamente, regulam sua fisiologia e metabolismo, diminuindo a perda de água por meio de fechamento parcial dos estômatos, crescimento foliar reduzido, diminuição da perda de turgescência foliar ou evitando danos irreversíveis relacionados com o sistema de membranas (DE OLIVEIRA; MENDES ALENCAR; GOMES-FILHO, 2013). A percepção do estresse envolvendo a maquinaria molecular, sinalização e regulação da expressão de genes envolvidos é muito bem estabelecida. Não obstante, existem lacunas na compreensão de como esses aspectos se correlacionam com as alterações fenotípicas na planta e como eles se correlacionam com os parâmetros de produção/rendimento da cultura (LATA; MUTHAMILARASAN; PRASAD, 2015).

2.3 Fatores que influenciam o estresse hídrico.

O estresse hídrico engloba fontes atenuantes ao balanço hídrico, tais como demanda evaporativa da atmosfera, estado hídrico do solo, densidade de plantio, sistema de cultivo e processos fisiológicos (ABRAMS, 1991). Processos fisiológicos como crescimento celular e fotossíntese, além da produtividade, são fortemente influenciados pelo potencial hídrico e seus componentes (CHAVES; MAROCO; PEREIRA, 2016).

As plantas transportam uma enorme quantidade de água em seus vasos condutores, valores entre 200 a 1000 vezes sua massa seca ao longo do seu ciclo de vida. A exemplo, no processo de fixação de dióxido de carbono, as folhas se mantêm expostas para atmosfera para que quantidades adequadas de dióxido de carbono sejam absorvidas e, esse fato, resulta inevitavelmente na perda de vapor de água pela folha (TARDIEU, 2013).

A diminuição de água no solo afeta a absorção e o transporte de água nas plantas, causando reações específicas em resposta a prejuízos potenciais, promovendo uma cascata de sinalização para a síntese de estruturas adaptativas. O crescimento da folha define o

tamanho da copa de uma planta para captura de energia solar para realizar fotossíntese e ganho de carbono e energia. Já o crescimento radicular, define a extensão de exploração do solo para absorção de água e minerais (TYREE et al., 2002). As respostas de crescimento entre folhas e raízes são contrastantes em situação de baixo potencial hídrico (Ψ_w) no solo. As raízes, em muitos casos, mostram-se mais eficientes no ajustamento osmótico, em relação às folhas, o que proporciona maior turgescência. Esse mecanismo é necessário para expansão celular e conseqüentemente, o crescimento das raízes, as quais mantêm o crescimento mínimo até próximo ao ponto de murcha permanente (FRENSCH, 1997). Já as folhas, ajustam-se osmoticamente mais lentamente, e sua capacidade de afrouxamento de parede celular é reduzida, reflexo do seu menor crescimento (HSIAO; XU, 2000). No entanto, a baixa disponibilidade hídrica compromete o crescimento destes órgãos, devido ao impacto do estresse na síntese de assimilados e à falta de água e minerais absorvidos pela raiz (WILSON, 2017).

Em uma cultura em fase de produção, a seca é um dos estresses mais importantes, pois afeta quase todas as funções da planta (SHANGGUAN; SHAO; DYCKMANS, 2000). O potencial hídrico (Ψ_w) é denominado como a energia livre associada às moléculas de água para realizar trabalho. Na interação solo-planta-atmosfera o fluxo hidráulico é caracterizado pelo Ψ_w , que é reduzido quando há diminuição do conteúdo de água na solução do solo (SALVADOR, 2013).

Medições do potencial hídrico foliar podem, também, fornecer informações que permitam identificar o estado hídrico em que se encontram as plantas. Para a maioria das espécies, o potencial hídrico foliar acompanha as variações diurnas da demanda evaporativa da atmosfera, atingindo um valor máximo logo antes do nascer do sol. Nesse momento, as plantas se encontram-se com a máxima turgescência possível para uma dada condição hídrica no solo (BAVEL, 2003). Dessa forma, o potencial hídrico antemanhã tem sido considerado um indicativo do estado hídrico das plantas, bem como da quantidade de água disponível no solo. O efeito da deficiência hídrica sobre as plantas é complexo, não havendo um mecanismo universal de resistência à seca, pois as plantas respondem através de vários processos adaptativos à escassez de água como, por exemplo, através da capacidade de reduzir o potencial hídrico (BAVEL, 2003).

Em seringueira, a anatomia do floema e a cinética de fluxo do látex são mais intensamente estudadas que em outras espécies laticíferas, devido à sua importância comercial. A pressão do látex pressurizado dentro de seu sistema laticífero anastomótico resulta em uma pressão de turgor no floema. Sob estresse hídrico, essas plantas podem

sofrer uma diminuição severa na produção de látex. Além disso, a pressão de turgor do floema é um parâmetro vital para a o equilíbrio hídrico, pois é a força motriz para a exsudação inicial de látex, e é também uma indicação do influxo de água no floema e do transporte de sacarose para os tecidos adjacentes (AN et al., 2016).

A diminuição da água no solo e em sequência acumulação de solutos leva a diminuição do Ψ_w na planta, normalmente chamado de ajuste osmótico (AO). O AO tem sido proposto como um dos critérios de seleção no melhoramento tradicional ou através de seleção assistida por marcadores em programas de engenharia genética para gerar culturas tolerantes à seca (LIU et al., 2011). Plantas estressadas diminuem seu potencial osmótico, acumulando compostos osmoticamente ativos de baixo peso molecular e que sob condições de seca exibem respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares em ambos os níveis: célula e planta inteira (GAGNEUL et al., 2007). O AO tem sido considerado como um importante mecanismo de adaptação associado com a tolerância à seca, uma vez que a acumulação de solutos favorece a diminuição do Ψ_w da célula. Em consequência, ocorre a queda do Ψ_s que, por sua vez, atrai água para dentro da célula tendendo a manter a pressão de turgescência (BLUM et al., 1996).

Em geral, os solutos osmoticamente ativos, tais como açúcares, ácidos orgânicos, contribuem para o processo de ajustamento osmótico, e podem beneficiar as células estressadas de maneiras distintas. Quando as plantas são expostas a condições estressantes, mudanças ocorrem e resultam em alterações nos níveis de uma grande variedade de metabólitos celulares. Tais modificações em resposta ao estresse abiótico parecem estar associadas a uma melhora da capacidade de tolerar tais condições. Um grupo importante desses metabólitos inclui os chamados "solutos compatíveis", que são pequenos metabólitos orgânicos muito solúveis em água e não são tóxicos em altas concentrações (CHEN e MURATA, 2002).

Uma grande variedade de osmólitos compatíveis, em especial as betaínas, existe no reino vegetal (SAKAMOTO; MURATA, 2002). Entre as betaínas e seus compostos relacionados, a glicina betaína (GB) encontrada nas plantas é sintetizada em abundância quando ocorre o estresse por desidratação. A GB ($C_5H_{10}NO_2$) é uma amônia quaternária, composto naturalmente sintetizado por um grande número de espécies, incluindo plantas das famílias *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae*, *Graminae*, *Compositae* e *Malvaceae*, entre outras (CHEN e MURATA, 2011). Além de função osmótica, a GB desempenha um importante papel na estabilização de proteínas complexas (por exemplo, a rubisco) e membranas, atenuando danos ao aparelho fotossintético (ANNAMALAI e

VENKITANARAYANAN, 2009). Há relatos da participação desse composto, favorecendo a manutenção do fluxo de elétrons nos tilacóides em várias condições de estresse, devido à sua ação reguladora de enzimas antioxidantes.

Em condições normais de crescimento, as plantas produzem espécies reativas de oxigênio (ERO's) continuamente, através de uma variedade de vias metabólicas, mas há uma detoxificação dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para evitar que as ERO's atinjam níveis tóxicos (MILLER et al., 2010; ASHRAF e HARRIS, 2013). No entanto, sob condições de estresse, a quantidade de espécies reativas de oxigênio produzidas pode exceder a capacidade de eliminação dessas espécies, com consequente acúmulo de altos níveis intracelulares. Todas as formas de estresse abiótico, incluindo salinidade, resfriamento, congelamento e seca, podem causar uma “explosão oxidativa” nas células vegetais, e as ERO's acumuladas podem causar vários tipos de deterioração e até mesmo morte celular (ASHRAF e HARRIS, 2013).

A GB estabiliza o complexo PSII estimulando seu reparo quando as plantas são expostas a vários tipos de estresse. Além disso, o estresse abiótico pode interferir nas funções das membranas celulares, causando a desnaturação das proteínas e perturbando o sistema de transporte de elétrons que estão incorporados na membrana mitocondrial e nos cloroplastos. A interrupção do transporte de elétrons resulta na produção de ERO's, e a elevação das concentrações intracelulares dessas espécies reativas de oxigênio pode inibir a síntese “de novo” da proteína D1 (NISHIYAMA; ALLAKHVERDIEV; MURATA, 2011). A GB atua estabilizando a integridade da membrana contra os efeitos do estresse (ZHAO; ASPINALL; PALEG, 1992) e protege o complexo II nas mitocôndrias (HAMILTON; HECKATHORN, 2001).

Estudos sobre cultivos *in vitro* demonstraram que a GB, por si só, não tem atividade antioxidante (SMIRNOFF, 1998). Assim, sua função de eliminação das ERO's torna-se indireta, e um dos mecanismos pode ser através da indução da síntese ou ativação dos sistemas de defesa. Tal hipótese foi demonstrada em ambos os casos, após a aplicação de GB exógena e em plantas transgênicas que acumulam GB. Hoque et al. (2008) investigaram os efeitos da GB aplicada exogenamente nos níveis de antioxidantes e sobre as atividades das enzimas no ciclo ascorbato- glutathiona (ASC-GSH) em células de tabaco cultivadas em suspensão, expostas ao estresse salino. Em condições de estresse salino, os níveis ASC e GSH foram significativamente reduzidos, bem como as atividades das enzimas no ciclo ASC-GSH, tais como a peroxidase do ascorbato (APX), redutase do monodesidroascorbato (MDHAR), redutase do desidroascorbato (DHAR) e redutase da

glutathione (GR). Exogenamente, a GB aplicada aumentou as atividades de todas essas enzimas, com exceção da MDHAR. No entanto, GB não tinha efeito direto sobre as atividades das enzimas do ciclo ASC-GSH em condições normais, apenas aumentando as atividades de tais enzimas, sob estresse. A aplicação exógena de GB resultou em uma redução na carbonilação de proteínas e no aumento do nível da forma reduzida de glutathione e nas atividades da glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase e glioxalase sob estresse salino. Esses resultados sugerem que a GB pode proteger plantas contra disfunção induzida pelo estresse abiótico, devido a ERO's, reduzindo a carbonilação de proteínas e aumentando a capacidade antioxidante dos sistemas de defesa (HOQUE et al., 2008).

Ajuste osmótico envolve também a acumulação de prolina (LIANG et al., 2013), soluto compatível com respostas proeminentes sob desidratação e outros estresses (HAYAT et al., 2012). A prolina é considerada um osmoprotetor orgânico, que tem sua biossíntese realizada no citosol da célula; contudo, quando em condições desfavoráveis, pode também ser sintetizada no cloroplasto (BORGIO et al., 2015). A seca favorece a síntese de prolina, que, além da função osmótica, tem função estabilizante e estrutural na síntese de proteínas (KAVI KISHOR et al., 2005). Existem duas vias de biossíntese da prolina: (1) a partir do glutamato e da (2) ornitina. Estudos anteriores demonstraram que o glutamato foi principalmente convertido a prolina nas células de plantas sob estresse hídrico (LEHMANN et al., 2010).

Em *H. brasiliensis*, clone GT1, em condições de seca, houve aumento no teor de prolina após dois dias sem irrigação, havendo flutuação no conteúdo durante o experimento e estabilizando aos nove dias sem irrigação (WANG, 2014). A acumulação de prolina em folhas de seringueira sugere que a *H. brasiliensis* tem a habilidade de regulação osmótica, sob seca. Situações de estresse, como metais pesados, patógenos e estresse térmico, há aumento de prolina e açúcares solúveis, que são relatados como importantes osmoprotetores no balanço de espécies reativas de oxigênio (COUÉE et al., 2006). Vários estudos com diferentes espécies, realizados por Kavi Kishor et al. (2005), Hmida-Sayari et al. (2005), (MARIN et al., 2010), Lehmann et al., (2010), demonstram a capacidade desse aminoácido em evitar a desnaturação das proteínas, protegendo a integridade das membranas em condições de seca, o que pode ser considerado um bom indicador para se determinar genótipos tolerantes à seca.

Em *H. brasiliensis*, a seca inibe o crescimento, e pode levar a alterações anatômicas e fisiológicas dessas plantas (ALVES, 2014). O efeito da seca nessas plantas pode variar,

nos diferentes metabolismos e estádios de desenvolvimento (DEVAKUMAR, 2002). Mudanças no coeficiente de transpiração (CAVALCANTE e CONFORTO, 2007), na integridade da membrana, na osmoregulação, e na pressão do turgor de células laticíferas (CARR, 2012), assim como baixo potencial de solutos (ISARANGKOOL NA AYUTTHAYA et al., 2011) foram encontrados, e relacionados à tolerância à seca, em seringueira.

Em condições severas, o estresse hídrico reduz significativamente a fotossíntese e o conteúdo relativo de água (CRA) (LI et al., 2011). Ocorre o acúmulo de malodialdeído, (MDA) gerado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e a ação de agentes detoxificantes enzimáticos e não enzimáticos, causando danos à membrana celular. Além disso, mudanças no conteúdo de clorofila e carotenóides, também indicam que a seca é responsável por alterar a estrutura de cloroplastos impactando na fixação de CO₂ e no aumento da expressão de genes, em resposta à seca (WANG, 2014).

2.4 Respostas fotossintéticas, estomáticas e antioxidantes

A fotossíntese exerce um papel central no desempenho da planta sob seca, como processo chave do metabolismo primário (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009). Assim, redes de regulação são incumbidas em manter o funcionamento das células ou partes do metabolismo, quando os estômatos se fecham (total ou parcialmente), de modo a mudar o equilíbrio da captação e assimilação de CO₂ e o uso ou dissipação da energia luminosa (AROCA, 2012).

O transporte de elétrons começa com a excitação da clorofila pelos fótons, conduzindo os elétrons do fotossistema II para o fotossistema I e, em seguida para o NADP⁺, reduzindo-o a NADPH. Esse processo ocorre ao longo de uma cadeia de componentes redox, localizado nas membranas dos tilacóides e é acoplado a um transporte de prótons (H⁺). A partir do estroma do cloroplasto, o fluxo é direcionado para o lúmen dos tilacóides, gerando um gradiente eletroquímico de prótons. Os prótons movem-se de volta ao estroma através de componentes transmembranares do complexo enzimático ATPase fornecendo energia para a síntese de ATP (LAWLOR; TEZARA, 2009).

NADPH e ATP são utilizados nas reações de redução e de carboxilação pelo ciclo de Calvin, regenerando RuBP, que, combinado com o CO₂ e pela ação da enzima rubisco, reduz a 3PGA. As trioses fosfato geradas pelo ciclo de Calvin são metabolizadas a sacarose no citosol, e amido no cloroplasto (RUAN, 2012).

O metabolismo de partição e acúmulo de sacarose é vital em todas as fases do ciclo de vida vegetal. Nas folhas, a sacarose é sintetizada no citosol, podendo ser acumulada no vacúolo. Contudo, o acúmulo de sacarose no vacúolo depende do nível de atividade da invertase ácida, ou de inibidores, com variações entre as espécies. As invertases (INV) quebram a sacarose em hexoses e, assim, disponibilizam às células, carbono e energia para o processo de respiração, bem como energia para a síntese de numerosos compostos diferenciados. As invertases podem, ainda, estar envolvidas no transporte de sacarose a longas distâncias, por criar um gradiente de concentração de sacarose entre os sítios de carregamento e descarregamento do floema, revelando função fundamental na partição dos fotossintetizados entre armazenamento e crescimento (RUAN et al., 2010).

Com base na solubilidade, localização subcelular, pH e ponto isoelétrico, três tipos diferentes de invertase podem ser distinguidos: vacuolar (IN VA), da parede celular (INV PC) e neutra (INV NC), sendo encontrada em quantidade superior e praticamente em tecidos imaturos. A atividade dessas isoenzimas pode ser alta ou baixa, respectivamente, em condições favoráveis ao crescimento ou em condições desfavoráveis, como por exemplo, estresse hídrico, fotoperíodo curto, temperaturas baixas e aplicação de maturadores (RUAN, 2012). As flutuações nos teores de açúcares, durante o crescimento vegetal, são consequência do nível da atividade das invertases (RUAN, 2014), uma vez que representa relação estreita e inversa com o conteúdo de sacarose e açúcares totais, corroborando com outros autores (SUN et al., 2011; JIANG et al., 2015)

A expansão celular dos tecidos imaturos requer hexoses como fonte de energia e carbono, e depende da direção da força de alongamento celular, como consequência da manutenção da pressão osmótica e do aumento da extensibilidade da parede celular. Diversos estudos evidenciam a atuação da INV no processo de osmorregulação em condição de estresse (QIN et al., 2004 ; DORION; LALONDE; SAINI, 2016) nas plantas, durante as respostas induzidas pelo estresse, é gerada uma rede de sinalização primária correlacionada com o metabolismo dos carboidratos, em especial com a atividade da enzima invertase (INV), que demonstra ser importante, e aumentam as evidências que sugerem um efeito sinérgico com os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático (BONFIG et al., 2010; NEMATI et al., 2018).

A invertase extracelular é regulada positivamente para suprir os fotossintatos para os órgãos dreno durante o estresse abiótico, como seca e salinidade (ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004). A quebra de polissacarídeos na parede celular (KOCH, 2004) pode, portanto, além de regular o particionamento da sacarose, como também regular a expressão

de genes relacionados ao estresse bióticos e abióticos (ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004); BOLOURI-MOGHADDAM et al., 2010). Além disso, foi demonstrado que os açúcares estimulam o sistema de defesa antioxidante enzimático e metabólico, o que potencializa a sinalização do açúcar como defesa da planta contra o estresse oxidativo.

A sacarose é sintetizada a partir de UDP-Glc e Fru-6-fosfato através da atividade de enzimas sacarose fosfato sintase (SPS), que produzem sac-6-fosfato. A Sac-6-fosfato é rapidamente desfosforilado pelas fosfatases para produzir sacarose e fosfato inorgânico (SOLÍS-GUZMÁN et al., 2017). Além da SPS, a atividade da sacarose sintase (SuSy) também atua no sentido da síntese, entretanto, ela é pouco expressiva nessas reações, porém de forma mais significativa no sentido inverso da reação, favorecendo a hidrólise da sacarose (RICARD et al., 2002); STEIN; GRANOT, 2019). Assim como as invertases ácidas, a expressão de genes da SuSy pode ser influenciada pelas condições ambientais, temporais e obviamente, fatores metabólicos como hormônios, infecções por patógenos, disponibilidade de oxigênio, quinases, fosfatases e sendo fortemente inibida por hexoses, particularmente frutose (EVERARD; LOESCHER, 2016).

O equilíbrio entre a produção da fonte e a utilização de carbono é rigidamente coordenado por meio de uma rede integrada de sinais, na qual hormônios, açúcares e sinais ambientais convergem para regular os processos adaptativos das plantas no desenvolvimento e em condições de estresse (RUAN, 2012). Essas vias de sinalização determinam a direção do fluxo de nutrientes e das vias metabólicas. O entendimento dos mecanismos que leve a vias preferenciais em diferentes “*status*” da planta é importante não apenas para elucidar a base molecular das redes de sinalização que regulam a comunicação entre a fonte e o dreno, mas é também um pré-requisito para a elaboração de estratégias de manipulação genética da alocação de nutrientes (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

Os açúcares atuam não apenas como as principais fontes de carbono e energia para a maioria dos tipos de células, mas também funcionam no controle do metabolismo, na resistência ao estresse, crescimento e desenvolvimento em bactérias, leveduras, plantas e animais (DINAKAR; BARTELS, 2013). O acúmulo de açúcares solúveis, induzido pela seca, tem sido relatado como fenômeno associado à inibição da fotossíntese em várias culturas (EBERHARD; FINAZZI; WOLLMAN, 2008; PINHEIRO; CHAVES, 2011).

As hexoses são grandes inibidores da fotossíntese, e seu conteúdo elevado nas folhas drenos, ou seu aparecimento transientemente, pode iniciar um retro inibição de enzimas do ciclo de Calvin (KOCH, 2004). Espécies que possuem uma alta atividade da

invertase ácida nas folhas podem apresentar maior inibição fotossintética em condições saturantes de CO₂, e essa correlação sugere que a inibição da fotossíntese pode estar envolvida com a ciclagem de sacarose e hexoses nas folhas, que resultaria em uma regulação negativa do ciclo de Calvin (WANG et al., 2017). Todavia, o mecanismo de inibição da fotossíntese pelo acúmulo de açúcares não está bem esclarecido uma vez que esse acúmulo de carboidratos é muito variável entre as espécies (RUAN et al., 2010).

WANG (2014), estudando respostas induzidas pela seca no clone GT1, encontrou uma flutuação no conteúdo de açúcares solúveis durante o período experimental. O conteúdo de AST reduziu em cerca de 50% ao 1 DAT (dias após a indução do tratamento), mas recuperou-se aos níveis das plantas controle, os 3 DAT, ocorrendo uma redução aos 5 e 7 DAT, seguido de um aumento aos 9 DAT. Flutuações no teor de açúcares solúveis em mudas de seringueira sob estresse hídrico sugerem que esses açúcares estão envolvidos na tolerância à seca, desempenhando um papel importante na osmorregulação.

O acúmulo de carboidratos solúveis ocorre comumente em várias plantas sob condições de estresse abiótico. O metabolismo do carbono é dinamicamente reprogramado quando as plantas são expostas ao estresse por seca ou resfriamento (ROLLAND; BAENA-GONZALEZ; SHEEN, 2006). Os açúcares podem agir diretamente como protetor ou servir de substrato para a síntese de outros compostos detoxificantes (ENDLER, 2006). Além disso, eles também podem estimular vias de sinalização tolerantes ao estresse como moléculas de sinalização (PAUL; PELLNY, 2003). Respostas induzidas pelo estresse fazem com que ocorra a síntese de enzimas no cloroplasto para a quebra do amido, como a fosforilase e a-amilase-glucano (MARTINOIA et al., 1987). Além disso, ocorre o aumento do conteúdo de maltose e maltotriose, ambos os produtos de decomposição direta de amido (ORZECOWSKI, 2008), a maltose e glicose gerada pela degradação do amido nos cloroplastos são provavelmente exportado para o citoplasma pelos transportadores MEX1 e pGlcT, respectivamente (WESCHKE et al., 2000).

A exposição ao estresse hídrico estimula a expressão de vários genes transportadores de membrana para manter a homeostase celular (BRAUN; WANG; RUAN, 2014). Além do estresse pelo frio, o estresse hídrico induz a acumulação de vários metabolitos, incluindo açúcares e aminoácidos em plantas. No entanto, os perfis de acumulação de metabolitos são diferentes entre os estresses abióticos (SAUER, 2007). Enquanto muitas enzimas de degradação do amido são induzidas sob condições frias, algumas delas são bastante reprimidas sob condições de seca (BRAUN; WANG; RUAN, 2014), implicando que as vias biossintéticas de vários metabolitos e os seus fluxos inter /

intracelulares são distintos quando expostos a diferentes estímulos ambientais.

A seringueira tem seu sistema produtivo composto por folhas que são responsáveis pela produção de fotoassimilados, e outros órgãos que são consumidores desses assimilados. A biossíntese de látex e conseqüente, a produção de borracha é derivada de uma extensa cadeia de eventos biofísicos, nutricionais e metabólicos que estão relacionados com variantes fatores, tais como a condição ambiental, força dos drenos e transporte de assimilados (CAIRO; OLIVEIRA; MESQUITA, 2009). A compartimentação desses fotossintatos é complexa devido as alterações da relação de fonte e dreno, causada pela sangria. No início da sangria é observada uma diminuição do crescimento da planta, que pode ser ocasionada pela alteração de direcionamento da demanda dos drenos. Após a sangria, a relação fonte e dreno passam a ser direcionada à reconstituição do látex extraído e regeneração da casaca (MESQUITA et al., 2006).

Durante o estresse hídrico, ocorre uma redução nas taxas fotossintéticas e no crescimento, frequentemente associados a alterações no metabolismo do carbono e nitrogênio (LOGGINI et al., 1999). Tais alterações caracterizam-se predominantemente por modificações no níveis foliares de açúcares solúveis (hexoses e sacarose) e de amido (DAMATTA et al., 2003) e nas atividades de enzimas chaves na síntese (SPS) (Basu et al., 1999) e degradação (invertases e sintase da sacarose – SuSy) (LAWLOR; CORNIC, 2002).

2.5 Estresse hídrico induz a acumulação de Espécies reativas de oxigênio.

As organelas que apresentam um metabolismo altamente oxidante ou regiões de fluxo de elétrons, ambas em condições padrões ou estressadas são as principais fontes de ERO's nas plantas. Nos cloroplastos, tilacóides e nos centros de reação do fotossistema I (PSI) e fotossistema II (PSII) são responsáveis por uma grande parte do total de ERO's que são produzidos nas células vegetais (ASADA, 2006a). Estresses abióticos como excesso de luz (TAKAHASHI et al., 2009), seca (ASADA, 2006a), salinidade (MILLER et al., 2010) e metal pesado (SANTOS et al., 2017) aumentam a produção das ERO's no cloroplasto por excitação ou redução parcial nas moléculas de O₂.

Em células não fotossintetizantes, as mitocôndrias constituem as principais origens de ERO's devido ao extravasamento de elétrons nos complexos respiratórios I e III na cadeia de transporte de elétrons (FOYER et al., 2009). A dispersão desses elétrons pode ser aumentada em resposta a várias condições de estresse biótico e abiótico (KEUNEN et al., 2013; MILLER et al., 2010). Semelhante aos cloroplastos e mitocôndrias, os

peroxissomos produzem ERO's como subprodutos de sua oxidação metabólica. Sob condições de estresse abiótico, essas organelas podem constituir a principal fonte de ERO's concomitantemente com cloroplastos (VAN DEN ENDE; VALLURU, 2008). A via fotorrespiratória é uma grande produtora de H_2O_2 (FOYER et al., 2009). Além disso, O_2^- é produzido na matriz peroxissômica por uma xantina oxidase e também em membranas via reações de transporte de elétrons dependentes de NAD (P). Além disso, o H_2O_2 é gerado pela beta oxidação, por flavinas oxidases e dismutação de O_2^- (Qi et al., 2018). As ERO's peroxissômicas estão implicadas nas respostas de estresse abióticos e bióticos (MILLER et al., 2010).

Na biologia vegetal, é amplamente aceito que as ERO's constituem um papel ambíguo durante as respostas ao estresse. Sendo moléculas tóxicas, são capazes de impactar as células oxidativamente (MOLLER; JENSEN; HANSSON, 2007). No entanto, também são sinalizadoras chaves, com ações reguladoras nas vias de defesa que levam à proteção celular e / ou aclimação (MILLER et al., 2010). O equilíbrio entre ambos é resultado de uma fina regulação e requer um controle rígido da acumulação dos níveis de ERO's durante estresse abiótico em plantas (MILLER et al., 2010).

Como moléculas que causam danos aos compartimentos celulares, o O_2^- e o H_2O_2 são menos reativos que o OH, reagindo com cada molécula em sua vizinhança dentro de uma meia-vida curta de 1ns (MOLLER; JENSEN; HANSSON, 2007), as células vegetais se beneficiam de altas concentrações de moléculas detoxificadoras, sendo essas, localizadas em posições estratégicas onde os radicais OH são potencialmente gerados e podem causar danos substanciais (por exemplo, na proximidade de membranas). De fato, os radicais OH podem iniciar a peroxidação lipídica da membrana retirando um átomo de hidrogênio da cadeia lateral dos ácidos graxos poliinsaturados. Fato esse, que gera ainda mais lipoperóxidos em uma reação em cadeia, afetando a fluidez da membrana e seu funcionamento (GILL; TUTEJA, 2010).

O aumento na produção de EROs está geralmente relacionado a várias condições de estresse biótico e abiótico, embora as respostas das plantas diferem em relação aos componentes genéticos de expressão / sinalização e percepção do estresse (MILLER et al., 2010). Tradicionalmente, os antioxidantes vegetais são divididos em sistemas enzimáticos compreendendo a dismutatase do superóxido (SOD), peroxidase de ascorbato (APX), glutathiona peroxidase (GPX) e catalase (CAT), e não-enzimático de baixo peso molecular compreendendo os metabólitos, como AsA, glutathiona (GSH), a-tocoferol (vitamina E),

carotenóides e flavonóides. A tolerância ao estresse abiótico nas plantas pode ser melhorada através da modificação da expressão, conteúdo e /ou atividade desses antioxidantes (GILL; TUTEJA, 2010).

O malondialdeído (MDA), um produto citotóxico da peroxidação lipídica é geralmente caracterizado como um índice que representa os níveis de ERO's nas plantas, e também a representação do seu dano em potencial. Wang (2014) avaliando as mudanças no conteúdo de MDA nas folhas de seringueira sob estresse hídrico encontrou que esses valores de MDA foram continuamente aumentados como estresse prolongado. Em plantas sob estresse por seca, o acúmulo de MDA geralmente leva à danos a membrana celular, e essas mudanças tanto no conteúdo de MDA e no conteúdo relativo de água sugere que a seca induz a resposta ao estresse osmótico em mudas de seringueira (WANG, 2014). Neste mesmo estudo, a atividade da peroxidase (POD) e da dismutase do superóxido (SOD) aumentou consideravelmente sugerindo que as mudas de seringueira foram suscetíveis ao estresse hídrico aplicado.

Carneiro, (2014), avaliando a atividade de enzimas antioxidantes em mudas de seringueira cultivadas em diferentes fontes nitrogenadas e sob baixa disponibilidade de água, observou que das enzimas avaliadas, a SOD e a CAT foram as principais responsáveis pela limpeza das ERO's neste estudo. Os resultados mostram também que plantas jovens de seringueira apresentam suas atividades fisiológicas normais até sete dias após a imposição do estresse e, após esse período, o metabolismo da planta passa a ser mais fortemente comprometido com a diminuição da atividade das enzimas antioxidantes (SOD e CAT), em maior intensidade naquelas cultivadas com amônio e na ausência de N sob déficit hídrico.

Os mecanismos detoxificantes de remoção das EROs agem conjuntamente e envolvem um sistema enzimático extremamente eficiente, composto pelo superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), dehidroascorbato redutase (DHAR), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), glutathiona redutase (GR), glutathiona peroxidase (GPX). A SOD é a primeira linha de defesa, que rapidamente, elimina o superóxido, dismutando o O_2^- em H_2O_2 , de certa forma a SOD atua na diminuição da reatividades destes compostos pois apenas converte uma espécie reativa mais danosa em outra com menos nociva (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002), desta forma a atividade da enzima interfere na concentração das duas EROs envolvidas na reação de Haber-Weiss, evitando a formação do radical OH (TORRES; JONES; DANGL, 2006). O H_2O_2 liberado

na dismutação do superóxido também precisa ser eliminado, para evitar danos à célula. Nesse caso, a CAT e APX são as principais enzimas responsáveis pela quebra dessa molécula, porém elas apresentam afinidades diferentes para o H_2O_2 e parecem ter diferentes funções celulares nesse processo (TORRES; JONES; DANGL, 2006).

A ascorbato peroxidase (APX) é responsável pela degradação do H_2O_2 utilizando o ascorbato como substrato, a enzima é importante na defesa em tecidos fotossintéticos contra o estresse fotooxidativo, a APX é encontrada também no citosol das células não fotossintetizantes atuando na redução dos níveis de ERO's (ASADA, 2006b). Por outro lado, a CAT tem afinidade mais baixa para o H_2O_2 e está localizada, exclusivamente, nos peroxissomos e é responsável pela inativação do H_2O_2 formado durante a conversão do glicolato a glioxialato que ocorre durante a fotorrespiração, a APX tem alta afinidade, e está localizada em vários compartimentos celulares. Dessa maneira, a CAT remove o excesso de produção de ERO's, atuando quando o estresse é mais severo, ao contrário da APX que elimina o H_2O_2 quando em baixas concentrações, sendo utilizada para fins de sinalização (QI et al., 2017).

2.6 Descrição dos clones utilizados

O termo clone é definido como grupo de plantas oriundos através da propagação vegetativa de uma planta matriz, que possuem a mesma identidade genética responsável pela uniformidade presente entre elas. A produtividade de um seringal é determinada principalmente pelo material plantado, e é importante a escolha de clones que gerem uma boa produtividade, crescimento satisfatório antes e depois da fase produtora (GONÇALVES et al., 2001). Os clones gerados dentro de um programa de melhoramento genético são testados em condições edafoclimáticas distintas de cada região produtora de borracha no Brasil para confirmar o seu potencial produtivo (GONÇALVES, P. S. MARQUES, 2008). Porém, um dos principais entraves limitantes na seleção de clones elites de *H. brasiliensis* é o longo período de testes, que compreende desde a polinização controlada até a fase de testes fisiológicos (GONÇALVES; AGUIAR; GOUVÊA, 2006). Em seguida estes clones são recomendados aos produtores para o plantio em escala comercial, que com base nas características do material genético do clone, o produtor poderá assegurar uma boa tomada de decisão acerca do manejo do plantel assim como assegurar uma eficiente taxa de retorno sobre o investimento inicial em curto prazo (GONÇALVES; AGUIAR; GOUVÊA, 2006).

O desempenho da produtividade do clone pode ser afetado por fatores edafoclimáticos nas áreas indicadas ao cultivo de seringueira. Fatores como alta incidência de radiação, velocidade do vento, umidade atmosférica, tipo de solo e disponibilidade hídrica e intensidade e duração de veranicos (MACEDO et al., 2002). Clones não adaptados as condições de cultivo resultam em perda de vigor e redução do potencial de produção (SILVA et al., 2013).

Ao contrário da seleção de genótipos feita no passado em que se baseavam-se em amplas áreas de cultivo que depararam com problemas de interação genótipo-ambiente, atualmente as recomendações são limitadas aos respectivos ambientes de cultivo (SILVA et al., 2013). Maximizando o potencial da produção sendo o somatório das particularidades do ambiente juntamente com o ganho genético do clone.

Os clones são classificados em primários, secundários e terciários, sendo os clones primários oriundos de parentes desconhecidos obtidos a partir da multiplicação vegetativa de árvores matrizes com características desejáveis. Clones secundários são aqueles cujas árvores matrizes são obtidas através de cruzamentos controlados entre dois clones primários. Já os clones terciários são obtidos de cruzamentos em que pelo menos um dos parentes é secundário (GONÇALVES, P. S. MARQUES, 2008).

Resultados de pesquisas envolvendo clones elites e observações pós plantio e produção demonstram como mais apropriados para o plantio em larga escala (até 70% da área total do seringal), os seguintes clones orientais intraespecíficos de *Hevea brasiliensis*: RRIM 600, I, PR 255 e GT1. A seguir, serão caracterizadas as principais séries de clones de seringueira utilizados no Brasil. Neste estudo, a inclusão do clone IAC40 foi devido à insuficiência de estudos que caracterizem esse clone na região do sul de Minas Gerais.

2.7 Clone RRIM 600

É um clone secundário intraespecífico de *H. brasiliensis*, resultante dos cruzamentos de clones primários TJIR 1 e PB 86 do Rubber Research Institute of Malaysia, ambos selecionados na Malásia (GONÇALVES et al., 1993). Suas árvores apresentam um rápido crescimento no período juvenil, em que o desenvolvimento dos ramos aparecem tardiamente e formam uma grossa bifurcação que acarretam em grande peso na base das plantas e, em caso de incidência de vento poderá ocorrer quebra provocando o aparecimento de clareiras no seringal (MACEDO et al., 2002). O RRIM 600 caracteriza-se pela copa estreita e a folhagem esparsa, apresentando folhas pequenas e verdes claras. Quanto ao vigor, comparando-se antes e após a entrada em sangria é considerado médio, com casca mais fina comparado a outros genótipos, o que torna a prática de sangria um

pouco delicada. Em compensação a renovação do ferimento é boa e apresenta alta produção (IAC, 2019).

O látex é branco e não deve ser concentrado, devido à baixa estabilidade, sendo esse clone considerado pouco tolerante ao frio na china e totalmente suscetível ao cancro do tronco (*Phytophthora* spp.) (BRUNINI; CARDOSO, 1997). O clone RRIM 600 apresenta maior sensibilidade à deficiência hídrica que as progênies. É o clone mais plantado na região do Planalto do Estado de São Paulo, por apresentar bom desempenho no que tange a produção e vigor (IAC, 2019).

2.8 Clone GT1

Clone primário desenvolvido no seringal Gondang Tapen, em Java, Indonésia (GONÇALVES et al., 1993). A árvore pode apresentar irregularidades, tais como estrias ou torsões na região do enxerto. O clone apresenta casaca virgem média, bastante tenra, não apresentando problemas à sangria ou renovação de casca. A abertura da copa é bastante tardia e de hábito variável, pois algumas árvores não apresentam galhos líderes, enquanto outras possuem vários. As árvores jovens são altas e tendem a entortar quando a formação dos galhos é tardia. As folhas, durante o período de imaturidade, são grandes, verde-escuras e brilhantes, e menores quando a árvore atinge a fase adulta (IAC, 2019).

O vigor é expresso pelo crescimento da circunferência do caule até a abertura do painel de sangria. Em São Paulo, é o clone com maior perímetro de abertura do painel de sangria. É considerado de excelente produção, tanto que na Malásia sua média de produção nos primeiros dez anos foi de 1723 kg ha⁻¹ano⁻¹, na Costa do Marfim nos primeiros cinco anos de 1.728 kg ha⁻¹ano⁻¹ e no Estado de São Paulo foi 1810 kg ha⁻¹ano⁻¹, todos no sistema 1/2S d/2 6d/7 (IAC, 2019).

Apresenta caracteres secundários desejáveis, pois a resistência à quebra pelo vento é de média para boa e a ocorrência de seca do painel, é pouco notada, salvo quando submetido à sangria intensiva. De uma maneira geral, essa série é propensa a um aumento na produção de látex com o passar do tempo. O látex é branco e adequado para todos os processos de produtos manufaturados. Na China, revelou-se tolerante às geadas de radiação e de vento. Por ser precoce e pela sua rusticidade e qualidades agronômicas (GONÇALVES, P. S. MARQUES, 2008).

2.9 Clone PR 255

Clone de alta produção possuidor de bons caracteres secundários. Os parentais são o Tjir 1 x PR 107. O vigor no período de imaturidade é bom e o incremento médio do caule na fase adulta é considerada suficiente. Experimentos realizados pelo Instituto Agrônomo (IAC) mostraram que ao final de cinco anos de sangria o clone PR 255, foi aquele que apresentou o maior incremento do perímetro do caule, característica importante porque as árvores continuaram a crescer após a sangria, o que diminuiu a probabilidade de quebra por ventos. Possui caule alto e reto (SILVA et al., 2007). A copa é densa e balanceada. A produção obtida de ensaios experimentais na Malásia, por 15 anos de sangria foi em torno de $2.020 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. No estado de São Paulo, a média de produção em cinco anos de sangria foi $1.806 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ e a análise econômica dos diferentes sistemas de sangria com base na média de produção de borracha nos cinco anos mostrou que o sistema $\frac{1}{2}\text{S d}/3$. ET 2,5% 8y, foi superior em 43% em relação à testemunha $\frac{1}{2}\text{S d}/2$. A incidência de queda de folha causada por antracnose, bem como a ocorrência de seca do painel é moderada.

2.10 Clone IAC 40

Clone terciário de alta produção resultante do cruzamento entre o RRIM 608 com o AVROS 1279. Apresenta um excelente vigor no período de imaturidade (IAC, 2019). O clone possui caule reto retangular e boa compatibilidade com relação ao enxerto x porta-enxerto. A copa é ampla e a folhagem esparsa apresentando folhas de tamanhos médios e de coloração verde escura (PEREIRA; PEREIRA, 2001). A casca é lisa e espessa tenra sem problemas de sangria. A média de produção do clone, nos seis primeiros anos de avaliação, foi de $2.316 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de borracha seca, 55% a mais em relação ao clone RRIM 600. Apresenta taxa de crescimento do tronco acima da média em 13 anos de avaliação, com um incremento médio anual de 6,90 cm (IAC, 2019).

3 REFERÊNCIAS

- ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. **Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants.** *Journal of Experimental Botany*. **Anais...**2002
- ALVES, R. A. S. **Alterações fisiológicas em clones de seringueira (Hevea brasiliensis) submetidos ao déficit hídrico.** Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 2014.
- AN, F. et al. Ethephon Increases Rubber Tree Latex Yield by Regulating Aquaporins and Alleviating the Tapping-Induced Local Increase in Latex Total Solid Content. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 3, p. 701–709, 2 set. 2016.
- ANNAMALAI, T.; VENKITANARAYANAN, K. Role of proP and proU in betaine uptake by *Yersinia enterocolitica* under cold and osmotic stress conditions. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 6, p. 1471–7, mar. 2009.
- APEL, K.; HIRT, H. REACTIVE OXYGEN SPECIES: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annual Review of Plant Biology**, 2004.
- AROCA, R. **Plant responses to drought stress : from morphological to molecular features.** [s.l.] Springer, 2012.
- ASADA, K. Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 391–396, 2006a.
- ASADA, K. Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. **PLANT PHYSIOLOGY**, 2006b.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163–190, 15 jun. 2013.
- BATISTA, L. A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, 2010.
- BEGA, R. M. **Heveicultura: alternativa para o pequeno proprietário rural no noroeste paulista.** [s.l.] Universidade Federal de viçosa, 2004.
- BLUM, A. et al. Genetically Engineered Plants Resistant to Soil Drying and Salt Stress: How to Interpret Osmotic Relations? **Plant physiology**, v. 110, p. 1051–1053, 1996.
- BOLOURI-MOGHADDAM et al. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **FEBS Journal**, n. 277, p. 2022–2037, 2010.
- BONFIG, K. B. et al. Post-translational derepression of invertase activity in source leaves via down-regulation of invertase inhibitor expression is part of the plant defense response. **Molecular Plant**, 2010.

BORGO, L. et al. Effects of high proline accumulation on chloroplast and mitochondrial ultrastructure and on osmotic adjustment in tobacco plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 2, p. 191, 4 maio 2015.

BRAUN, D. M.; WANG, L.; RUAN, Y. L. **Understanding and manipulating sucrose phloem loading, unloading, metabolism, and signalling to enhance crop yield and food security** *Journal of Experimental Botany*, 2014.

BRUNINI, O.; CARDOSO, M. Efeito Do Déficit Hídrico No Solo Sobre O Comportamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1053–1060, 1997.

CAIRO, P. A. R.; OLIVEIRA, L. E. M. DE; MESQUITA, A. C. Atividade da rubisco e das enzimas de síntese de hidrólise de sacarose, associada à produtividade de látex, em clones de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd ex. Adr. de Juss.) Muell.-Arg] cultivados em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 369–376, abr. 2009.

CAMARGO, A. P.; MARIN, A. R.; CAMARGO, M. B. . **Zoneamento Climático da Heveicultura no Brasil**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/17131/1/d24heveicfin.pdf>>. Acesso em: 8 maio. 2019.

CARNEIRO, M. M. L. **FISIOLOGIA DE PLANTAS JOVENS DE SERINGUEIRA CULTIVADAS EM DIFERENTES FONTES NITROGENADAS E SOB BAIXA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA E OXIGÊNIO**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2014.

CARR, M. K. V. the Water Relations of Rubber (*Hevea Brasiliensis*): a Review. **Experimental Agriculture**, v. 48, n. 02, p. 176–193, 2012.

CAVALCANTE, J. R.; CONFORTO, E. DE C. Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 4, p. 701–708, 2007.

CHANDRASHEKAR, T. R. et al. Seasonal changes in physiological characteristics and yield in newly opened trees of *Hevea brasiliensis* in North Konkan. **Indian Journal of Natural Rubber Research**, v. 3, n. 2, p. 88–97, 1990.

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

CHAVES, M. M.; MAROCO, J.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought- from genes to whole plant. *Func Plant Biol SEE PROFILE*. 2016.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 3, p. 250–7, jun. 2002.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress:

mechanisms and biotechnological applications. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, n. 1, p. 1–20, jan. 2011.

CORNISH, K.; CASTILLÓN, J.; SCOTT, D. J. Rubber molecular weight regulation, in vitro, in plant species that produce high and low molecular weights in vivo. **Biomacromolecules**, 2000.

COUÉE, I. et al. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 3, p. 449–459, 1 fev. 2006.

D. ABRAMS, M. Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. **Tree physiology**, v. 7, p. 227–238, 1991.

DAI, A. **Drought under global warming: A review** *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, 2011.

DAMATTA, F. M. et al. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant Science**, 2003.

DE OLIVEIRA, A. B.; MENDES ALENCAR, N. L.; GOMES-FILHO, E. Comparison Between the Water and Salt Stress Effects on Plant Growth and Development. In: **Responses of Organisms to Water Stress**. [s.l.: s.n.].

DEVAKUMAR, A. Photosynthesis in Mature Trees of *Hevea Brasiliensis* Experiencing Drought and Cold Stresses Concomitant With Photosynthesis in Mature Trees of *Hevea* Experiencing Drought and Cold Stresses Concomitant With High Light in the Field. **Indian Journal Of Natural Rubber Research**, v. 15 (1), n. May 2015, p. 1–13, 2002.

DINAKAR, C.; BARTELS, D. Desiccation tolerance in resurrection plants: new insights from transcriptome, proteome and metabolome analysis. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 482, 2013.

DORION, S.; LALONDE, S.; SAINI, H. S. Induction of Male Sterility in Wheat by Meiotic-Stage Water Deficit Is Preceded by a Decline in Invertase Activity and Changes in Carbohydrate Metabolism in Anthers. **Plant Physiology**, 2016.

EBERHARD, S.; FINAZZI, G.; WOLLMAN, F.-A. The Dynamics of Photosynthesis. **Annual Review of Genetics**, 2008.

ENDLER, A. Identification of a Vacuolar Sucrose Transporter in Barley and Arabidopsis Mesophyll Cells by a Tonoplast Proteomic Approach. **PLANT PHYSIOLOGY**, 2006.

EVERARD, J. D.; LOESCHER, W. H. **Primary Products of Photosynthesis, Sucrose and Other Soluble Carbohydrates**. Second Edi ed. [s.l.] Elsevier, 2016. v. 1

FLOOD, P. J.; HARBINSON, J.; AARTS, M. G. M. **Natural genetic variation in plant photosynthesis** *Trends in Plant Science*, 2011.

FOYER, C. H. et al. Photorespiratory Metabolism: Genes, Mutants, Energetics, and Redox Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, 2009.

FRENSCH, J. Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, n. 5, p. 985–999, 1 maio 1997.

GAGNEUL, D. et al. A reassessment of the function of the so-called compatible solutes in the halophytic plumbaginaceae *Limonium latifolium*. **Plant physiology**, v. 144, n. 3, p. 1598–611, jul. 2007.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. **Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants** *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010.

GONÇALVES, P. S. MARQUES, J. R. B. Clones de seringueira: Influência dos fatores ambientais na produção e recomendação para o plantio. In: **Seringueira**. Viçosa: EPAMIG, 2008. p. 179–248.

GONÇALVES, P. DE S. et al. Desempenho preliminar de clones de seringueira na região de São José do Rio Preto, planalto do estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 52, n. 2, p. 119–130, 1993.

GONÇALVES, P. DE S.; AGUIAR, A. T. DA E.; GOUVÊA, L. R. L. Expressão fenotípica de clones de seringueira na região noroeste do estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 389–398, 2006.

GONÇALVES, P. S. et al. Desempenho de clones de seringueira de origem amazônica no planalto do Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1469–1477, dez. 2001.

HAMILTON, E. W.; HECKATHORN, S. A. Mitochondrial adaptations to NaCl. Complex I is protected by anti-oxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine. **Plant physiology**, v. 126, n. 3, p. 1266–74, 1 jul. 2001.

HAYAT, S. et al. Role of proline under changing environments: A review. **Plant Signaling and Behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456–1466, 2012.

HMIDA-SAYARI, A. et al. Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. **Plant Science**, v. 169, n. 4, p. 746–752, 1 out. 2005.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. **Mechanism of plant desiccation tolerance** *Trends in Plant Science*, 2001.

HONG-BO, S.; LI-YE, C.; MING-AN, S. **Calcium as a versatile plant signal transducer under soil water stress** *BioEssays*, 2008.

HOQUE, M. A. et al. Proline and glycinebetaine enhance antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems and reduce NaCl-induced damage in cultured tobacco

cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 8, p. 813–824, 26 maio 2008.

HSIAO, T. C.; XU, L. K. Sensitivity of with of roots versus leaves to water stress: Biophysical analysis and relation to water. **Journal of Experimental Botany**, 2000.

HUANG, G. T. et al. **Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants** **Molecular Biology Reports**, 2012.

IAC. **Centro de seringueira e sistemas agroflorestais**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/seringueira/clones.php>>. Acesso em: 17 maio. 2019.

IBGE. **No Title**.

ISARANGKOOL NA AYUTTHAYA, S. et al. Water loss regulation in mature Hevea brasiliensis: effects of intermittent drought in the rainy season and hydraulic regulation. **Tree Physiology**, v. 31, n. 7, p. 751–762, 1 jul. 2011.

JIANG, S.-Y. et al. Sucrose metabolism gene families and their biological functions. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 17583, 30 dez. 2015.

KALLIS, G. Droughts. **Annual Review of Environment and Resources**, 2008.

KASIM, W. A. et al. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, 2013.

KAVI KISHOR, P. B. et al. **Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance** **Current Science**, 2005.

KEUNEN, E. et al. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: Extending the traditional concept. **Plant, Cell and Environment**, v. 36, p. 1242–1255, 2013.

KOCH, K. **Sucrose metabolism: Regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development** **Current Opinion in Plant Biology**, 2004.

LATA, C.; MUTHAMILARASAN, M.; PRASAD, M. Drought Stress Responses and Signal Transduction in Plants. In: **Elucidation of Abiotic Stress Signaling in Plants**. New York, NY: Springer New York, 2015. p. 195–225.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, 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. 561–79, fev. 2009.

LEHMANN, S. et al. Proline metabolism and transport in plant development. **Amino Acids**,

v. 39, n. 4, p. 949–962, 5 out. 2010.

LI, Y. et al. Effect of drought and ABA on growth, photosynthesis and antioxidant system of *Cotinus coggygia* seedlings under two different light conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 107–113, 1 abr. 2011.

LIANG, X. et al. Proline Mechanisms of Stress Survival. **Antioxidants & Redox Signaling**, 2013.

LIU, C. et al. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 174–183, 2011.

LOGGINI, B. et al. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. **Plant physiology**, v. 119, n. 3, p. 1091–1100, 1 mar. 1999.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil - II**. [s.l.: s.n.].

LUKE, L. P. et al. Quantitative expression analysis of drought responsive genes in clones of *Hevea* with varying levels of drought tolerance. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 2015.

MACEDO, R. L. G. et al. INTRODUÇÃO DE CLONES DE SERINGUEIRA NO NOROESTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **CERNE**, v. 8, n. 1, p. 124–133, 2002.

MARIN, J. A. et al. Determination of proline concentration, an abiotic stress marker, in root exudates of excised root cultures of fruit tree rootstocks under salt stress. **Actes du 3ème Meeting International 'ridoculture et Cultures Oasisennes: Gestion et Valorisation des Ressources et Applications Biotechnologiques dans les Agrosystèmes Arides et Sahariens**, 2010.

MARTINOIA, E. et al. Sugar Transport across the Plasmalemma and the Tonoplast of Barley Mesophyll Protoplasts. Evidence for Different Transport Systems. **Journal of Plant Physiology**, v. 131, n. 5, p. 467–478, 1 dez. 1987.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. **Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture** *Annals of Botany*, 2010.

MESQUITA, A. C. et al. Sazonalidade da produção e características do látex de clones de seringueira em lavras, MG. **Bragantia**, v. 65, n. 4, p. 633–639, 2006.

MILLER, G. et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 4, p. 453–467, abr. 2010.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, n. 1, p. 459–481, jun. 2007.

- MORALES, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Oxidative Stress: A Master Regulator of Plant Trade-Offs? **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 996–999, dez. 2016.
- NEMATI, F. et al. Comparison of sucrose metabolism in wheat seedlings during drought stress and subsequent recovery. **Biologia Plantarum**, 2018.
- NISHIYAMA, Y.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; MURATA, N. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. **Physiologia Plantarum**, v. 142, n. 1, p. 35–46, 1 maio 2011.
- ORZECZOWSKI, S. **Starch metabolism in leaves** *Acta Biochimica Polonica*, 2008.
- PAUL, M. J.; PELLNY, T. K. **Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development**. *Journal of Experimental Botany*. **Anais...**2003
- PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. . **Cultura da seringueira no cerrado**. Planaltina: [s.n.]. Disponível em: <<http://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00071750.pdf>>. Acesso em: 17 maio. 2019.
- 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. 869–882, 2011.
- PRIYADARSHAN, P. M. et al. Yielding Potential of Rubber (*Hevea brasiliensis*) in Sub-Optimal Environments . **Journal of Crop Improvement**, 2005.
- PRIYADARSHAN, P. M. **Refinements to Hevea rubber breeding** *Tree Genetics and Genomes*, 2017.
- QI, J. et al. Apoplastic ROS signaling in plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 38, p. 92–100, 1 ago. 2017.
- QIN, L. et al. Involvement of the Ivr2-invertase in the perianth during maize kernel development under water stress. **Plant Science**, 2004.
- RAO, P. S.; SARASWATHYAMMA, C. .; SETHURAJ, M. . Studies on the relationship between yield and meteorological parameters of para rubber tree (*Hevea brasiliensis*)1The paper is based on the work and experience of the authors and in no way reflects the views of the Rubber Board or Department of Science and. **Agricultural and Forest Meteorology**, 2002.
- RHODES, D.; HANSON, A. D. Quaternary Ammonium and Tertiary Sulfonium Compounds in Higher Plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 2003.
- RICARD, B. et al. Evidence for the Critical Role of Sucrose Synthase for Anoxic Tolerance of Maize Roots using a Double Mutant. **Plant Physiology**, 2002.
- ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, M. C. Function and regulation of plant invertases: Sweet

sensations. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 12, p. 606–613, 2004.

ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. SUGAR SENSING AND SIGNALING IN PLANTS: Conserved and Novel Mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, n. 1, p. 675–709, 2006.

RUAN, Y.-L. Signaling Role of Sucrose Metabolism in Development. **Molecular Plant**, v. 5, n. 4, p. 763–765, 2012.

RUAN, Y.-L. Sucrose Metabolism: Gateway to Diverse Carbon Use and Sugar Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, n. 1, p. 33–67, 29 abr. 2014.

RUAN, Y. L. et al. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: Roles in development, yield potential, and response to drought and heat. **Molecular Plant**, v. 3, n. 6, p. 942–955, 2010.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 163–171, fev. 2002.

SALVADOR, P. V. Plant responses to drought stress. From morphological to molecular feature, por Ricardo Aroca, 2012. **Revista Ecosistemas**, v. 22, n. 1, p. 93, 2013.

SANJEEVA RAO, P.; SARASWATHYAMMA, C. K.; SETHURAJ, M. R. Studies on the relationship between yield and meteorological parameters of para rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Agricultural and Forest Meteorology**, 1998.

SANTOS, G. R.; MOTHÉ, C. G. Prospecção e perspectivas da borracha natural, *Hevea brasiliensis*. **Revista analytica**, v. 26, p. 32–47, 2007.

SANTOS, J. O. et al. Copper (Cu) stress affects carbon and antioxidant metabolism in *Coffea arabica* seedlings. **AJCS**, v. 11, n. 08, p. 1835–2707, 2017.

SAUER, N. **Molecular physiology of higher plant sucrose transporters**FEBS Letters, 2007.

SECCO, R. D. S. et al. An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae s.l. in Brazil. **Rodriguesia**, 2012.

SHANGGUAN, Z.; SHAO, M.; DYCKMANS, J. Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, 2000.

SILVA, J. Q. et al. Viabilidade econômica de diferentes sistemas de sangria em clones de seringueira Economic viability of different tapping systems in rubber tree clones. **Pesq. agropec. bras**, v. 23, n. 3, p. 349–356, 2007.

SILVA, K. . et al. ZONEAMENTO EDAFOCLIMÁTICO PARA A CULTURA DA SERINGUEIRA NO ESPÍRITO SANTO. **Irriga**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2013.

SILVEIRA, A. M. A relação entre os preços de açúcar nos mercados domésticos e internacional. p. 89, 2004.

SINCLAIR, T. R.; LUDLOW, M. M. Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. **Australian Journal of Plant Physiology**, 1986.

SMIRNOFF, N. Plant resistance to environmental stress. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 9, n. 2, p. 214–219, 1 abr. 1998.

SOLÍS-GUZMÁN, M. G. et al. Expression analysis of the Arabidopsis thaliana AtSpen2 gene, and its relationship with other plant genes encoding Spen proteins. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, n. 3, p. 643–655, 28 ago. 2017.

STEIN, O.; GRANOT, D. An Overview of Sucrose Synthases in Plants. **Frontiers in Plant Science**, 2019.

SUN, J. et al. Decrease in leaf sucrose synthesis leads to increased leaf starch turnover and decreased RuBP regeneration-limited photosynthesis but not Rubisco-limited photosynthesis in Arabidopsis null mutants of SPSA1. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, n. 4, p. 592–604, 1 abr. 2011.

TAKAHASHI, S. et al. How Does Cyclic Electron Flow Alleviate Photoinhibition in Arabidopsis? **PLANT PHYSIOLOGY**, 2009.

TARDIEU, F. Plant response to environmental conditions: Assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. **Frontiers in Physiology**, 2013.

TORRES, M. A.; JONES, J. D. G.; DANGL, J. L. Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. **Plant physiology**, 2006.

TYREE, M. T. et al. Refilling of Embolized Vessels in Young Stems of Laurel. Do We Need a New Paradigm? **Plant Physiology**, 2002.

VAN BAVEL, C. H. M. Water Relations of Plants and Soils. **Soil Science**, 2003.

VAN DEN ENDE, W.; VALLURU, R. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 1, p. 9–18, 25 nov. 2008.

WANG, L. FENG. Physiological and molecular responses to drought stress in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 83, n. August, p. 243–249, 2014.

WANG, Y. et al. Effects of Elevated CO₂ and Drought on Plant Physiology, Soil Carbon and Soil Enzyme Activities. **Pedosphere**, 2017.

WESCHKE, W. et al. Sucrose transport into barley seeds: Molecular characterization of two

transporters and implications for seed development and starch accumulation. **Plant Journal**, 2000.

WILSON, J. B. A Review of Evidence on the Control of Shoot: Root Ratio, in Relation to Models. **Annals of Botany**, 2017.

ZEPPEL, M. J. B. et al. Nocturnal stomatal conductance responses to rising [CO₂], temperature and drought. **New Phytologist**, v. 193, n. 4, p. 929–938, mar. 2012.

ZHAO, Y.; ASPINALL, D.; PALEG, L. G. Protection of Membrane Integrity in *Medicago sativa* L. by Glycinebetaine against the Effects of Freezing. **Journal of Plant Physiology**, v. 140, n. 5, p. 541–543, 1 out. 1992.

ZHOU, R. et al. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. **BMC plant biology**, v. 17, n. 1, p. 24, 2017.

ZIAF, K. et al. A multiple stress-responsive gene ERD15 from *Solanum pennellii* confers stress tolerance in tobacco. **Plant and Cell Physiology**, 2011.

ZIVCAK, M. et al. Photosynthetic responses of sun- and shade-grown barley leaves to high light: Is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess of light? **Photosynthesis Research**, 2014.

ZONGDAO, H.; YANQING, P. Rubber cultivation under climatic stresses in China. In: **Developments in Crop Science**. [s.l: s.n.].

CAPÍTULO II- COMPORTAMENTO FOTOSSINTÉTICO DE CLONES DE SERINGUEIRA (*Hevea spp*) EM FUNÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.

RESUMO

O estudo teve como objetivo verificar as alterações fisiológicas relacionadas com o processo fotossintético em plantas jovens de quatro clones de seringueira (GT1, IAC40, PR255 e RRIM600), submetidas ao déficit hídrico progressivo do solo e posterior restabelecimento da irrigação. Clones com dois lançamentos foliares foram transplantadas para tubos de PVC contendo um volume de solo de 12,6 dm³. Quando as mudas atingiram o terceiro lançamento foliar, foram submetidas a 32 dias de suspensão hídrica (32 DASH) em sequência foi feita a reidratação do solo por 15 dias (15 DARI), totalizando 47 dias de período experimental. As avaliações foram feitas aos 32 DASH e aos 15 DARI para trocas gasosas, pigmentos fotossintetizantes e fluorescência da clorofila e viabilidade celular, para a medição de Teor relativo de água, estas foram feitas a cada 4 dias e para potencial hídrico a cada 16 dias. Avaliou-se teor relativo de água (TRA), potencial hídrico (Ψ_w), taxa fotossintética (A), transpiração (E), condutância estomática (gs), concentração interna de CO₂ (Ci), eficiência do uso da água (EUA), eficiência carboxilativa da rubisco (A/Ci), fluorescência da clorofila, o teor de clorofilas e carotenoides, e viabilidade celular. A diminuição do Ψ_w levou a quedas em A, gs, e E, quanto ao carbono interno (Ci) somente plantas PR255 não distinguiram do controle, demais clones reduziram seus teores de carbono interno sob déficit hídrico. Porém, foi observada uma recuperação desses valores, para todos os clones após 15 DARI. As relações A/Ci e da EUA foram afetadas pela supressão hídrica, de forma geral com aumento da eficiência do uso da água nos clones e redução de A/Ci. O processo fotoquímico foi alterado sob déficit hídrico. O clone PR255 foi mais suscetível à seca e mostrou uma ineficiência no transporte de elétrons fotossintéticos e menor viabilidade celular. Os clones GT1, IAC40 e RRIM600 demonstraram superioridade ao clone PR255 em termos de estabilidade e eficiência na utilização de energia em condições de baixa disponibilidade de água. Sugere-se que os clones GT1, IAC 40 e RRIM 600 sejam mais tolerantes ao estresse hídrico e mais adequados para áreas não tradicionais de cultivos de seringueira que apresentem veranicos ou distribuição irregular de chuvas.

Palavras-chave: *Hevea brasiliensis*. Fotossíntese. Eficiência do uso da água. Trocas gasosas.

ABSTRACT

The objective of this study was to verify the physiological changes related to the photosynthetic process in young plants of four rubber tree clones (GT1, IAC40, PR255 and RRIM600) submitted to progressive soil water deficit and subsequent irrigation restoration. Clones with two leaflets were transplanted into PVC tubes containing a soil volume of 12.6 dm³. When the seedlings reached the third leaf release, they were submitted to 32 days of water suspension (32 DIS) in sequence. The soil rehydration was carried out for 15 days (15 DRS), totaling 47 days of experimental period. The evaluations were made at 32 DIS and at 15 DRS for gas exchange, photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence and cell viability, for the measurement of Relative water content, these were done every 4 days and for water potential every 16 days. The relative water content (TRA), water potential (Ψ_w), photosynthetic rate (A), transpiration (E), stomatal conductance (gs), internal CO₂ concentration (Ci), water use efficiency, carboxylic efficiency of rubisco (A / Ci), chlorophyll fluorescence, chlorophyll and carotenoid content, and cell viability. The decrease of Ψ_w led to decreases in A, gs, and E. In relation to the internal carbon (Ci) only PR255 plants did not distinguish from the control, other clones reduced their internal carbon contents under water deficit. However, a recovery of these values was observed for all clones after 15 DRS. The A / Ci and US ratios were affected by water suppression, generally with increased water use efficiency in clones and A / Ci reduction. The photochemical process was altered under water deficit. The PR255 clone was more susceptible to drought and showed an inefficiency in photosynthetic electron transport and lower cell viability. Clones GT1, IAC40 and RRIM600 demonstrated superiority to the PR255 clone in terms of stability and energy efficiency in conditions of low water availability. It is suggested that the clones GT1, IAC 40 and RRIM 600 are more tolerant to water stress and more suitable for non-traditional areas of rubber tree plantations that present summer or irregular distribution of rainfall.

Keywords: *Hevea brasiliensis*. Photosynthesis. Water use efficiency. Gas exchange.

1 INTRODUÇÃO

As respostas das plantas ao estresse por déficit de água é um fenômeno complexo que abrange muitos aspectos, incluindo a percepção e sinalização do estresse. São encontradas nessas condições, mudanças nos padrões de crescimento, de alocação de biomassa, diminuição da condutância estomática e assimilação de CO₂ além de alterações nos processos de osmorregulação e detoxificação nas células vegetais (Chaves et al., 2003). A análise das trocas gasosas e da fluorescência da clorofila representa um método com grande acurácia e confiabilidade para detectar as mudanças causadas pelo estresse hídrico em plantas cultivadas (Percival, 2005; Fini et al., 2009; Salvatori et al., 2014; Guo et al., 2016). O uso dos processos com a fluorescência da clorofila, índice de clorofila, temperatura da folha e assimilação de CO₂ pode ser usado como ferramenta em potencial, não destrutiva, que dá a possibilidade de visão sobre os eventos envolvidos na absorção de luz e seu posterior uso na assimilação (Silva et al., 2007).

A resposta estomática pode estar envolvida tanto devido a um suprimento hídrico insuficiente quanto a uma alta demanda evaporativa, ocasionando o fechamento dos estômatos (Fu; Huang, 2001). O fechamento parcial estomático é considerado como primeira linha de defesa do vegetal com função de manter as folhas com turgidez, evitando o dessecamento. Porém, o fechamento estomático que permite a redução do fluxo de água para fora da folha reduz também a taxa fotossintética (Nobel, 2009). A constrição estomática pode reduzir a concentração de CO₂ intercelular nas folhas e impor limitações na assimilação do CO₂ provocando um desequilíbrio entre a atividade fotoquímica no fotossistema II (PSII) e a exigência de elétrons para fotossíntese. A resistência difusiva estomática se eleva devido à desidratação e o consequente fechamento dos estômatos dificultando a saída de água e aumentando a temperatura foliar, pois como a transpiração foi reduzida, ocorrerá uma menor dissipação de calor para atmosfera (Cairo, 1995; Silva et al., 2004) conduzindo para um aumento à susceptibilidade ao foto-dano e geração de espécies reativas de oxigênio (Pan et al., 2006).

A fotossíntese pode ser afetada diretamente ou indiretamente pela diminuição da disponibilidade hídrica. Diretamente impactando negativamente no metabolismo do carbono (Chaves; Flexas; Pinheiro, 2009), devido ao fechamento estomático ou devido a processos não estomáticos como a redução da condutância do mesófilo, reduzindo a quantidade de CO₂ no sítio da Rubisco e dessa forma diminuindo a atividade de carboxilação e outros como os danos causados ao aparato fotoquímico (Silva et al., 2010).

Os pigmentos fotossintetizantes são importantes para as plantas principalmente pela sua capacidade de absorção de luz e produção de poder reductor. As clorofilas a e b podem ser foto-oxidadas em condição déficit de humidade no solo (Farooq et al., 2009). Em condições de estresse os pigmentos fotossintéticos são alterados (Anjum et al., 2003), pode ocorrer danos ao aparato fotossintético (Fu; Huang, 2001) e diminuição da atividade enzimática de enzimas chaves no ciclo de Calvin, impactando na produção de triose fosfato (Farooq et al., 2009).

No Brasil, a seringueira tem como principal zona de cultivo, as áreas nomeadas como de “escape do mal-das-folhas”, e áreas que as condições climáticas favorecem o cultivo da mesma (De Camargo et al., 2003). O cultivo de seringueira nessas regiões não tradicionais geralmente apresenta algum tipo de estresse abiótico (Wang, 2004). A presença de veranicos ou chuvas irregulares pode resultar em retardo no crescimento em mudas e a redução de fluxo de látex em árvores em produção, ocasionando em condições severas a TPD (secamento do painel) diminuído a produtividade dessas plantas (Wang, 2004).

Muitas linhas de germoplasma da *Hevea* spp. têm sido identificadas com bom potencial de tolerância à seca (Nair et al., 2005; Mercy et al., 2009; Mercy Meenakumari; Varghese, 2010). Neste contexto, o propósito deste trabalho foi avaliar a tolerância ao déficit hídrico com base nas características biofísicas e bioquímicas relacionadas com a fotoquímica, difusão e assimilação de CO₂ dos clones GT1, IAC40, PR255 e RRIM600 em condição de baixa disponibilidade de água do solo e posterior reidratação do solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Clones estudados e condições experimentais

O Experimento foi realizado no setor de Fisiologia Vegetal no departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, localizada na região sul de Minas Gerais. Cujas coordenadas geográficas são latitude 21° 14' S, longitude 45° 00' W e altitude de 918.84m. Adotando as normas climatológicas e considerando a classificação climática proposta por Koppen (Dantas et al., 2007) a classificação climática para Lavras é Cwa, ou seja, apresenta clima temperado chuvoso com inverno seco e chuvas predominantes no verão.

Os clones comerciais de seringueira usados no plantio foram: GT1, IAC40,PR 255 e RRIM 600, e doados pelo Viveiro Fiorese localizado no estado de São Paulo. Estes clones foram coletados e enviados à Universidade Federal de Lavras (UFLA) em tubetes com dimensões 35 cm x 15 cm, contendo substrato a base de casca de pinus e muda com dois lançamentos foliares. Os clones foram selecionados com base na produtividade, pois são clones considerados elites e por serem os mais cultivados no estado de Minas Gerais e São Paulo.

2.2 Preparo do substrato e transplântio das mudas

O substrato para cultivo das mudas constituiu-se da mistura entre solo, areia e esterco bovino curtido na proporção de 70% 20% e 10% respectivamente. O solo (latossolo) para compor o substrato foi obtido (na área da UFLA- Lavras) na camada entre 0 a 20 cm de profundidade. O solo foi peneirado em malha de 12.2 mm para retirada de torrões e resíduos de plantas. Após esta etapa foi disposto à secagem a sombra e em seguida foi peneirado em tela de 4 mm. Da amostra de solo foi retirado um volume conhecido do qual determinou a massa do solo (MS), obtendo-se dessa forma a densidade do solo. Esta medida de solo foi utilizada para calcular a massa necessária de solo para compor 70% em volume de mistura em cada vaso.

A areia foi peneirada em malha de 4 mm para uniformização e em seguida lavada com água corrente para eliminação de resíduos. Posteriormente, a areia passou por um processo de secagem e foi determinada a massa de areia correspondente a 20% do volume do vaso. O esterco bovino seco e curtido foi peneirado em malha de 4 mm em seguida determinou-se a densidade e massa correspondente a 10% do vaso. Após o preparo do

substrato, Foram coletadas amostras do substrato seco para análise granulométrica (teores de argila, silte e areia) e química (pH, teores dos macronutrientes), capacidade de troca catiônica – CTC, saturação por bases – V%, saturação por alumínio – m e teor de matéria orgânica- MO) no laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Lavras. Foi feita a calagem do substrato sob indicação da análise química do solo, para que a saturação por base do solo chegasse a 70% e em seguida foi feito a adubação mineral do solo com base na análise do solo.

A determinação da capacidade máxima de retenção de água foi determinada em cinco vasos aleatoriamente, que foram colocados sobre uma balança para a determinação da massa total do solo antes da adição de água. Após a pesagem, os vasos tiveram sua superfície coberta por papel de filtro para que a água fosse adicionada e distribuída sem a formação de buracos no substrato. Ao iniciar a drenagem do excesso de água e após a sua interrupção, procedeu-se uma nova pesagem do vaso. Diante disso, o valor do volume de água foi obtido através da diferença entre as pesagens, sendo essa atividade feita em todos os outros vasos.

Foram feitas aberturas no solo, no centro do vaso, no qual cada muda foi cuidadosamente introduzida. Em seguida toda a superfície total do substrato foi coberta por papel filtro para uniformizar a irrigação dos vasos. Após o transplântio, durante 20 dias, os clones foram observados diariamente quanto aos sinais de bom pegamento e nesse período foi mantida a irrigação para a manutenção da umidade próximo da capacidade de campo do solo, quando foi observada em todos os clones a presença de novos lançamentos foliares com aproximadamente.

2.3 Delineamento experimental

Em condição de casa de vegetação, as mudas de seringueiras foram transplantadas para tubos de PVC com 20 cm de diâmetro e 40 cm de altura, contendo um volume de solo de 12,6 dm³. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, formando um esquema fatorial duplo 4 x 2 (quatro genótipos) e dois regimes regimes hídricos (suspensão da irrigação e solo na capacidade de campo), As análises foram feitas aos 32 DASH (dias após a suspensão hídrica) e 15 DARI (dias após a reirrigação), totalizando 8 tratamentos com quatro repetições. Cada parcela experimental foi constituída por uma planta totalizando 64 vasos.

Durante o período de aclimação ao substrato em que um dos sinais de adaptabilidade visíveis são os novos lançamentos foliares, todos os clones foram submetidos à irrigação de manutenção do solo próximo a capacidade de campo. Logo após essa etapa, foi dado início a indução dos tratamentos com a suspensão da rega. O estado hídrico do solo e planta foi monitorado pelo potencial hídrico (Ψ_w), teor relativo de água (TRA) do potencial mátrico do solo (Ψ_m) e expansão das folhas que teve duração de 32 dias quando um dos clones (PR255) cessou completamente seu crescimento e as plantas apresentaram sintomas visíveis de dessecação e queda de folhas. Aos 32 DASH a suspensão da rega foi interrompida e o solo foi novamente irrigado. No período de reirrigação o solo foi mantido próximo a capacidade de campo durante 15 dias, totalizando um período experimental de 47 dias. O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar foi feito através de termohigrômetro portátil WatchDog 1450 Data Logger (Spectrum Technologies, Inc.). Através destes dados foi calculado o DPV segundo a seguinte fórmula

$$DPV = 0,61137 * EXP((17,502 * T) / (240,97 + T)) * (1 - (UR / 100))$$

T representa a temperatura (°C) e UR, umidade relativa (%)

Os dados de DPV, temperatura e umidade relativa foram para a caracterização das condições da casa de vegetação durante o experimento.

As avaliações bioquímicas e ecofisiológicas foram realizadas aos 32 DASH, (dias após a suspensão hídrica) e 15 DARI (dias após a reirrigação). Excetuando-se as avaliações de teor relativo de água que foram realizadas a cada quatro dias e de potencial hídrico realizados aos 0, 16, 32 e 47 de período experimental.

2.4 Curva de retenção de água do solo

A curva de retenção de água do substrato, por secamento foi determinada conforme Embrapa (1997) no laboratório de física do solo da UFLA, a partir de amostras deformadas, previamente peneiradas, que, depois de saturadas por, no mínimo, 12 horas, foram levadas à câmara de pressão de Richards com placa porosa, para estabilização, adotando-se um tempo não inferior a três dias, e posterior determinação da umidade gravimétrica (U), correspondente às tensões de 0.1; 0.33; 1; 5 e 15 atm, com três repetições. A umidade volumétrica (θ) para cada uma das tensões foi obtida pelo produto da umidade gravimétrica pela densidade do solo ($\theta = U.D_s$). Os valores médios de umidade volumétrica na curva de retenção do substrato foram ajustados utilizando-se o modelo matemático proposto por

Van Genuchten (1980).

2.5 Trocas Gasosas

As trocas gasosas foram medidas utilizando-se o analisador de gás portátil infravermelho (IRGA – LI6400XT Portable Photosynthesis System, LI-COR, Lincon, USA) em folhas completamente expandidas do folíolo central. As avaliações realizadas foram: taxa fotossintética líquida (A), concentração subestomática de CO₂ (C_i), condutância estomática (g_s) e transpiração (E). A eficiência de carboxilação (CE) e a eficiência do uso da água instantânea (EUA) foram obtidas pelas relações A/C_i e A/E, respectivamente. Foram realizadas duas avaliações de trocas gasosas sendo estas: aos 32 dias após da suspensão da irrigação e após 15 dias de reirrigação do substrato. Todas as avaliações foram realizadas em dias claros, entre 09h00min e 10h00min horas (horário solar).

2.6 Potencial hídrico e teor relativo de água

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi determinado em folhas utilizando uma bomba de pressão de acordo com Scholander et al. (1965). Todas as medidas foram feitas em folhas completamente expandidas, estágio D (no segundo ou terceiro lançamento foliar a partir do porta-enxerto para a base) aos 0, 16, 20, 32 DASH e 15 DARI, sempre na antemã (entre 04h30min e 05h30min horas), em temperatura média de 17 °C, para evitar os efeitos inibitórios da luminosidade e da temperatura sobre o potencial hídrico.

O teor relativo de água (TRA) foi obtido através da metodologia descrita por Barrs e Wheelerley (1962), em que foram coletados discos foliares de 1 cm² de folha e imediatamente foram pesados em balança analítica para a obtenção do peso da massa fresca. Em seguida os discos foliares foram colocados em placa de petri contendo papel filtro e assim saturados em água deionizada sob refrigeração durante 12 horas. Após esse período os discos foram colocados em papel toalha para retirada do excesso de água e pesados para obter o peso da massa túrgida (PMT). Em sequência os discos foliares foram levados a estufa de circulação forçada de ar a 65 °C durante três dias, obtendo-se dessa maneira o peso da massa seca (PMS). O teor relativo de água foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{TRA}(\%) = (\text{PMF} - \text{PMS} / \text{PMT} - \text{PMS}) \times 100$$

2.7 Fluorescência da clorofila

As características de fluorescência da clorofila foram obtidas por um fluorômetro portátil de amplitude de pulso modulado (MINI-PAM-1999, Walz, Efeltrich, Alemanha) utilizando folhas completamente expandidas. Foi feita a curva de resposta ao fluxo de fótons fotossintéticos (FFF), com aplicação de oito pulsus crescente de intensidade de reação, obtendo-se valores de fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_M), fluorescência variável (F_V) determinado pela diferença entre F_0 e F_M e eficiência fotoquímica aparente do fotossistema II (F'_m/F_M). O valor de eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II (F_v/F_M). A partir desses valores serão calculados o quenching fotoquímico (q_p), quenching não fotoquímico (q_n), o coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) e a taxa relativa de transporte de elétrons (ETR).

2.8 Clorofilas e Carotenóides

Para a determinação dos teores de clorofilas e carotenóides foram macerados 0,1g de tecido foliar completamente expandido de cada tratamento em acetona 80%. O volume final foi completado para 10 mL, sendo realizadas as leituras espectrofotométricas a 646,8 e 663,3 nm e, para os teores de carotenóides foram realizadas leituras a 470 nm, conforme metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001).

2.9 Análise de dados

Para a análise univariada, os dados obtidos foram submetidos primeiramente ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$), e ao Bartlett ($p \geq 0,05$) teste para verificar a homocedasticidade das variâncias. Os dados considerados dentro da normalidade e como homogeneidade das variâncias foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e teste de médias por Scott-Knott (1974) ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico R (R Core Team, 2014) utilizando os pacotes ExpeDes, Lattice e ggplot.

3 RESULTADOS

3.1 Temperatura e DPV durante o período experimental

Durante o período de suspensão hídrica estabelecido de novembro a dezembro/2016 e subsequente reirrigação do solo que compreendeu um período de 15 dias após o período de simulação da seca, foram observadas temperaturas médias máximas durante o dia entre 27 °C e 29 °C respectivamente (Figura 1A). O verão húmido com um déficit de pressão de vapor (DPV) (Figura 1B) variando de 4 a 16 hPa em DASH e 10 a 18 hPa em DARI. Para monitoramento da umidade do solo foi determinada a curva de retenção de água (Fig. 2).

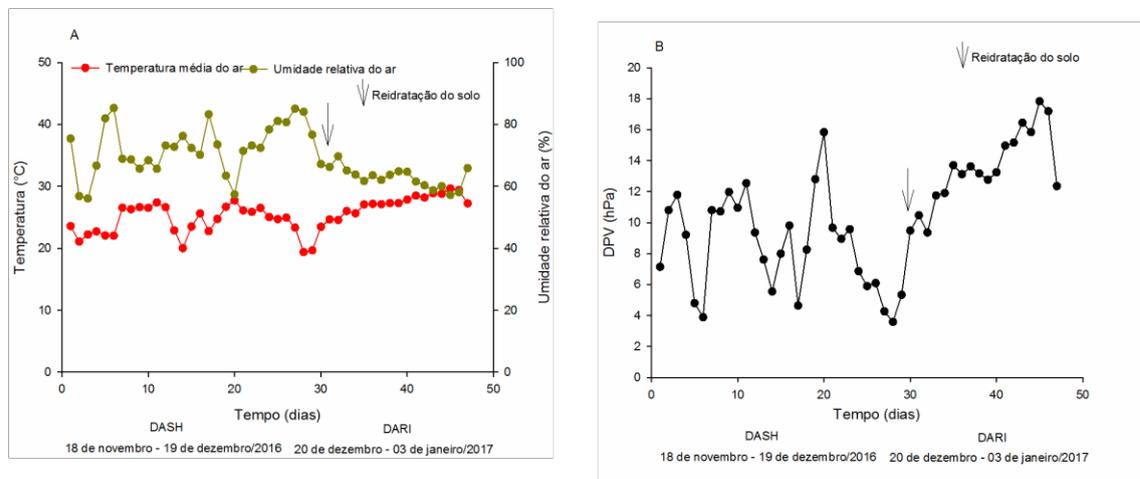


Figura 1. (a) Temperatura média diária e umidade relativa do ar (%) e (b) déficit de pressão de vapor atmosférico (DPV) durante o período experimental

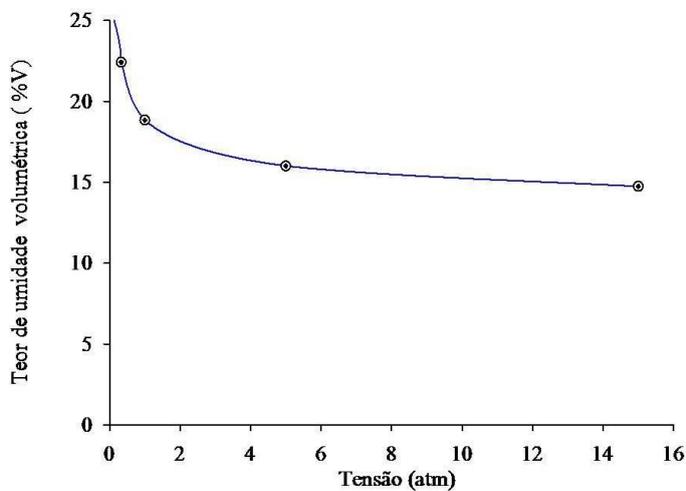


Figura 2. Curva de retenção de água no solo. Determinação da umidade gravimétrica (U), com tensões correspondentes a 0.10; 0.33; 1; 5; e 15 atm.

3.2 Estado hídrico das plantas

Quanto ao teor relativo de água (TRA), nos oito primeiros dias após o início da suspensão hídrica, não foi verificada diferença significativa entre os clones, sendo que, os valores de TRA permaneceram próximos a 90% (Figura 1). Nas plantas irrigadas, ocorreu variação entre 86 e 91% durante todo período experimental, enquanto que, naquelas submetidas ao déficit hídrico, houve redução progressiva até o 32^o dia, com valores entre 54 e 64%. Aos 4 DARI todos os clones já haviam recuperado a turgescência foliar como mostra a figura 5.

Em relação ao potencial hídrico (Ψ_w) (Figura 2), aos 16 DASH ocorreu redução nos clones, porém de forma mais significativa no clone PR255. Aos 32 DASH, o Ψ_w das plantas irrigadas mantiveram-se próximos de -0.3 MPa, já para plantas sob déficit hídrico esse valores foram de -1.2, - 1.6, -1.7 e -1,6 MPa para RRIM600, IAC 40, PR 255 e GT1 respectivamente. Estes valores de Ψ_w representam uma redução de, aproximadamente, quatro vezes o Ψ_w das plantas controle, o que estão relacionados a visualização de murcha e queda das folhas. Aos 15 DARI os valores do Ψ_w foram recuperados, porém no clone PR255 os valores foram menores que o controle.

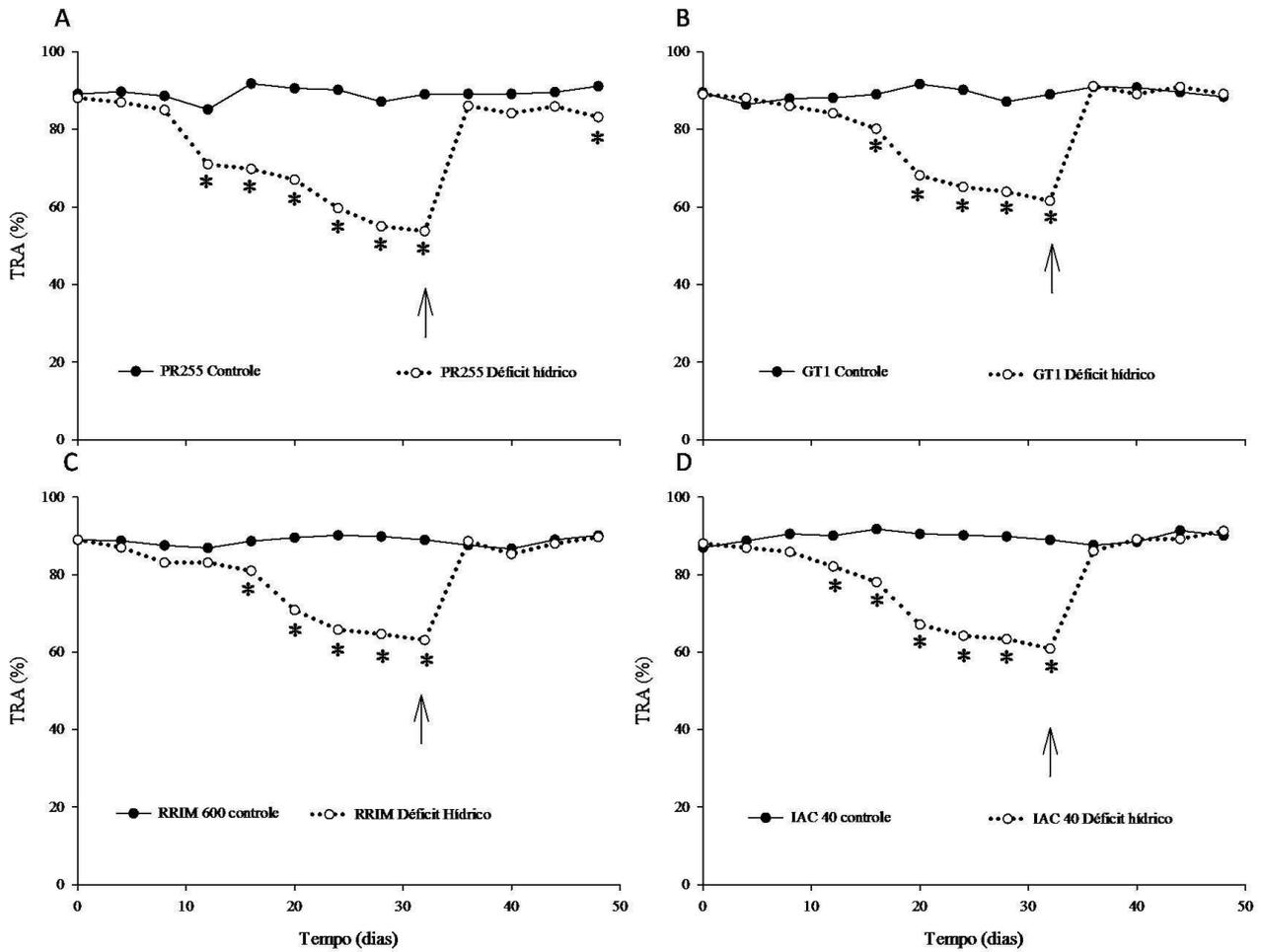


Figura 3. Teor relativo de água (TRA) em em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). (*) indica diferenças significativas com 0.05 de probabilidade entre controle e deficit hídrico dentro de cada clone, seta indica reidratação do solo

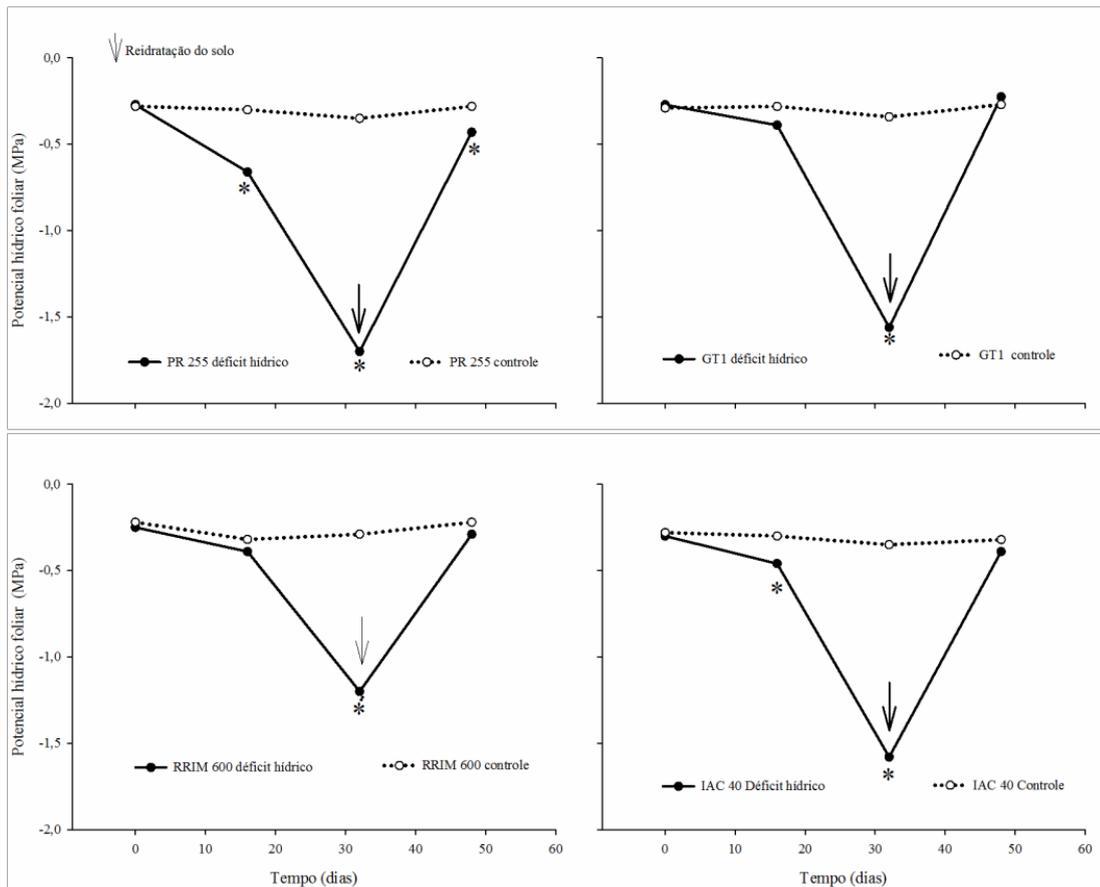


Figura 4. Potencial hídrico (Ψ_w) em em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). (*) indica diferenças significativas com 0.05 de probabilidade entre controle e deficit hídrico dentro de cada clone, seta indica reidratação do solo

3.3 Trocas gasosas

No período de suspensão de irrigação (32 DASH), houve redução nos valores médios de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), e transpiração (E) (Fig.5). A taxa fotossintética dos genótipos (Fig.5a), variou significativamente em condições de baixa disponibilidade de água, entre valores de $2,20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $2,36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em 15 DARI os clones, RRIM 600, IAC 40, PR255 e GT1 que foram submetidos ao tratamento de seca tiveram seus valores de fotossíntese aumentada, porém, para os clones GT1, PR255 e RRIM600 ainda apresentaram valores menores que seus controles.

Os valores da condutância estomática (g_s) (Figura 5b) do grupo sob suspensão da irrigação indicaram um decréscimo com relação ao controle de 93% para RRIM 60 e de 91% para GT1, 88% para IAC40 e 83% para PR255. Após suspensão do estresse, para todos os genótipos, aliada à abertura dos estômatos, houve uma retomada das trocas gasosas não havendo diferenças entre os clones para (g_s) comparado com plantas irrigadas. Para os valores de carbono interno (C_i) (Fig. 5d), apenas o clone PR255 manteve a concentração de C_i igual ao controle, e para os outros clones houve uma redução aos 32 DASH. Em 15 DARI, os valores de C_i dos clones reirrigados mantiveram-se similares ao do controle.

O déficit hídrico afetou a transpiração (Fig. 5C) nos clones de seringueira, em 32 DASH, os clones RRIM600, IAC40, PR255 e GT1 apresentaram reduções significativas comparada aos respectivos controles. Ao final do período, com a reirrigação, como esperado, houve um aumento significativo na transpiração para todos os clones que foram submetidos ao déficit hídrico, e estes não apresentaram diferenças quando comparado as plantas irrigadas.

Durante o déficit hídrico, ocorreu um aumento significativo na eficiência do uso da água (EUA) (Figura 6a), nos clones GT1, IAC40 e RRIM600. Não obstante, o clone PR255 não apresentou mudanças na taxa de EUA que manteve igual a plantas controle. Após a reidratação do solo, em comparação com o valor obtido as plantas controles, não houve diferença significativa nos valores de EUA. Quanto à eficiência carboxilativa da rubisco (A/C_i) (Figura 6b), observou-se redução acentuada nas plantas sob déficit hídrico apresentando comportamento semelhante ao obtido em (A), (g_s) e (E). Após 15 DARI nos clones, estes valores foram iguais aos valores observados em plantas controles.

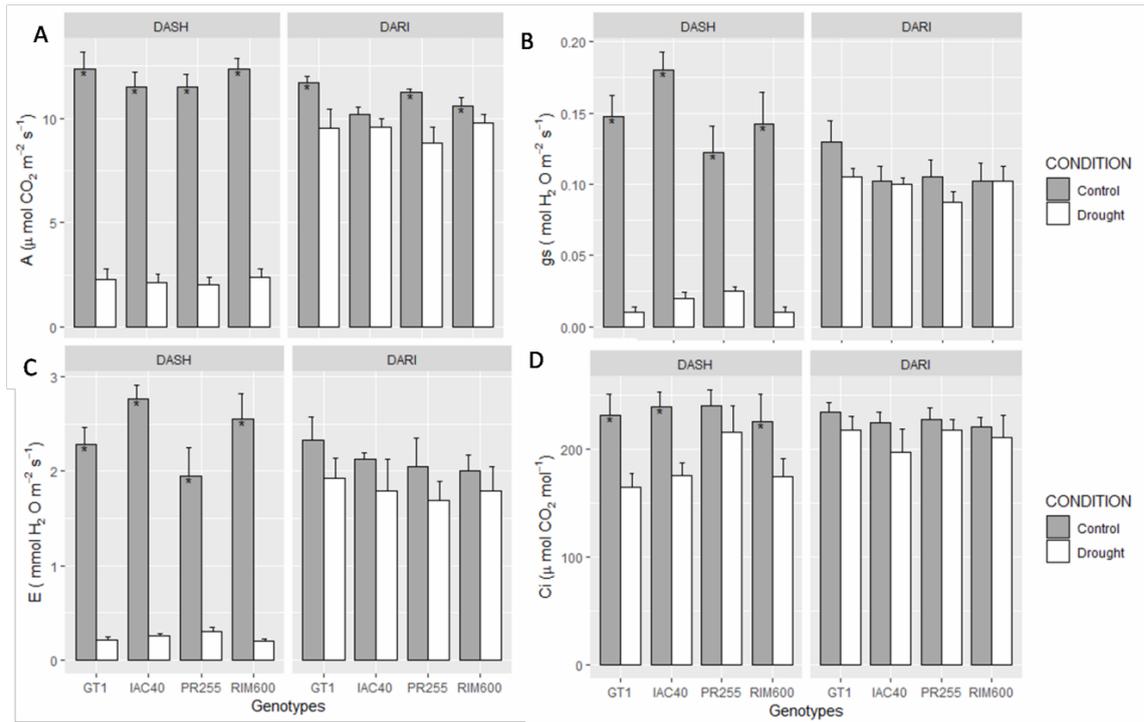


Figura 5. (A) fotossíntese (A), (B) condutância estomática (gs), (Ci) carbono interno e (D) transpiração (E) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

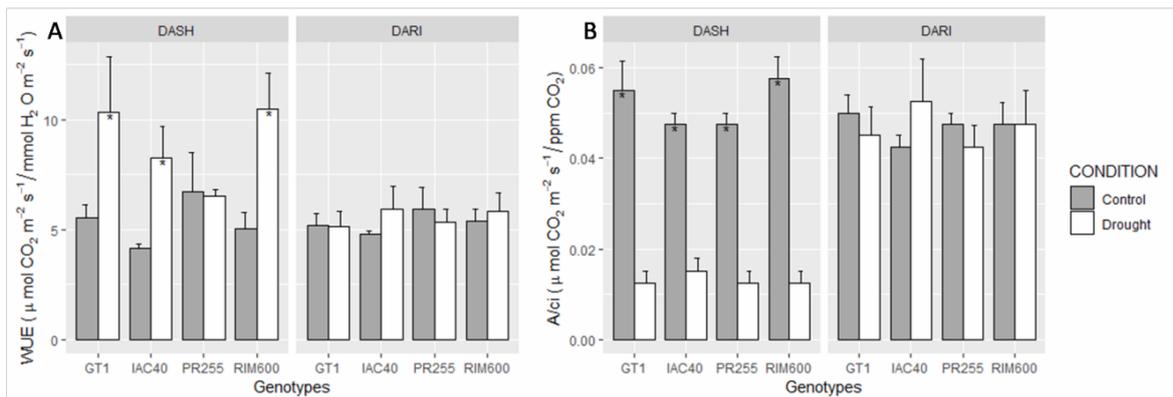


Figura 6. Eficiência do uso da água (A), eficiência carboxilativa da rubisco(B) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de restabelecimento da irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

3.4 Fluorescência da clorofila

O quenching fotoquímico (qP), diminuiu à medida do déficit hídrico, alcançando valores médios mínimos de 0.2 no final do período de DASH para todos os clones (Tab. 1). O quenching não fotoquímico em tiveram seus valores aumentados em todos os clones sob déficit hídrico em DASH. Em DARI, não foram observadas diferenças entre o tratamento irrigado e plantas reirrigadas. Em relação à funcionalidade dos fotossistemas usando de características dinâmicas da fluorescência de chl os resultados mostram que sob condições de solo próximo a capacidade de campo, a eficiência máxima de captura de energia nos centros PSII oxidados, indicada pela relação F_v / F_m (rendimento quântico potencial) permaneceu próxima a 0,8. Em plantas sob déficit hídrico os maiores valores médios foram encontrados no clone GT1 (0.5) seguidos por IAC40 e RRIM600 (0.4) e por último PR255 (0.3). Em DARI não foi observado diferenças entre plantas irrigadas e reirrigadas. Em DASH, a variável de rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}) apresentou valores próximos a 0.39 em plantas irrigadas e uma redução significativa para todos os genótipos submetidos a suspensão da irrigação (Tab.1). A capacidade intrínseca do aparelho fotossintético, definida como a taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) máxima, atingiu um valor médios próximos a 30 nas plantas irrigadas para todos os clones. Porém, a exposição das plantas ao déficit hídrico levou a uma queda no transporte de elétrons de cerca de 50% .

qP					
Genotype	DASH		DARI		
	Control	Drought	Control	Rewatered	
GT1	0.7 ± 0.02 Aa	0.2 ± 0.05 Bb	0.7 ± 0.02 Aa	0.7 ± 0.04 Aa	
IAC40	0.8 ± 0.03 Aa	0.2 ± 0.03 Bb	0.8 ± 0.05 Aa	0.7 ± 0.04 Aa	
PR255	0.8 ± 0.02 Aa	0.2 ± 0.04 Bb	0.7 ± 0.02 Aa	0.7 ± 0.03 Aa	
RRIM600	0.7 ± 0.01 Aa	0.3 ± 0.02 Bb	0.8 ± 0.03 Aa	0.7 ± 0.03 Aa	
NPQ					
Genotype	DASH		DARI		
	Control	Drought	Control	Rewatered	
GT1	1.5 ± 0.23 Aa	3.2 ± 0.17 Bb	1.4 ± 0.19 Aa	1.8 ± 0.17 Aa	
IAC40	1.4 ± 0.21 Aa	2.9 ± 0.32 Bb	1.3 ± 0.22 Aa	1.5 ± 0.15 Aa	
PR255	1.6 ± 0.20 Aa	3.7 ± 0.21 Bb	1.5 ± 0.10 Aa	1.6 ± 0.19 Aa	
RRIM600	1.4 ± 0.22 Aa	3.1 ± 0.15 Bb	1.4 ± 0.15 Aa	1.3 ± 0.26 Aa	
Fv/Fm					
Genotype	DASH		DARI		
	Control	Drought	Control	Rewatered	
GT1	0.8 ± 0.03 Aa	0.5 ± 0.01 Ab	0.8 ± 0.04 Aa	0.8 ± 0.07 Aa	
IAC40	0.8 ± 0.04 Aa	0.4 ± 0.04 Bb	0.8 ± 0.03 Aa	0.8 ± 0.05 Aa	
PR255	0.8 ± 0.08 Aa	0.3 ± 0.02 Cb	0.7 ± 0.05 Aa	0.7 ± 0.08 Aa	
RRIM600	0.8 ± 0.05 Aa	0.4 ± 0.03 Bb	0.8 ± 0.04 Aa	0.7 ± 0.04 Aa	
ΦPSII					
Genotype	DASH		DARI		
	Control	Drought	Control	Rewatered	
GT1	0.39 ± 0.06 Aa	0.14 ± 0.03 Bb	0.38 ± 0.05 Aa	0.38 ± 0.03 Aa	
IAC40	0.37 ± 0.03 Aa	0.14 ± 0.02 Bb	0.40 ± 0.04 Aa	0.38 ± 0.04 Aa	
PR255	0.37 ± 0.04 Aa	0.11 ± 0.01 Bb	0.36 ± 0.06 Aa	0.37 ± 0.03 Aa	
RRIM600	0.39 ± 0.04 Aa	0.16 ± 0.03 Bb	0.40 ± 0.07 Aa	0.37 ± 0.03 Aa	
ETR					
Genotype	DASH		DARI		
	Control	Drought	Control	Rewatered	
GT1	28 ± 3.3 Aa	13 ± 1.4 Bb	27,00 ± 3.6 Aa	27 ± 2.5 Aa	
IAC40	28 ± 2.3 Aa	12 ± 1.7 Bb	28,00 ± 2.9 Aa	27 ± 3.1 Aa	
PR255	25 ± 2.7 Aa	11 ± 2.2 Bb	27,00 ± 2.5 Aa	26 ± 2.1 Aa	
RRIM600	31 ± 2.8 Aa	14 ± 0.9 Bb	30,00 ± 2.3 Aa	30 ± 3.3 Aa	

Tabela 1. Quenching fotoquímico (qP), quenching não fotoquímico (NPQ), rendimento quântico potencial do PSII (FV/Fm), rendimento quântico efetivo (ΦPSII) e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de restabelecimento da irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. Letra maiúsculas comparam os clones dentro de cada condição (controle e déficit hídrico), letras minúsculas comparam os tratamentos controle e déficit hídrico dentro de cada clone, letras diferentes indicam diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

3.5 Clorofila e Carotenoides

Mudas de seringueira submetidas a 32 dias de suspensão hídrica (DASH) apresentaram reduções significativas nos teores de clorofila “a”, “b” e clorofila total (Figura 5) em todos os clones. Após a reirrigação do solo, os teores desses pigmentos

permaneceram iguais. Em relação à razão clorofila a/b (Figura 5d) aos 32 DASH, apenas no clone RRIM 600, houve aumento da razão de clorofila “a” e “b” nas plantas sob déficit hídrico. Após posterior reidratação do solo as plantas reirrigadas não apresentaram diferenças entre plantas controles.

No período de supressão hídrica, houve um acúmulo significativo de carotenoides nos genótipos (Figura 6), com valores médios próximos a 1,2 mg. Com o restabelecimento da irrigação em 15 DARI ocorreu a redução desses teores para valores similares ao grupo controle.

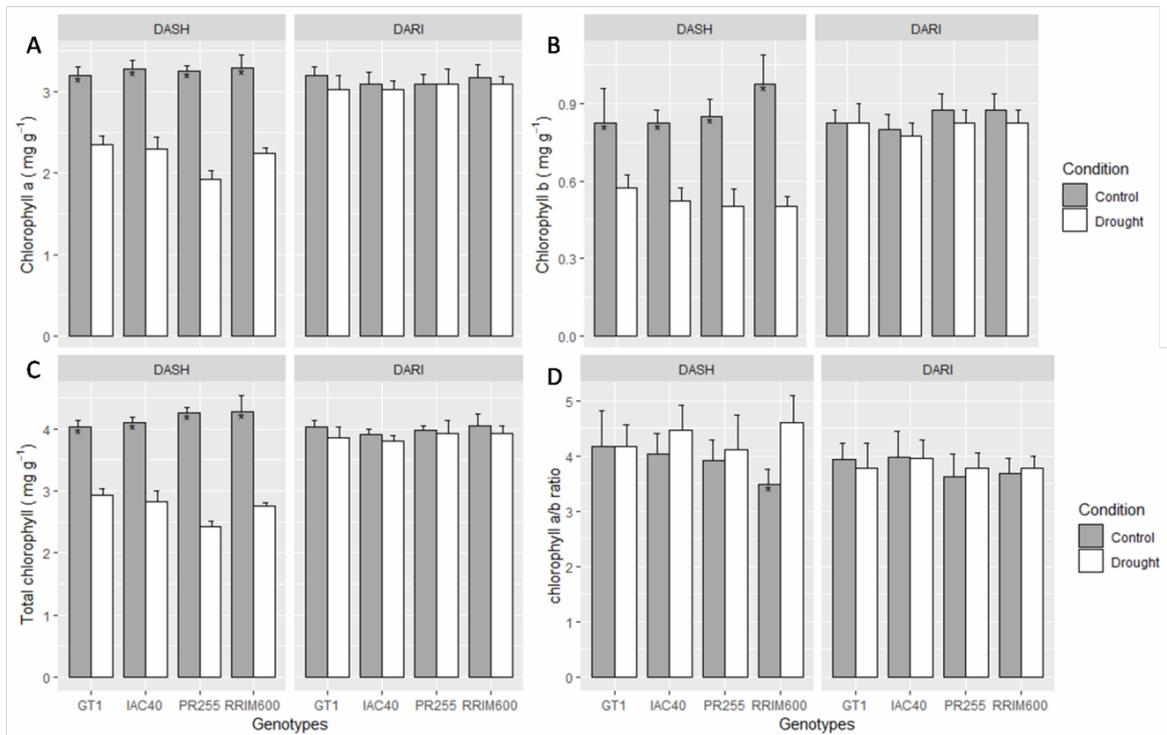


Figura 5. Teores de clorofila “a” (A) e clorofila “b” (B), clorofila total (C) e razão de clorofila “a” /”b” em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

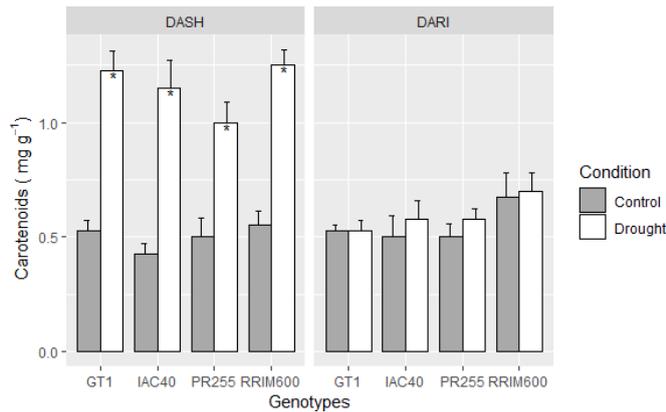


Figura 6. Teores de carotenoides em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

4 DISCUSSÃO

A redução da turgescência observada pelo monitoramento do Ψ_w e no TRA durante o período de 32 DASH demonstrou um decréscimo de aproximadamente 3 vezes menor que o controle, as plantas nessas condições apresentaram amarelecimento de folhas e senescência induzida pelo déficit hídrico. Os clones RRIM 600 e GT1 mantiveram seus potenciais de turgescência até os 16 DASH apresentando maiores valores de Ψ_w (Fig. 6) e não se destituindo do controle, padrão esse, acompanhado pelo TRA.

É relatado que em clones RRIM600 e GT1, a plasticidade fenotípica aliada à capacidade de fechamento estomático pode ser uma grande vantagem de adaptação a seca. Nessas condições, os estômatos fecham-se totalmente após um período de 11 dias sem regas para RRIM 600 e de 13 dias para GT1 (CONFORTO, 2008). Dependendo da intensidade do estresse, A velocidade do fechamento estomático favorece a manutenção da turgescência celular, podendo prevenir processos degenerativos no metabolismo (Brunini; Cardoso, 1998). Quanto a este aspecto, neste estudo os clones RRIM 600 e GT1 manifestaram antecipadamente as respostas à seca. Os clones IAC 40 e PR 255 apresentaram redução significativa no Ψ_w já 16 DASH, diferenciando-se da turgescência mantida pelos clones RRIM600 e GT1 da que provavelmente devido ao fechamento estomático. Aos 15 DARI ocorreu a recuperação do potencial hídrico em todos os clones, porém o PR255 apresentou menores valores destituindo-se do seu respectivo controle, esse

resultado pode ser explicado pelo fenômeno de enrijecimento da parede celular, processo importante na elasticidade celular que interfere na turgescência e processos de abertura estomática e crescimento (Melo et al., 2007).

A manutenção do conteúdo hídrico é consequência direta do fechamento estomático (Souza et al., 2005) entretanto, em condições de déficit hídrico pode haver um aumento da temperatura na folha, uma vez que não ocorre dissipação de calor por meio da transpiração (TARDIEU, 2005). Apesar do aumento na temperatura aos 32 DASH (Fig. 8) a taxa de transpiração em todos os clones ainda que pequena (Fig. 7D), não chegou a zero. Fato esse, que provavelmente está ligado com a capacidade de transpiração cuticular observada em seringueira (KRISHNA et al., 1991). Dessa forma, a perda de vapor pela cutícula como um atenuante, evitando o aquecimento excessivo do folíolo (TARDIEU, 2005), favorecendo a continuação do processo fotossintético por um determinado tempo.

Baixa disponibilidade de água é o principal fator ambiental limitante da fotossíntese e do crescimento das plantas (ALI; ASHRAF, 2011). No presente estudo, o déficit hídrico reduziu a taxa fotossintética foliar em todos os clones (fig. 6A). Como um processo chave do metabolismo primário, a fotossíntese desempenha um papel central no desempenho das plantas sob seca (PINHEIRO e CHAVES, 2011). A inibição da fotossíntese pelo baixo conteúdo de água no solo pode ser devido ao fechamento dos estômatos (YIN; STRUIK, 2005) ou à limitação não-estomática (DRAKE et al., 2017). Os resultados demonstraram que os valores reduzidos de A sob tratamento de seca foram acompanhados por uma diminuição significativa em G_s , E e C_i em todos os clones com exceção do clone PR255 em que os valores de C_i se mativeram similares ao controle. Estes resultados sugerem que os fatores estomáticos foram responsáveis por essa redução na fotossíntese nos clones GT1, IAC40 e RRIM600, já no clone PR255 embora a seca tenha levado ao fechamento parcial dos estômatos, esse fechamento não limitou a oferta de CO_2 intercelular para o sítio de fixação de CO_2 . A manutenção do C_i quando Ψ_w é baixo sugere uma diminuição da atividade dos mecanismos de assimilação de CO_2 diminuindo a eficiência de carboxilação (A/C_i) (FARQUHAR; SHARKEY, 1982) mostrado na figura 6B. A inibição da fotossíntese líquida sob estresse hídrico pode resultar em parte em uma menor difusão de CO_2 através do mesófilo das folhas (FLEXAS et al., 2002). Quando há um suprimento abundante de água, é comum ter uma pequena resposta para C_i , porque isso reduz a tendência dos estômatos de restringir o fornecimento de CO_2 para a fotossíntese. No entanto, se os suprimentos de água forem limitados no solo, a prioridade da “maquinaria

fotossintética” muda de maximizar a assimilação de CO₂ para restringir a transpiração. Em 15 DARI as plantas reidratadas apresentaram uma eficiência de carboxilação igual ao grupo controle que é devido ao restabelecimento da condutância estomática, normalizando o processo fotossintético.

A eficiência do uso da água (EUA) é usada para descrever processos acoplados de assimilação de carbono e da transpiração da água para a atmosfera (NELSON et al., 2018). A EUA (Fig. 8A) é um indicador comum das taxas relativas desses processos (PONTON et al., 2006; BEER et al., 2009; YANG; LONG; SHANG, 2013). Esse indicador tem sido amplamente utilizado para avaliar os impactos do recursos hídricos sob o crescimento das plantas ou para avaliar os “custos da água” dentro do ciclo do carbono (conversão do CO₂ atmosférico em biomassa através da fotossíntese). Além disso, A EUA pode indicar estratégias de uso da água pelas plantas em diferentes ambientes (TANG et al., 2014). Os clones RRIM 600, IAC40 e GT1 mostraram-se mais eficientes em otimizar o ganho de carbono enquanto minimizam a perda de água. A eficiência do uso da água confere a planta uma competitiva vantagem em situações que a água é um fator limitante (FLEXAS et al., 2013; NADA; ABOGADALLAH, 2014; MAUREL; VERDOUCQ; RODRIGUES, 2016)A clorofila é essencial para a fotossíntese das plantas, que permite às plantas obter energia da luz (ZAI et al., 2012). Em nosso estudo, o conteúdo de clorofila “a”, “b” e clorofila total tiveram tendências similares ao longo do período seco, em que foi observada uma redução em todos os clones mais acentuadamente no clone PR255. Avaliando a razão entre clorofila “a” e “b”, a maior relação notada em clones de plantas RRIM600 é advindo de maiores teores de clorofila “a”. É bem fundamentado que o aumento da severidade do estresse hídrico é um dos principais fatores que agem na degradação da clorofila. A redução do teor de clorofila foliar nessas condições reduz a eficiência fotossintética (Fig. 5A e 5B), no entanto, plantas que são capazes de manter o teor de clorofilas por mais tempo também podem ter uma maior fotossíntese (ARABZADEH, 2009). É bem fundamentado que a diminuição do conteúdo de clorofila pode estar mais relacionado com a falta de nitrogênio do que o déficit hídrico (RUBIO-COVARRUBIAS et al., 2009), já que a baixa disponibilidade de água no solo diminuí a absorção de (N) favorecendo a senescência precoce da folha sob essa condição (GALLÉ; HALDIMANN; FELLER, 2007).

As plantas quando submetidas ao estresse hídrico podem reduzir os teores de pigmentos fotossintetizantes devido a danos oxidativos. Porém em condições estressantes as plantas podem sintetizar metabolitos antioxidantes que protegem seu aparato

fotossintético, tais como os carotenóides e a prolina (FAROOQ et al., 2009). Quanto ao teor de carotenóide (Fig. 5) todos os clones sob déficit hídrico apresentaram um aumento no seu conteúdo ao final dos 32 DASH, que pode ser devido a eficiência na manutenção do potencial hídrico foliar e na condutância estomática durante o período de estresse (Chandrashekar et al., 1994). Os genótipos RRIM 600, IAC 40 e GT1 também apresentaram menos amarelecimento quando comparado ao PR255, fato atribuído principalmente ao déficit de água que gera um desequilíbrio provocando um aumento da relação carotenóides e clorofila (SERGE; LEONAR, 2004). Krishan (2017) estudando o efeito da seca em clones de *Hevea brasiliensis*, encontrou melhor desempenho dos clones RRIM 600, IRCA 111 e RRII 430 na acumulação de carotenóides e clorofilas. Nascimento (2017) avaliando as características morfofisiológicas de plantas jovens de *Hevea brasiliensis* submetidas à diferentes ambientes lumínicos e ao estresse hídrico, foi observado um aumento nos teores de carotenóides sob essa condição.

O acúmulo de prolina em plantas sob vários tipos de estresse é amplamente conhecido e exaustivamente estudado como sendo um mecanismo de proteção em diferentes estresses abióticos e bióticos (LA et al., 2019). Tem sido documentado em diferentes espécies que o acúmulo de prolina é importante no processo de ajustamento osmótico favorecendo a capacidade da planta em tolerar à desidratação celular, causada por salinidade, seca ou temperaturas extremas (Chen et al., 2007). A acumulação de osmólitos citoplasmáticos ativos como a prolina favorece a manutenção da turgescência devido a redução do potencial hídrico celular o que pode permitir que a água se mova para dentro da célula (Burritt, 2012). Além do potencial antioxidante, relacionado com a detoxificação de espécies reativas de oxigênio (REJEB et al., 2014).

O presente dado mostrou que nas plantas expostas à seca, o teor de prolina aumentou substancialmente (em média cerca de 4 vezes em comparação ao controle). Notou-se também que o menor acúmulo de prolina encontrados no clone PR255, pode em partes sugerir, uma maior sensibilidade à seca devido ao fato que nessas condições a síntese de prolina pode aliviar o aparato fotossintético contra a fotoinibição. Tem sido relatado que a síntese de prolina pode atenuar o efeito da fotoinibição sobre o aparato fotossintético pelo redirecionamento de NADPH para produção de prolina, podendo aliviar a sobre carga nos centros de reações sendo um dreno direto de elétrons (DOBRA et al. 2011). Neste sentido, seria possível considerar que no clone PR255 as maiores quedas no ETR, Φ PSII e na relação F_v / F_m estão relacionados com os menores acúmulos de prolina e menor proteção contra fotoinibição.

Nos clones RRIM600 e GT1, onde maiores conteúdos de prolina encontrados também foi observado menores acúmulos o acúmulo de H₂O₂ em DASH (Fig. 9). O aumento do dano oxidativo causado pelos altos teores de H₂O₂ em DASH desencadeou a morte celular nos clones, porém com intensidades diferentes, com maiores valores para plantas PR255 (Fig 10.) associados também com maior redução da massa seca comparado aos demais clones (Fig. 1).

Sob estresse hídrico, as perturbações geradas aos centros de reação do inibem a fotoquímica afetando dessa forma todos os processos envolvidos no transporte de elétrons dos centros de reações para os carreadores, incluindo a quinona A (QA), quinona B (QB), e pools de plastoquinona (PQ) (Mehta et al., 2010; Zushi e Matsuzoe, 2017). Em consequência do déficit hídrico o clones de seringueira tiveram os valores de qP, Fv/Fm, ΦPSII, ETR, reduzidos e um aumento em NPQ aos 32 DASH. Estes eventos indicam que o fechamento estomático após 32 dias supressão hídrica reduziu o suprimento de CO₂ para os cloroplastos, ocasionando a redução não somente da taxa fotossintética como também da ETR, o que induziu o aumento da dissipação de calor através do NPQ, como forma de proteger o PSII de danos inibitórios. Não obstante, o déficit hídrico foi intenso o suficiente para indicar alterações no fluxo de elétrons reduzindo os valores de Fv/Fm.

A queda nos valores de Fv/Fm em condição de déficit hídrico está relacionada com maior fotoinibição nas plantas. Nesse sentido, o resultado encontrado nesse trabalho indica inibição mais elevada no clone PR255 comparado aos outros clones (Tab. 1). O declínio da relação Fv/Fm evidencia um baixo rendimento no processo fotoquímico, em consequência de danos na estrutura e na funcionalidade no centro de reação do PSII (Falqueto et al., 2017). Os menores valores de Fv/Fm pode estar ligado a sobrecarga dos sistemas antioxidantes assim como a redução de moléculas funcionais protetoras do aparato fotossintético. Avaliando dois clones de seringueira RRIM 600 e FX380 sob déficit hídrico, Falqueto et al., (2017) também encontrou um declínio de Fv/Fm no qual, o clone FX380, apresentou maior fotoinibição.

5 CONCLUSÃO

Considerando todos os resultados obtidos neste estudo, concluímos que o tratamento progressivo de déficit hídrico impactou negativamente o crescimento e nas características biofísicas e bioquímicas com diferentes intensidades nos clones estudados. Baseando-se nas respostas dos clones à baixa disponibilidade de água podemos concluir que o clone PR255 apresentou menor tolerância ao estresse quando avaliado no estágio inicial de desenvolvimento/ estabelecimento. Além disso, nesse estudo demonstrou relação entre o dano oxidativo com o acúmulo de osmólitos e tolerância.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, Q.; ASHRAF, M. Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: growth, photosynthesis, water relations and oxidative defence mechanism. **J. Agron. Crop Sci**, v. 197, p. 258-271, 2011.
- ANJUM, F.; YASEEN, M.; RASUL, E.; WAHID, A.; ANJUM, S. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). Effect on chemical composition and chlorophyll content. **Pakistan Journal of Agriculture Science**, v. 40, p. 45-49, 2003.
- ARABZADEH, N. **The examination of dryness induction effect in growth, some of physiological relations (parameters of water relations), physiological changes and increasing of drought tolerance range in *Haloxylon persicum* and *H. aphyllum***, Thesis submitted for degree of Ph.D in plant physiology. Department of Biology Sciences, Teacher Training (Tarbiyat Moallem) University of Tehran, 2009.
- BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P.E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian journal of Biological Science**, v. 273 n. 15, p.413-428, 1962.
- BEER, C. et al. Temporal and among-site variability of inherent water use efficiency at the ecosystem level. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 23, n. 2, n/a–n/a, 2009.
- BRUNINI, O.; CARDOSO, M. Efeito do déficit hídrico do solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1053-1060, 1998.
- BURRIT, J., D. Proline and the Cryopreservation of Plant Tissues: Functions and Practical Applications. **Current Frontiers in Cryopreservation**, 2002.
- CAIRO, P. A. R. **Curso básico de relações hídricas de plantas**. UESB. 1995. p. 32.
- CHAVES, M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.
- CHAVES, M. M.; Maroco, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought- from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239- 264, 2003.
- CHEN, T. H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Curr Opin Plant Biol**, v. 5, p. 250-7, 2002.
- CONFORTO, E. C. (2008). Respostas fisiológicas ao déficit hídrico em duas cultivares enxertadas de seringueira (“RRIM 600” e “GT 1”) crescidas em campo. *Ciência Rural*, v.

38, n. 3, p. 679–684.

DANTAS, A. A. A.; CARVALHO, L. G. D.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1862-1866, 2007.

DE CAMARGO et al. Zoneamento climático da Heveicultura no Brasil. **Embrapa Monitoramento por Satélite-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.

DOBRÁ, J. et al. Tobacco leaves and roots differ in the expression of proline metabolism-related genes in the course of drought stress and subsequent recovery. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 13, p. 1588-1597, 2011.

DRAKE, J. et al. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis for four tree species under drought: A comparison of model formulations. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 24, p. 454– 466, 2017.

FALQUETO, A. R. et al. Effects of drought stress on chlorophyll a fluorescence in two rubber tree clones. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 238-243, 2017.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress:

Effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v.29, p. 185-212, 2009.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Boca Raton, v. 33, p. 317-345, 1982
FLEXAS, J. et al. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. **Functional Plant Biology**, v. 29, p. 461–471, 2002.

FLEXAS, J. et al., Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency. **Photosynth Res**, v. 117, p. 45–59, 2013.

FINI, A.; FERRINI, F.; FRANGI, P.; AMOROSO, G.; PIATTI, R. Withholding irrigation during the establishment phase affected growth and physiology of Norway maple (*Acer platanoides*) and linden (*Tilia spp.*). **Arboric. Urban For.** v. 35, p. 241–251, 2009.

FU, J.; HUANG, B. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool season grasses to localized drought stress. **Environmental Experimental Botany**, v.45, n. 2, p. 105- 114, 2001.

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

GUO, Y. Y.; YU, H. Y.; KONG, D.S.; YAN, F.; ZHANG, Y. J. Effects of drought stress on growth and chlorophyll fluorescence of *Lycium ruthenicum* Murr seedlings. **Photosynthetica**, v. 54, p. 524– 531, 2016.

KRISHAN, B. Assessment of drought tolerance in few clones of natural Rubber (**Hevea brasiliensis**) under dry hot climate of Odisha. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, India*, v. 5, n. 1, p. 106-110, 2017

LA, V. H. et al. Characterization of salicylic acid-mediated modulation of the drought stress responses: Reactive oxygen species, proline, and redox state in *Brassica napus*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 157, p. 1–10, 2019.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. et al. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. Davis: John Wiley and Sons, p. 1-8, 2001.

MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; RODRIGUES, O. Aquaporins and plant transpiration. **Plant Cell and Environment**, v. 39, n. 11, p. 2580-2587, 2016.

MELO, H.C. et al. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 145-153, 2007.

MERCY, M. A.; MEENA S.; REGHU, C. P.; VARGHESE, Y. A. **Preliminary Field screening of wild Hevea germplasm for tolerance to drought**. IRRDB Natural Rubber Conference, Indonesia, 2009.

MERCY, M. A.; MEENAKUMARI, T.; VARGHESE, Y. A. Pot culture experiment on screening for tolerance to drought in a set of wild Hevea germplasm. **Indian Journal of Plant Genetic Resources**, v. 23, n. 1, p. 4-10, 2010.

MEHTA, P.; ALLAKHVERDIEV, S.I.; JAJOO, A. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). **Photosynth. Res.** v. 105, p. 249– 255, 2010.

NADA, R. M.; ABOGADALLAH, G. M. Aquaporins are major determinants of water use efficiency of rice plants in the field. **Plant Science**, v. 227, p. 165-180, 2014. NAIR, D. B. et al. **Screening of wild Hevea germplasm accessions for intrinsic drought tolerance traits**. International Natural Rubber Conference India, Preprints of papers, p. 62-67, 2005.

NASCIMENTO, N.F . Características morfofisiológicas de plantas jovens de *Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr de Juss.) Muell. Arg.) submetidas a diferentes ambientes lumínicos e ao estresse hídrico. 2017. Dissertação (Ciências de Florestas Tropicais (CFT)) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

NELSON, J. A. et al. Coupling water and carbon fluxes to constrain estimates of transpiration: the tea algorithm. **Journal of geophysical research: Biogeosciences**, v. 123, n. 12, p. 3617–3632, 2018.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. 4 ed (quarta

edição, inglês), San Diego: CA Academic Press. 2009. p. 582.

PAN, X. et al. The influence of abiotic stress and phenotypic plasticity on the distribution of invasive *Alternanthera philoxeroides* along a riparian zone. **Acta Oecologica**, v.30, p. 333–341, 2006.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, v.62, p.869-882, 2011.

PONTON, S. et al. Comparison of ecosystem water use efficiency among Douglas-fir forest, aspen forest and grassland using eddy covariance and carbon isotope techniques. **Global Change Biology**, v. 12, p. 294–310, 2006.

REJEB, K. B, ABDELLY, C., SAVOURÉ, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 80, p. 278–284, 2014.

RUBIO-COVARRUBIAS, O. A. et al. Evaluating foliar nitrogen compounds as indicators of nitrogen status in prunus pérsica trees. **Sci Hortic**. v. 120, p. 27-33, 2009.

SALVATORI, E. et al. Plant stress analysis Application of prompt, delayed chlorophyll fluorescence and 820 nm modulated reflectance. Insights from independent experiments. **Plant Physiol. Biochem**, v. 85, p. 105–113, 2014.

SCHOLANDER, P.F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy Science**, v.51, p.119-125, 1965.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington D.C., v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SERGE, M. B; LEONOR, A. Die and let life: Leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. **Functional Plant Biology**, v. 31, p. 203-216, 2004.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SILVA, J. A. G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina v. 19, n. 3, p. 193-201, 2007.

SILVA, E. C. et al. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. **Série Botânica**, Porto Alegre, v. 59, n. 2, p. 201-205, 2004.

SILVA, E. N. et al. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, Chubut, v. 74, n. 10, p. 1130- 1137, 2010.

TANG, X. et al. 2014. How is water-use efficiency of terrestrial ecosystems distributed and changing on Earth? **Scientific Reports**, v. 4, n.1 p. n/a- n/a, 2014.

TARDIEU, F. Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress. **Comptes Rendus Geoscience**, Paris, v.337, n.1-2, p.57-67, 2005

VAN GENUCHTEN, M.T. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Sci Soc Am J**, v. 44, p. 892-898, 1980.

WANG, L. F. Physiological and molecular responses to drought stress in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Plant Physiol Biochem**, v. 83, p. 243-9, 2014.

YANG, Y., LONG, D.; SHANG, S. Remote estimation of terrestrial evapotranspiration without using meteorological data. **Geophys. Res. Lett.** v. 40, p. 3026–3030, 2013.

Yin, X.; STRUIK, P. C. Theoretical reconsiderations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ diffusion in leaves of C₃ plants by analysis of combined gas exchange and chlorophyll fluorescence measurements. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p.1513–1524, 2009.

ZAI X. M. et al., Effect of *Glomus mosseae* on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters, and chloroplast ultrastructure of beach plum (*Prunus maritima*) under NaCl stress. **Photosyntheica**, v. 50, p. 323–328, 2012.

ZUSHI, K.; MATSUZOE, N. Using of chlorophyll a fluorescence OJIP transients for sensing saltstress in the leaves and fruits of tomato. **Scientia Horticulturae**, v.219 p.216–221, 2017.

CAPÍTULO III- METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E SISTEMAS ANTIOXIDANTES EM CLONES DE SERINGUEIRA (*Hevea spp.*) EM FUNÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO.

RESUMO

O estudo teve como objetivo verificar possíveis alterações fisiológicas relacionadas com o comportamento de clones de seringueira submetidos a condições de baixa disponibilidade de água no solo, avaliando o metabolismo do carbono, antioxidante e osmólitos orgânicos. Plantas jovens de quatro clones de seringueira (GT1, IAC40, PR255 e RRIM600). Quando as mudas atingiram o terceiro lançamento foliar, foram submetidas a 32 dias de suspensão hídrica (32 DASH). Após esse período de supressão hídrica, foi feita a reidratação do solo por 15 dias (15 DARI), totalizando 47 dias de período experimental. As avaliações foram feitas aos 32 DASH e aos 15 DARI. Avaliou-se a massa seca foliar (MS), teor de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), proteínas totais, aminoácidos, atividade das isoformas das invertases; parede celular (IAPC); neutra do citosol (INC); ácida do vacúolo (IAV), atividade da sacarose sintase (SuSy), sacarose fosfato sintase (SPS) sistema antioxidante enzimático; dismutase do superóxido (SOD); catalase (CAT); peroxidase do ascorbato (APX), conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (MDA), teores de prolina (PRO) e glicina betaína (GB). Observou-se um aumento no teor de AST e AR e aminoácidos para todos os clones em 32 DASH. Em relação a proteínas solúveis totais, amido, e as enzimas IAPC, INC, SUSY e SPS com exceção do clone GT1 (SPS), ocorreu uma redução em todos os clones aos 15 DARI. Quanto a IAV, no período de suspensão da irrigação, os clones GT1 e RRIM600 foram os únicos que tiveram aumentadas a atividade da IAV em comparação ao controle. O déficit hídrico estimulou o sistema antioxidante enzimático, as enzimas; SOD, CAT e APX de uma maneira geral tiveram suas atividades aumentadas com o retorno dos valores em 15 DARI. Neste estudo, foi observada uma elevação nos teores de H_2O_2 sob déficit hídrico, em que após o restabelecimento da irrigação, os clones RRIM600, IAC40 e PR255 continuaram com maiores teores comparados ao controle. Os teores de peroxidação lipídica (MDA), atingiram maiores teores devido à baixa disponibilidade hídrica e em DARI notou-se o restabelecimento desses teores, não demonstrando diferenças entre os tratamentos. A deficiência hídrica promoveu um acúmulo nos teores de PRO e GB e como nas demais características, após a reidratação do substrato esses teores foram similares aos seus respectivos controles. Os clones GT1, IAC40 e RRIM600 demonstraram superioridade ao clone PR255 em termos de estabilidade e eficiência na utilização de energia e atividade antioxidante e acúmulo de osmólitos orgânicos em condições de baixa disponibilidade de água. Sugere-se que os clones GT1, IAC 40 e RRIM 600 sejam mais tolerantes ao estresse hídrico e mais adequados para áreas não tradicionais de cultivos de seringueira que apresentem veranicos ou distribuição irregular de chuvas

Palavras-chave: Enzimas sacarolíticas. Lipoperóxidos. Osmorreguladores.

ABSTRACT

The aim of the present work was to evaluate possible physiological changes related to behavior of rubber tree clones submitted to conditions of low water availability in the soil, evaluating saccharolytic enzymes, enzymatic antioxidant systems, starch, soluble proteins and the production of osmoregulatory molecules. The rubber tree seedlings clones (RRIM600, IAC40, PR255 e GT1), was submitted to progressive drought and further rewetting. Leaf dry matter, total soluble sugars (AST), reducing sugars, amino acids, isoform activity of invertases; cell wall (IAPC); neutrophil cytosol (INC); (IAV), sucrose synthase activity (SuSy), phosphate synthase (SPS), enzymatic antioxidant system; superoxide dismutase (SOD); catalase (CAT); peroxidase (APX), hydrogen peroxide (H_2O_2) content, lipid peroxidation (MDA), proline (PRO) and glycine betaine (GB) contents. At 32 DIS, a lower accumulation of dry leaf mass was observed for all the clones, in 15 DRS the plants also presented a lower accumulation compared to irrigated plants. An increase in the content of AST and AR and amino acids was observed for all clones in 32 DIS. At 15 DRS for these characteristics, there were the reestablishment of these contents with values equal to that of the control. In relation to total proteins, starch IAPC, INC and SUSY, a decrease occurred in all the clones at 32 DIS and after the restoration of the irrigation, no differences were observed compared to irrigated plants with the exception of the GT1 clone that did not differ in the activity of the SPS enzyme. The water deficit stimulated the enzymatic antioxidant system, the enzymes; SOD, CAT and APX in general had their activities increased with the return of values in 15 DRS in which the activity of the antioxidant enzymes remained similar to the control. In this study, an increase was observed in H_2O_2 contents under water deficit, in which, after restoration of irrigation, RRIM600, IAC40 and PR255 clones continued with higher levels compared to control. The levels of lipid peroxidation (MDA), reached higher levels due to the low water availability and in DRS it was noticed the reestablishment of these contents, not showing differences between the treatments. The water deficiency promoted an accumulation in the contents of PRO and GB and as in the other characteristics, after the rehydration of the substrate these contents were similar to their respective controls. Clones GT1, IAC40 and RRIM600 showed superiority to clone PR255 in terms of stability and efficiency in the use of energy and antioxidant activity and accumulation of organic osmolytes under conditions of low availability of water. It is suggested that the clones GT1, IAC 40 and RRIM 600 are more tolerant to water stress and more suitable for non-traditional areas of rubber tree plantations that present summer or irregular distribution of rainfall.

Keywords: Saccharolytic enzymes. Lipoperoxides. Osmoregulators.

1 INTRODUÇÃO

Em um cenário atual de mudanças climáticas e / ou com longos períodos sem precipitação, as culturas podem ser afetadas pelo estresse hídrico (Debaeke *et al.*, 2017). As áreas dedicadas a sistemas de produção de alimentos e produtos advindos de sistemas florestais poderão diminuir resultando em uma menor produção agrícola (Farooq e O'brien, 2012). Assim, todas as culturas agrícolas e florestais e até as culturas moderadamente tolerantes à seca, como a seringueira poderão ser comprometidas por essas condições. Durante as últimas décadas, eventos de seca severa tem se tornado frequentes sendo registrados em escala global (Miyan, 2015), o que faz a gestão do estresse hídrico um desafio.

Os longos períodos de estiagem e altas temperaturas em algumas dessas áreas impõem restrições que limitam o crescimento e a produção de látex (Gururaja Rao *et al.*, 1990), a extensão das plantações para estas áreas marginais, portanto, exigem clones mais adaptados. Estudos tem revelado um alto grau polimorfismo entre as espécies silvestres e cultivadas de seringueiras sendo possível encontrar materiais genéticos com níveis distintos de tolerância à seca. Diferentes taxas de crescimento (Chandrashekar *et al.*, 1998; Souza *et al.*, 2013) e rendimento de látex (Priyadarshan *et al.*, 2005) foram relatados para clones de seringueira a partir de áreas sub-ótimas, esses clones também podem apresentar variabilidade na tolerância a seca (Luzia Dourado *et al.*, 2018).

O estresse por déficit hídrico é um dos principais fatores limitantes do crescimento e rendimento de plantas. A seca é um dos fatores mais importantes que interferem nos processos relacionados com o metabolismo do carboidrato (Ashraf e Harris, 2013). O papel dos açúcares durante o estresse pode ser tanto pela proteção das membranas prevenindo sua oxidação e/ou pela eliminação de radicais livres Krasensky e Jonak (2012). Os açúcares solúveis também são responsáveis por manter a turgidez foliar evitando a desidratação celular (Crowe *et al.*, 1992; Griffiths *et al.*, 2016). Segundo Liu *et al.* (2007) a acumulação de açúcares também reduzem as taxas fotossintéticas e favorecem a manutenção do teor de água na folha pelo ajuste osmótico frente às condições de estresse sob seca. Dependendo das condições ambientais, a taxa de acumulação de açúcares solúveis e redutores podem variar em genótipos dentro de uma mesma espécie (Kameli e M. Loseldelta, 1993), e é bem fundamentado que genótipos que apresentam maior acumulação de açúcar nas folhas ou raízes podem também apresentar uma maior tolerância a desidratação(Adams *et al.*, 2013).

A sacarose pode ter um papel importante na tolerância à seca, sendo assim, é essencial entender como é regulada a atividade enzimática e como o déficit e recuperação afetam seu

metabolismo de síntese e hidrólise. O metabolismo de sacarose pode ser regulado por rápidas mudanças na atividade da sacarose fosfato sintase (SPS), sacarose sintase (SuSy) e invertase (INV) (Huber e Huber, 1996). A sacarose-fosfato sintase catalisa a síntese de sacarose-fosfato a partir do uracil-difosfato (UDP) – glicose e frutose-6-fosfato, e esta reação ocorre predominantemente no citosol do tecido foliar. A atividade de SPS foliar é frequentemente correlacionada com a taxa de síntese e exportação de sacarose, porém em diferentes espécies a resposta ao déficit hídrico pode levar a um aumento na atividade SPS e em outras espécies é relatado uma redução na atividade da enzima (Fresneau *et al.*, 2007).

Existem duas enzimas em plantas superiores que catalisam a reação de clivagem de sacarose: sacarose sintase (SuSy, EC 2.4.1.13) e as invertases (INV, EC 3.2.1.26). A SuSy é uma importante enzima citoplasmática que desempenha papel fundamental no metabolismo do açúcar (Koch, 2004), catalisando a síntese e clivagem de sacarose (Geigenberger e Stitt, 1993; Wei *et al.*, 2015). Na via hidrolítica a SuSy degrada a sacarose na presença de UDP em UDP-glicose e frutose. O entendimento atual indica que a SuSy está envolvida principalmente na biossíntese de polímeros de açúcar, incluindo amido, celulose e geração de energia (ATP) nos tecidos drenos (Chourey *et al.*, 1998; Coleman *et al.*, 2009).

A atividade da INV parece ter uma gama de funções reguladoras no crescimento e desenvolvimento durante a seca, além do seu papel principal no metabolismo primário do carbono e no particionamento e na regulação no fluxo fotoassimilados entre fonte e dreno (Barratt *et al.*, 2009). As isorformas das invertases têm suas atividades baseadas no pH e estão localizada em diferentes compartimentos. As invertases ácidas encontradas no vacúolo (INV AV) e parede celular (INV PC) tem com pH ótimo de 4.5 – 5.5 (Sturm, 1999), a invertase neutra/alcalina está presente no citoplasma (INC) nas faixas de pH entre 7.0 – 7.8. Em condição de estresse abiótico, a atividade das isorformas de invertase pode ser regulada pela expressão de genes que atuam em rotas repressoras ou que induzam a síntese das isoenzimas. O perfil de expressão gênica pode variar entre diferentes materiais genéticos, clones que apresentam uma melhor regulação do metabolismo do carbono nessas condições também são favorecidos com maior adaptabilidade à seca (Roitsch (Weber e Roitsch, 2000).

A Inibição da fotossíntese e dissipação de energia são eventos comuns sob estresse hídrico em muitas espécies de plantas, que refletem instabilidade e mudanças no transporte de elétrons no PSII (Zivcak *et al.*, 2014). A homeostase redox é necessária para manter o ambiente ou compartimento celular a favor dos processos biológicos, de forma a manter um baixo nível ERO's geradas como subproduto do metabolismo vegetal. Processos fisiológicos são responsáveis pela geração normal de EROs [O₂ (oxigênio singlete), O₂^{•-} (radical superóxido),

$^{\circ}\text{OH}$ (radical hidroxila) e H_2O_2 (peróxido de hidrogênio)], as ERO's também estão envolvidas no desenvolvimento das plantas e são descritas como mensageiras secundárias na expressão de genes atuantes na regulação de vários vias metabólicas (Foyer e Noctor, 2005).

O estresse abiótico e biótico, pode desencadear perturbação no estado redox basal, que subsequentemente gera altos níveis de ERO's. Os principais sítios de produção de radicais livres são os fotossistemas I e II nos cloroplastos e os complexos I e III da cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias (Gill e Tuteja, 2010). O estádio reativo dessas moléculas danifica os componentes da célula, incluindo proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. As plantas possuem um eficiente sistema de defesa, que consiste em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os sistemas antioxidante de eliminação das EROs desempenham um papel essencial na manutenção da homeostase redox. Os antioxidantes enzimáticos consistem nas enzimas SOD, CAT, APX e o ciclo glutaciona-ascorbato (AsA-GSH) que englobam as enzimas glutaciona redutase (GR), monodesidroascorbato redutase (MDHAR), redutase de desidroascorbato (DHAR), glutaciona peroxidase (GPX) e glutaciona S- transferase (GST) (Karatat et al., 2014). Os antioxidantes não enzimáticos; ácido ascórbico (AsA), glutaciona (GSH) compostos fenólicos, carotenóides, alcalóides, aminoácidos não proteicos e α - tocoferóis (Sharma *et al.*, 2012).

O déficit hídrico contribui também para acumulação de compostos solúveis de baixo peso molecular denominado osmoprotetores. Esses osmolitos são representados pelas betainas (glicina betaína), açúcares solúveis (sacarose, trealose, manitol e sorbitol), poliaminas, prolina e aminoácidos (Chen e Murata, 2002; Seki *et al.*, 2007; Per *et al.*, 2017). A síntese e acúmulo dessas moléculas diminuem o potencial hídrico celular, mantendo a pressão de turgescência dentro da célula e também evitando a oxidação de macromoléculas pelas ERO's (Farooq e O'Brien, 2012).

Neste sentido, embora a influência do déficit hídrico no crescimento e desenvolvimento de clones de seringueira já foi estudada anteriormente com diferentes abordagens fisiológicas, nesse estudo abordamos as respostas ao déficit hídrico na fase de implantação de cultura, com uma visão global do metabolismo do carbono, assim como o efeito da seca e posterior recuperação nos sistemas antioxidantes enzimáticos, não enzimático e acúmulo de osmolito orgânicos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Aquisição dos clones e condições experimentais

O Experimento foi realizado no setor de Fisiologia Vegetal no departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, localizada na região sul de Minas Gerais. Cujas coordenadas geográficas são latitude 21° 14' S, longitude 45° 00' W e altitude de 918.84m. Adotando as normas climatológicas e considerando a classificação climática proposta por Koppen (Dantas *et al.*, 2007) a classificação climática para Lavras é Cwa, ou seja, apresenta clima temperado chuvoso com inverno seco e chuvas predominantes no verão.

Os clones comerciais de seringueira usados no plantio foram: RRIM 600, PR 255, IAC 40 e GT1 doados pelo Viveiro Fiorese localizado no estado de São Paulo. Estes clones foram coletados e enviados à Universidade Federal de Lavras (UFLA) em tubetes com dimensões 35 cm x 15 cm, contendo substrato a base de casca de pinus e muda com dois lançamentos foliares. Os clones foram selecionados com base na produtividade, pois são clones considerados elites e por serem os mais cultivados no estado de Minas Gerais e São Paulo.

2.2 Preparo do substrato e transplântio das mudas

O substrato para cultivo das mudas constituiu-se da mistura entre solo, areia e esterco bovino curtido na proporção de 70% 20% e 10% respectivamente. O solo (latossolo) para compor o substrato foi obtido (na área da UFLA- Lavras) na camada entre 0 a 20 cm de profundidade. O solo foi peneirado em malha de 12.2 mm para retirada de torrões e resíduos de plantas. Após esta etapa foi disposto à secagem a sombra e em seguida foi peneirado em tela de 4 mm. Da amostra de solo foi retirado um volume conhecido do qual determinou a massa do solo (MS), obtendo-se dessa forma a densidade do solo. Esta medida de solo foi utilizada para calcular a massa necessária de solo para compor 70% em volume de mistura em cada vaso.

A areia foi peneirada em malha de 4 mm para uniformização e em seguida lavada com água corrente para eliminação de resíduos. Posteriormente, a areia passou por um processo de secagem e foi determinada a massa de areia correspondente a 20% do volume do vaso. O esterco bovino seco e curtido foi peneirado em malha de 4 mm em seguida determinou-se a densidade e massa correspondente a 10% do vaso. Após o preparo do substrato, Foram coletadas amostras do substrato seco para análise granulométrica (teores de argila, silte e areia) e química (pH, teores dos macronutrientes), capacidade de troca catiônica – CTC, saturação por bases – V%, saturação por alumínio – m e teor de matéria orgânica- MO) no laboratório de Análise de Solos

da Universidade Federal de Lavras. Foi feita a calagem do substrato sob indicação da análise química do solo, para que a saturação por base do solo chegasse a 70% e em seguida foi feita a adubação mineral do solo com base na análise do solo.

A determinação da capacidade máxima de retenção de água foi determinada em cinco vasos aleatoriamente, que foram colocados sobre uma balança para a determinação da massa total do solo antes da adição de água. Após a pesagem, os vasos tiveram sua superfície coberta por papel de filtro para que a água fosse adicionada e distribuída sem a formação de buracos no substrato. Ao iniciar a drenagem do excesso de água e após a sua interrupção, procedeu-se uma nova pesagem do vaso. Diante disso, o valor do volume de água foi obtido através da diferença entre as pesagens, sendo essa atividade feita em todos os outros vasos.

Foram feitas aberturas no solo, no centro do vaso, no qual cada muda foi cuidadosamente introduzida. Em seguida toda a superfície total do substrato foi coberta por papel filtro para uniformizar a irrigação dos vasos. Após o transplante, durante 20 dias, os clones foram observados diariamente quanto aos sinais de bom pegamento e nesse período foi mantida a irrigação para a manutenção da umidade próximo da capacidade de campo do solo, quando foi observada em todos os clones a presença de novos lançamentos foliares com aproximadamente.

2.3 Delineamento experimental e Análise dos dados

Em condições de casa de vegetação, as mudas de seringueiras foram transplantadas para tubos de PVC com 20 cm de diâmetro e 40 cm de altura, totalizando um volume de solo de 12,6 dm³. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro clones (GT1, IAC40, PR255 e RRIM 600) duas condições de irrigação (suspensão da irrigação e solo na capacidade de campo) e duas coletas (ao final do período seco - DASH e após 15 da reidratação do solo - DARI), com 4 repetições, sendo que cada parcela experimental foi constituída por 1 planta totalizando 64 vasos. Durante o período de aclimação ao substrato um dos sinais de adaptabilidade visíveis foram os novos lançamentos foliares, nesta fase, todos os clones foram submetidos à irrigação de manutenção do solo próximo a capacidade de campo. Logo após essa etapa, foi dado início a indução dos tratamentos com a suspensão da rega.

A suspensão da rega foi monitorada pela diminuição do potencial mátrico do solo, potencial hídrico das plantas e expansão das folhas que teve duração de 32 dias quando as folhas cessaram completamente seu crescimento e as plantas apresentaram sintomas visíveis de dessecação e queda das folhas. A suspensão da rega foi interrompida e o solo foi novamente

irrigado. No período de reirrigação o solo foi mantido na capacidade de campo durante 15 dias. As avaliações bioquímicas e foram realizadas aos 32 DASH (dias após a suspensão hídrica) e após 15 DARI (dias após a reirrigação).

Para a análise univariada, os dados obtidos foram submetidos primeiramente ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($p \geq 0,05$), e ao bartlett ($p \geq 0,05$) teste para verificar a homocedasticidade das variâncias. Os dados considerados dentro da normalidade e como homogeneidade das variâncias foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e teste de médias por Scott-Knott (1974) ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico R (R Core Team, 2014) utilizando os pacotes ExpeDes, Lattice e ggplot.

2.4 Massa seca do limbo foliar

Foram coletadas amostras do limbo foliar em 32 DASH e 15 DARI. A massa seca do limbo foliar foi obtida de amostras secas em estufa de ventilação forçada de ar à 70°C até peso constante.

2.5 Carboidratos solúveis, amido, proteínas solúveis e aminoácidos.

As macromoléculas foram extraídas da massa seca de folhas pela homogeneização de 200 mg de massa seca em 5ml de tampão fosfato de potássio, 100 mM, pH 7,0, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40 °C. O homogenato foi centrifugado a 10000g por 20 minutos, coletando-se o sobrenadante. O processo foi repetido por duas vezes e os sobrenadantes, combinados (Zanandrea *et al.*, 2010). Para extração do amido, o pellet foi ressuspenso com 8ml do tampão acetato de potássio 200 mM, pH 4,8. Em seguida, foram adicionadas 2ml da enzima amiloglucosidase, incubando-se em banho-maria a 40°C por duas horas. Após a centrifugação a 10.000g por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 15ml. Para a quantificação de amido e açúcares solúveis totais, foi utilizado o método da Antrona (Dische, 1962). Os teores de açúcares redutores foram realizados seguindo protocolo descrito por Miller (1959), a quantificação de aminoácidos pelo método da Ninhidrina (Yemm *et al.*, 1955) e os teores de proteínas pelo método de Bradford (1976).

2.6 Atividade das isoformas de invertase

Foram avaliadas as atividades das três isoformas de invertase: ácida do vacúolo (INV VA), neutra do citosol (INV NC) e ácida da parede (INV PC), em amostras de tecidos de folhas coletadas aos 32 DASH e 15 DARI. Amostras de 0,5 g de folha foram maceradas em N₂ líquido.

Em seguida adicionou-se 1,5 mL de meio extrator constituído de tampão fosfato de potássio (100 mM pH 7,5), PMSF (1 mM), MgCl₂ (5 mM) e DTT (1 mM). Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 18.000 g a 4 °C, durante 20 minutos (Araquém *et al.*, 2015). O sobrenadante foi utilizado como fonte bruta das enzimas para avaliação da atividade das invertases solúveis e o pellet utilizado para extrair a invertase ácida da parede. Para a extração da invertase ácida da parede, a metodologia foi realizada de acordo com (Fahrendorf e Beck, 1990), com algumas modificações. Foi utilizado o mesmo tampão de extração das invertases solúveis, no entanto, foram adicionados NaCl 1M e Triton-X (1%). Posteriormente, centrifugou-se, a 18.000 g a 4°C, durante 20 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a realização do ensaio enzimático. O meio de reação (2 mL) para as invertases solúveis foi constituído de tampão citrato de sódio 0,4M pH 4,5, MgCl₂ 5 mM e sacarose 200 mM, ou tampão fosfato de potássio 0,2 M e pH 7,5, MgCl₂ 5 mM e sacarose 200 mM para isoformas vacuolar e citosólica respectivamente. Para invertase apoplástica, o meio de reação (1,5 mL) foi constituído de tampão acetato de sódio 0,1 M e pH 3,5, MgCl₂ 5 mM e sacarose 200 mM. A temperatura de incubação para ambas foi de 37 °C e alíquotas foram coletadas aos 10 e 70 minutos para determinação das atividades enzimáticas, as quais foram avaliadas pela quantificação de açúcares redutores produzidos, segundo o método DNS descrito por Miller (1959). As atividades foram expressas em µmol de açúcares redutores (AR) por grama de matéria fresca por hora.

2.7 Enzimas do metabolismo antioxidante, Teor de prolina e Glicina betaína e conteúdo de H₂O₂

Os extratos enzimáticos foram obtidos a partir de 200 mg de tecidos foliares macerados em N₂ líquido acrescido de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) insolúvel, adicionou-se 1,5 mL do tampão de extração composto de: Fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), EDTA 10 mM e ácido ascórbico 200 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado foi utilizado para quantificação das atividades da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX). A atividade da SOD foi estimada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis e Ries, 1977). As leituras foram realizadas a 560 nm. Em unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio. A atividade da CAT foi determinada conforme Havir e Mchale (1987). A atividade dessa enzima foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi 36 mM⁻¹ cm⁻¹, conforme descrito por Azevedo *et al.* (1998). A

atividade da APX foi determinada segundo Asada e Nakano (1981), por meio do monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm e o coeficiente de extinção molar utilizado foi de $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Para a quantificação de prolina foi utilizado o método descrito por (Torello e Rice, 1986) com pequenas modificações. Amostras de 500 mg de matéria fresca de folhas foram primeiramente homogeneizadas manualmente em gral de porcelana, com 10 ml de ácido sulfosalicílico a 3% e, em seguida, submetidas à centrifugação a $6250 \times g$ durante 20 minutos. Em tubo de ensaio, contendo 2 ml de sobrenadante, foram adicionados 2 ml de ninhidrina ácida e 2 ml de ácido acético glacial. Em seguida as amostras foram mantidas 1 hora em banho-maria fervente. Após resfriamento por imersão em banho de gelo, a intensidade da cor foi medida a 520 nm. As absorbâncias obtidas foram comparadas com curva padrão de prolina e os resultados expressos em micromol de prolina/g de matéria seca.

A determinação da glicina betaína foi realizada de acordo com a metodologia de Grattan e Grieve (1998). Para tanto, foram utilizados a matéria seca de folhas. A seguir, os extratos foram preparados com adição de 20 mL de água deionizada para 0,05 g de material moído. Subsequentemente, os extratos permaneceram durante 24 horas sob agitação em temperatura de 25°C e após este período os extratos serão filtrados e armazenados a -20°C até a realização das análises. Para a determinação da glicina betaína, os extratos foram descongelados e misturados na proporção de 1:1 com H_2SO_4 a 2N, em seguida, foi retirada uma alíquota de 0,5 mL que ficou mantida no gelo durante uma hora. Previamente, foi preparado o reagente KI-I_2 resfriado, foi diluídos 15,7 g de iodo e 20 g de KI em 100 mL de água destilada. Deste reagente, 0,2 mL foi adicionado ao extrato agitando levemente. Os tubos com os extratos foram mantidos à temperatura de 0 a 4°C durante 16 horas para finalizar a reação. Em seguida, os extratos foram centrifugados a $11872 \times g$ /15 minutos a 0°C . Ressalta-se que, o diodeto de potássio mais o extrato, na presença do ácido sulfúrico, formam cristais de periodato-betaína os quais precipitaram. Estes cristais foram dissolvidos em 9,0 mL de 1,2- dicloroetano, após a retirada cuidadosa do sobrenadante com uma micropipeta. Após 2 horas e 30 minutos, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 365 nm em espectrofotômetro.

O H_2O_2 foi determinado a partir de 200 mg de tecidos macerados em nitrogênio líquido, homogeneizados em 5 mL de TCA e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, a 4°C . Mediu-se a absorbância a 390 nm em um meio de 136 reação, contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 e 1 mL de iodeto de potássio (VELIKOVA et al., 2000).

2.8 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi determinada, por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Buege e Aust (1978). Duzentos miligramas de folhas foram macerados em nitrogênio líquido, acrescido de 20% de PVPP (m/v) e homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g, por 10 minutos. Alíquotas (250 μ L) do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação [0,5% (m/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (m/v) de TCA], incubando-se, em seguida, a 95° C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram determinadas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada, com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação: $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / (\xi \cdot b)$, em que: ξ (coeficiente de extinção = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$); b (comprimento ótico = 1).

3 RESULTADOS

3.1 Massa seca das Folhas

A massa seca foliar foi significativamente influenciada pela condição de baixa disponibilidade de água aos 32 DASH (Fig. 1). Os clones GT1, IAC40, PR255 e RRIM600 tiveram uma redução na biomassa foliar em média de 38, 48, 56 e 44% respectivamente, devido a senescência e queda das folhas induzida pelo déficit hídrico. Com o restabelecimento da irrigação em DARI, apesar do surgimento de lançamentos foliares em todos os clones, o acúmulo da massa seca nos clones reirrigados ainda foi menor que a dos seus respectivos controles ($P < 0.05$).

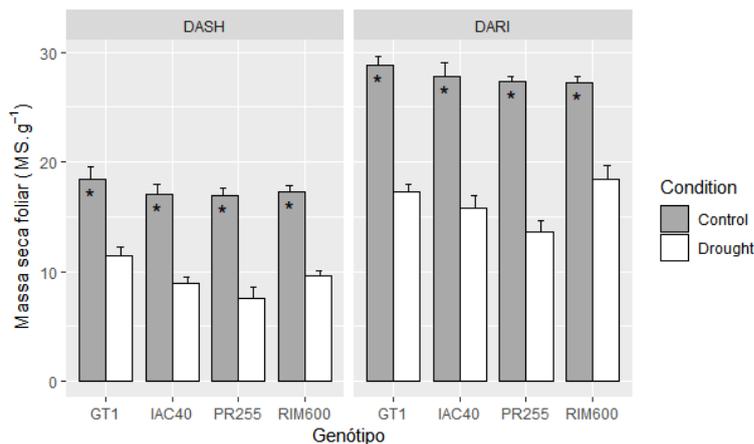


Figura 1. Massa seca foliar de plantas irrigadas, e com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e após 15 dias de restabelecimento da irrigação (DARI) em clones de *H. brasiliensis*. As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

3.2 Teores de Açúcares redutores (AR), açúcares solúveis totais (AST), aminoácidos (Aas), Proteínas solúveis (PTNs) e Amido em folhas.

Durante a suspensão da irrigação, houve um acúmulo significativo de açúcares solúveis totais (AST) e açúcares redutores (AR) para todos os clones (Fig. 2a E 2b). Após 15 DARI, essas concentrações se mantiveram iguais aos controles. O déficit hídrico influenciou negativamente a concentração de amido (Fig. 2c), observou-se uma redução significativa e após o restabelecimento da irrigação, não houve acúmulo de amido comparado ao controle.

Os teores de proteínas totais (Fig. 3a), reduziram significativamente durante o período

sob déficit hídrico, representando uma redução média de aproximadamente 34%. Com a normalização da irrigação, os clones GT1 (98 %), IAC 40 (76 %), PR 255 (42 %) e RRIM 600 (33%) tiveram suas concentrações de proteínas totais aumentados quando comparados ao controle. Em relação aos aminoácidos totais foi observado ocorreu um incremento de 51% (GT1), 59% (IAC40), 35% (PR255) e 63% (RRIM600) (Fig. 3b). Imprevisto resultado, em 15 DARI observou-se a manutenção do acúmulo de aminoácidos totais em todos os clones.

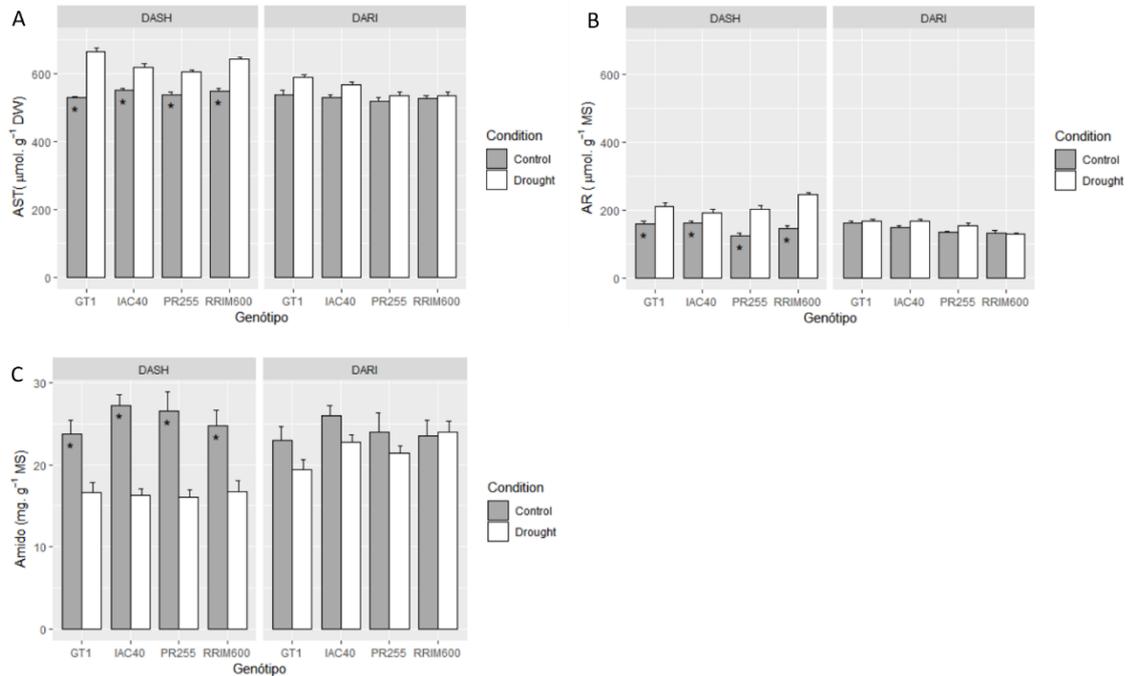


Figura 2. Teores de açúcares solúveis totais (AST) (A), açúcares redutores (AR) (B) e amido (C) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

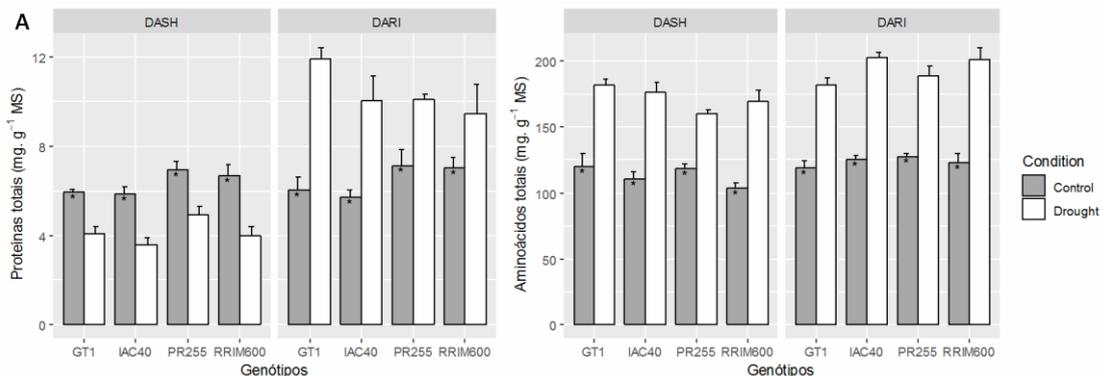


Figura 3. Teor de proteínas solúveis totais (A) e aminoácidos (B) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

3.3 Enzimas sacarolíticas

Aos 32 DASH ocorreu uma diminuição na atividade das enzimas INV NC e INV PC que variou de 28 a 37% para INV PC e a de 32 a 44% para INV NC em relação aos respectivos controles. Para ambas as enzimas, como o restabelecimento da irrigação, as taxas da atividade enzimáticas foram idênticas aos das plantas irrigadas (Fig. 4a e 4b). Observou-se também que a atividade da INV VA, nas plantas aos 32 DASH, teve aumento próximos de 12% para GT1 e RRIM600, porém, os demais clones não apresentaram alterações na atividade dessa enzima. Depois de restabelecida a irrigação das plantas, não foi observada diferenças entre as condições hídricas nos clones.

A atividade da SuSy no sentido de síntese e da SPS (Fig. 5), reduziu significativamente em 32 DASH em todos os clones com exceção apenas para plantas RRIM 600 que não difeririam do controle quanto a atividade da enzima SPS. A redução na atividade da SuSy foram de aproximadamente 20%, enquanto que a atividade da SPS representou uma queda em torno de 20% para IAC40 e PR255 e 10% para RRIM600. Novamente após a reidratação do solo, como observado em todas as atividades das enzimas sacarolíticas quantificadas, houve um restabelecimento das atividades da Susy e SPS a níveis iguais do tratamento controle.

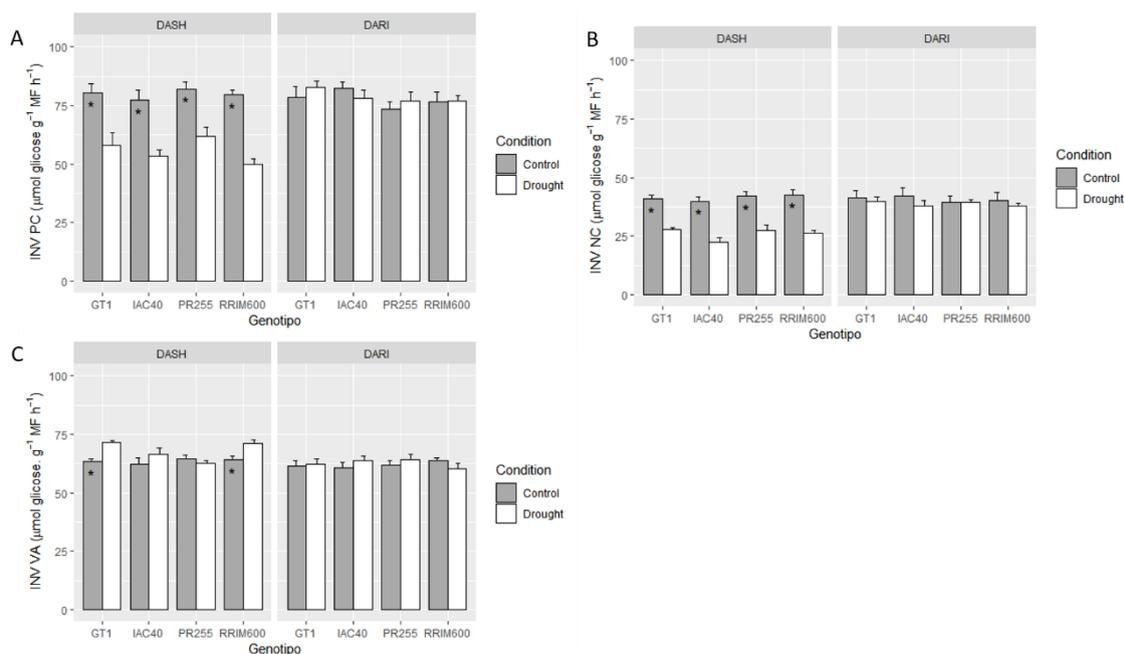


Figura 4. Atividade das isoformas de invertase; INV PC (A), INV NC (B), INV VA (C) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

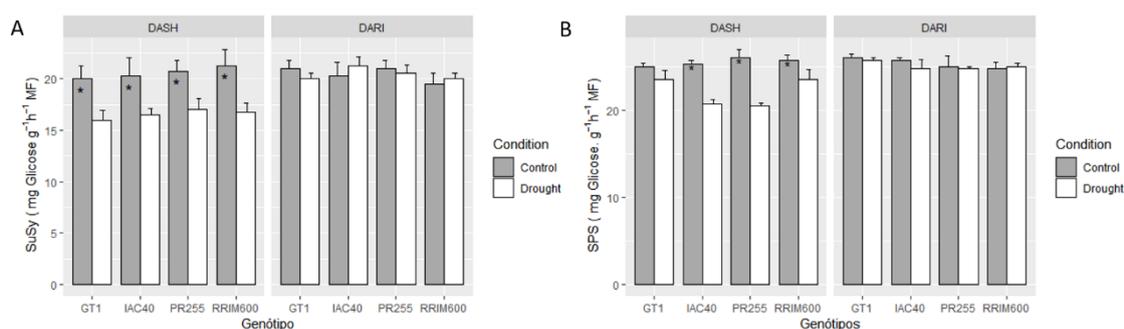


Figura 5. Atividade sacarose sintase (SuSy)(A) e sacarose fosfato sintase (SPS) (B) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

3.4 Metabolismo antioxidante, teor de peróxido de Hidrogênio e peroxidação lipídica

Em relação à atividade da SOD, CAT e APX, observa-se na Fig. 6, que, todas as enzimas

tiveram suas atividades aumentada aos 32 DASH. Foi observado também que o déficit hídrico desencadeou um acúmulo de H_2O_2 e consequentemente aumento da peroxidação lipídica. Entretanto, quando as plantas submetidas ao déficit hídrico foram reirrigadas, as atividades de todas enzimas retornaram aos seus valores de atividades normais semelhantes ao controle.

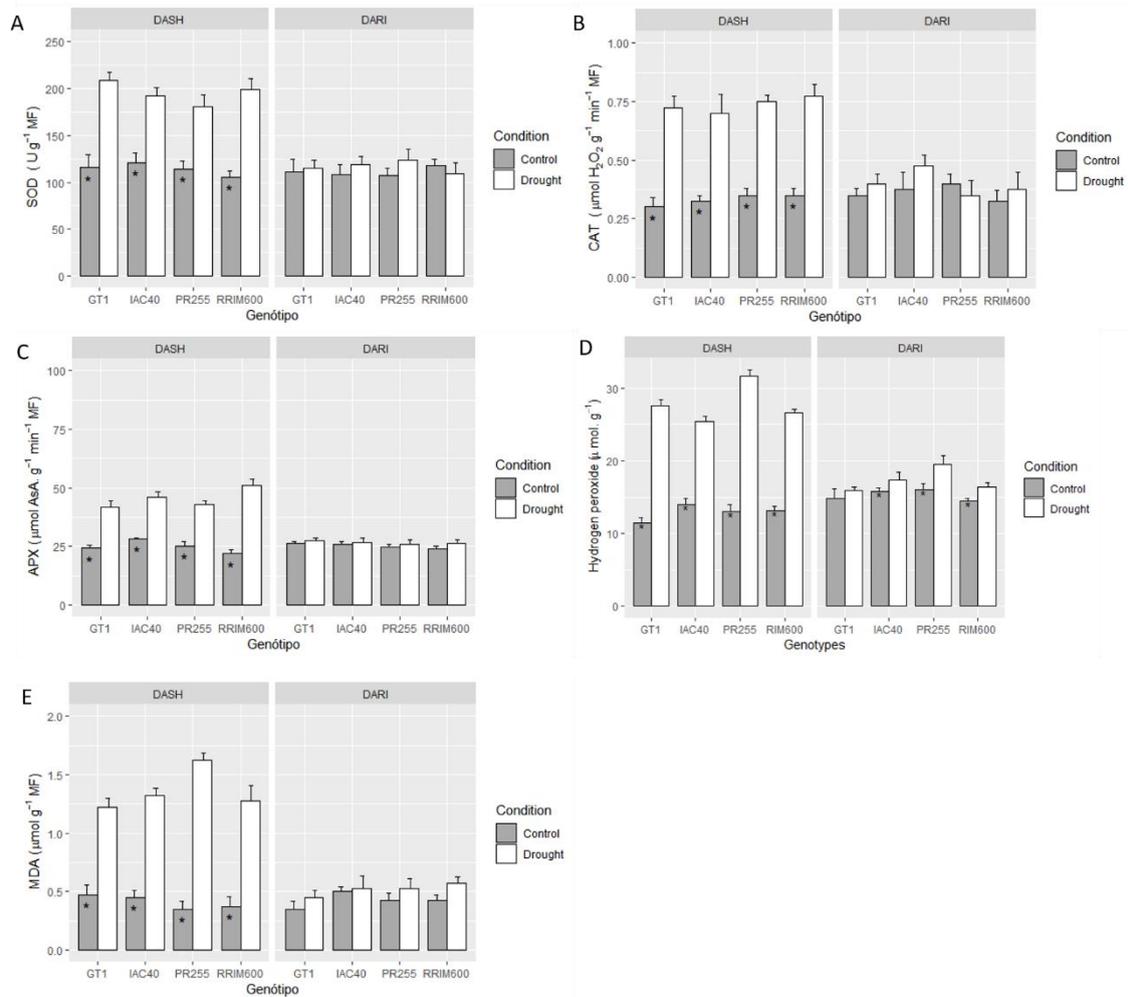


Figura 6. Atividade da Dismutase do superóxido (SOD) (A); Catalase (CAT) (B); Peroxidase do ascorbato (APX) (C); teores de H_2O_2 (D) e malonodealdeído (MDA) (E) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

3.5 Prolina e glicina betaína

A deficiência hídrica promoveu um acúmulo expressivo de prolina nos clones (Fig. 8) no período de seca induzida. O acúmulo de prolina em plantas do clone GT1, foi 11 vezes maior

que o controle, atingindo o valor de $13,9 \mu\text{mol g}^{-1}$ em plantas dos clones RRIM 600 esse acúmulo foi de 7 vezes, enquanto para o clone IAC40 e PR255 o incremento foi de 6 vezes maiores que os respectivos controles. Em 15 DARI, como o retorno da irrigação, os níveis de prolina reduziram até valores semelhantes ao controle, ainda que nos clones IAC40 e PR255 os níveis de prolina foram ligeiramente superiores nas plantas reirrigadas. A concentração de glicina betaína variou significativamente dentro dos genótipos. O déficit hídrico foi responsável por incrementos significativos de GB, com valores médios foi de 5.75 e 16,5 (GT1), 5.12 e 15.4 (IAC40), 5.5 e 12.4 (PR255) e 6.7 e 18.1(RRIM600) μg por grama de tecido foliar sob condições controles e de déficit hídrico, respectivamente. Como na grande maioria das características avaliadas após a reidratação do substrato, não houve diferença entre os tratamentos.

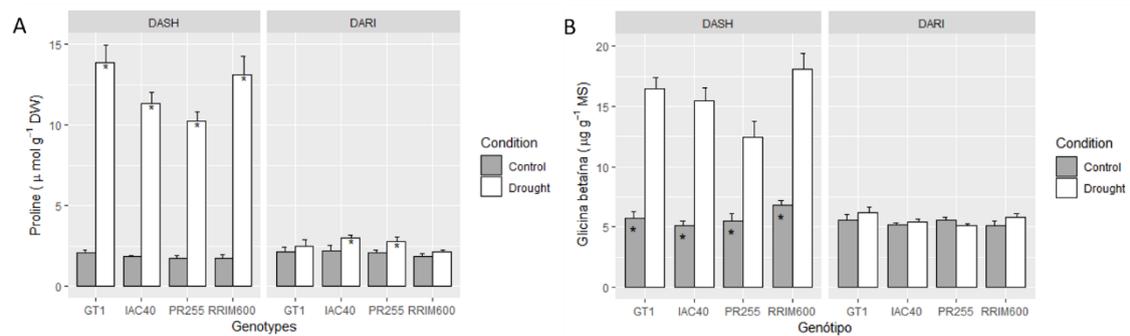


Figura 7. Teores de prolina (A) e glicina betaína (B) em tecidos foliares de plantas irrigadas, e de plantas com a suspensão da irrigação por 32 dias (DASH) e de plantas após 15 dias de irrigação (DARI). As barras representam o desvio padrão médio de quatro repetições. (*) indica diferenças significativas com $P < 0.05$ (Scott Knott teste).

4 DISCUSSÃO

O déficit hídrico em seringueira promove modificações em vários processos biofísicos e metabólicos das plantas que podem variar com o estágio de desenvolvimento das mesmas (Austin *et al.*, 1988). Dentre esses processos, o coeficiente Transpiratório (Nair *et al.*, 2011), ajustamento osmótico (Isarangkool Na Ayutthaya *et al.*, 2011), fotossíntese (K, 2010) e sistemas antioxidantes (Wang, 2014), encontram-se relacionados com as possíveis estratégias de tolerância à seca em seringueira.

O estresse gerado pela a insuficiência hídrica levou as plantas a respostas fisiológicas caracterizadas pela redução no acúmulo de massa seca foliar (Fig 1). Nas plantas irrigadas a maior massa seca foliar foi decorrente do maior número de lançamentos foliares e nas plantas sob déficit hídrico ocorreu a queda de folhas devido a senescência induzida pelo estresse, não sendo observado novas emissões foliares e paralização do crescimento nos folíolos presentes.

A baixa disponibilidade de água promoveu um aumento na produção de EROs (Fig. 6d), e um conseqüente estímulo na atividade sistemas antioxidantes enzimáticos (Fig. 6a, 6b e 6c). Sob condições normais de ambiente, as espécies reativas de oxigênio (ERO's) fazem parte do metabolismo normal das plantas e são produzidas em baixas quantidades nas organelas vegetais agindo como moléculas sinalizadoras nas redes metabólicas {Baxter, 2014 #50}, assim como o cross-talk com outras moléculas nos processos de resposta ao estresse (Suzukiet al., 2012; Noctor et al., 2014). Condições de estresse abiótico podem promover um desbalanço entre a produção e o excesso desses reativos. Nessas condições, a limitação da captação de CO₂ por fechamento estomático induzido, favorece produção de superóxido (O₂⁻), oxigênio singlete (¹O₂) e H₂O₂ por reações de redução incompleta ou excitação do oxigênio molecular (Apel e Hirt, 2004; Miller et al., 2010).

A insuficiência hídrica no solo pode desencadear a geração direta de H₂O₂ por dismutação dos íons superóxido produzidos pelo aumento da atividade da NADPH oxidases ou pela formação de H₂O₂ de forma indireta, na qual há inativação de enzimas e proteínas que contêm grupos tiol (Hirt, 2004; Cosio e Dunand, 2009; Gill e Tuteja, 2010; Sharma 2012). O H₂O₂ é uma EROs que, quando em excesso, pode oxidar os componentes celulares e inativar as enzimas do ciclo de Calvin. Pode também reduzir a atividade da superóxido dismutase, além de induzir a morte celular programada (Sharma et al., 2012). Neste estudo, a homeostase celular foi alterada pelo período seco, o estresse oxidativo desencadeou um aumento da produção de

ERO's nos clones de seringueira, que foi comprovado pelo aumento na concentração de H_2O_2 (Fig. 6d), e, conseqüentemente, levando ao aumento da atividade antioxidante das enzimas SOD, CAT e APX (Fig. 6a, 6b e 6c)

Estudos demonstram que atividade da SOD é aumentada pelo estresse hídrico em vários genótipos de seringueira (Leclercq et al., 2012; Carneiro, 2014), porém com o aumento da severidade do estresse pode ocorrer uma redução acentuada na atividade enzimática (Wang, 2014). O aumento da atividade da CAT e APX (Fig. 6b e 6d) nas folhas está conexo ao acúmulo de H_2O_2 e a sua posterior neutralização, evitando danos celulares, além disso, o aumento da atividade de APX pode estar relacionado com o conteúdo de ascorbato detectados nesse órgão, uma vez que o ascorbato é um cofator dessa enzima (Noctor et al. 2014). Resultados semelhantes a esse estudo foram encontrados em *Prunus persica* e *Prunus cerasifera* (Messchmidt et al., 2013), *Helianthus annuus* (Carneiro et al., 2011) em *Hevea brasiliensis* spp. (Carneiro et al., 2014), *Solanum tuberosum* L. cv. cultivar Atlantic (Zhang et al., 2018).

Outro mecanismo utilizado pelas células vegetais sob condições de estresse é a síntese de compostos de baixo peso molecular que, além de agir sobre a osmorregulação, podem apresentar ação antioxidante (Verlues e Sharma 2010). A prolina pode ser parâmetro importante para medir a tolerância ao estresse, a capacidade das plantas de acumulação desse composto é considerada uma resposta precoce ao estresse hídrico (Ramanjulu e Sudhakar, 2000). Nossos dados mostram que em todos os clones sob déficit hídrico ocorreu acúmulo de prolina nas folhas (Fig. 7A), Xavier et al., (2018) estudando o efeito do déficit hídrico em diferentes acessos germoplasmáticos de *Hevea* encontrou resultados similares a esse estudo, corroborando com o observado durante a suspensão hídrica sob condições de seca, referente as acumulações de prolina e glicina betaína.

Assim como para o teor de prolina, os clones também exibiram um aumento expressivo nos teores de GB (Fig. 7B), estes resultados estão de acordo como outros autores que demonstraram que maiores acúmulos de glicina betaína resultam em uma maior tolerância ao estresse hídrico (Molinari et al., 2004; Ashraf e Foolad, 2007). glicina betaína (GB) pode acumular em uma variedade de espécies sob estresse abiótico, e o seu papel no metabolismo vegetal sob déficit hídrico tem sido estudado detalhadamente (Bohnert et al., 1996; Chen et al., 2002) devido à correlação entre acúmulo de GB com plantas mais tolerantes, sendo estas capazes de crescerem bem sob seca e/ou ambiente salino (Umezawa et al., 2002). Os dados demonstraram que os clones que apresentaram maiores teores de prolina (Fig. 7a) e glicina betaína (Fig. 7b), mesmo com alto acúmulo de peróxido de hidrogênio (Fig. 6d), tiveram menores níveis de peroxidação lipídica (Fig. 6e).

O aumento observado de aminoácidos livres, sugerem que estes osmólitos podem estar relacionados pelo menos em parte, como indicadores de tolerância a seca (GZIK, 1996; HIEN et al., 2003). O acúmulo de aminoácidos totais (Fig. 3B) e de prolina e glicina betaína (Fig. 7a e 7b) podem ser decorrentes da atividade das enzimas proteolíticas envolvidas na quebra de proteínas solúveis (Fig. 3A). Já que, pode ser descartado a síntese de novos aminoácidos sintetizados, no qual, demandariam um aporte substancial de N (NO_3^- e NH_4^+), que sob déficit hídrico, tem a sua absorção e assimilação de nitrogênio comprometida.

Sob baixa disponibilidade de água, O metabolismo do carbono é dinamicamente reprogramado (Urano et al., 2009). As flutuações dos teores de açúcares em mudas de seringueira sob estresse hídrico podem sugerir que os AST e AR podem estar envolvidos na tolerância à seca (Fig. 2). Estes resultados foram semelhantes com estudos anteriores em mudas de seringueira sob déficit hídrico (Wang et al., 2014). A acumulação de trioses fosfato e açúcares redutores podem estar diretamente relacionada com o aumento da atividade da invertase vacuolar que neste estudo, apresentou aumento da sua atividade ao final dos 32 DASH (Fig 5C). O acúmulo de açúcares pode agir como mitigador aos danos oxidativos, mantendo a turgidez das folhas e evitando a desidratação de membranas e proteínas frente às condições de seca (Crowe et al., 1999; Sawhney e Singh, 2002).

A compreensão do papel açúcares e além disso, o comportamento de enzimas chaves que afetam o metabolismo do carboidrato em condição de estresse hídrico é imprescindível. A síntese e a clivagem da sacarose podem ser reguladas por rápidas mudanças na atividade da sacarose fosfato sintase (SPS), sacarose sintase (SuSy) e as invertases (INV) (Hawker, 1985; Huber and Huber, 1996). Como apresentado nas figuras (Fig. 5), a suspensão hídrica influenciou negativamente a atividade das invertases, com exceção da invertase vacuolar. A redução da INV NC e INV PC pode ser justificado devido ao fato que essas enzimas são fundamentais durante o crescimento foliar, quando a folha ainda é um dreno. Ainda que possam participar de alguns processos no estágio maduro da folha, a atividade dessas enzimas remanescentes na hidrólise da sacarose é um processo redundante, pois o suprimento do pool trioses e açúcares redutores já são direcionados para o uso imediato. Nesse sentido, em condição de estresse, a maquinaria celular é convergida a degradação de reservas ou de compostos celulares para manutenção do metabolismo celular favorecendo hidrólise de proteínas enzimáticas. Em outros órgãos nos clones RRII também foi verificado redução na atividade da invertase no soro C, assim como na atividade do sistema antioxidante, demonstrando suscetibilidade à seca (Sreelatha et al. 2007). Em relação a manutenção da atividade da INV VA nos clones IAC40 e PR255 e do aumento na atividade em GT1 e RRIM600 (Fig. 5C), os

resultados direcionam o envolvimento dessa enzima com uma provável função na manutenção da turgescência foliar no aumento da concentração de açúcares, que podem ser principalmente decorrentes da quebra do amido (Fig. 2C) direcionados para vacúolo favorecendo o ajustamento osmótico em condição de baixa disponibilidade de água.

A respeito das outras sacarolíticas avaliadas, a sacarose sintase catalisa ambos; síntese e degradação da sacarose. Os resultados indicaram que a baixa disponibilidade de água reduziu a atividade da SuSy e SPS na maioria dos clones (Fig. 6), ocorrendo uma recuperação ao final dos 15 DARI. O efeito do déficit hídrico na SuSy tem sido reportado em outras espécies em condição de estresse abiótico (SCHURR et al., 2000; BIENIAWSKA et al., 2007; KUMUTHA et al., 2008), porém há uma variedade de respostas da atividade da SuSy entre diferentes espécies sob déficit hídrico. Levando em consideração que nas folhas de seringueira ocorreu uma redução nas atividades invertases da parede celular e neutra do citosol (Fig. 5), e da atividade da Susy e SPS (Fig. 6), sugere-se que o aumento de AST (Fig. 2), foi decorrente do aumento dos teores de AR provenientes da hidrólise do amido e ou da hidrólise sacarolítica no vacúolo (Fig. 5C).

Nas plantas dos clones RRIM 600, GT1 e IAC40, os resultados indicam que as estratégias metabólicas de tolerância ao déficit hídrico representadas pelo o aumento do acúmulo dos osmólitos, açúcares redutores, prolina, glicina betaína e outros aminoácidos não avaliados nesse trabalho, bem como o aumento da atividade das enzimas antioxidantes são importantes dentro das estratégias de adaptação a condições de insuficiência hídrica no solo. Tais fatos podem ser interpretados, em conjunto, como um mecanismo para a manutenção da homeostase metabólica em um processo de aclimação, alterando a partição de carbono, e também o mecanismo de ajuste osmótico (Rodhes e Hanson 1993; Trossat et al. 1998).

5 CONCLUSÃO

A indução progressiva do déficit hídrico impactou negativamente no crescimento e nas características bioquímicas com diferentes intensidades nos clones estudados. As respostas dos metabolismos do carbono e antioxidante avaliadas sinalizam que podem ser usadas como eficientes indicadores de tolerância de genótipos à baixa disponibilidade de água no solo.

Essas respostas dos clones à baixa disponibilidade de água possibilitam sugerir que o clone PR255 foi o que apresentou maior susceptibilidade ao déficit hídrico, pelo menos no estágio inicial de desenvolvimento das mudas e ou estabelecimento.

Por outro lado, os clones GT1, IAC40, RRIM600 são materiais genéticos menos sensíveis e indicados para o plantio em regiões com condições edafoclimáticas com maiores probabilidades de ocorrência de veranicos ou irregularidades de precipitação na fase de estabelecimento das mudas no início do plantio. Entretanto, é necessários estudos incorporando a avaliação desses clones em condições de campo (em áreas não tradicionais) desde o estabelecimento da cultura até a entrada das árvores em processo de exploração.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, H. D. et al. Nonstructural leaf carbohydrate dynamics of *Pinus edulis* during drought-induced tree mortality reveal role for carbon metabolism in mortality mechanism. **New Phytol**, v. 197, n. 4, p. 1142-51, Mar 2013. ISSN 0028-646x.

ARAQUÉM, P. et al. ATIVIDADE DA RUBISCO E DAS ENZIMAS DE SÍNTESE E HIDRÓLISE DE SACAROSE, ASSOCIADA À PRODUTIVIDADE DE LÁTEX, EM CLONES DE SERINGUEIRA (*Hevea brasiliensis* (Willd ex. Adr. de Juss.) Muell.Arg) CULTIVADOS EM LA VRAS, MG Activity of rubisco and enzymes of sucrose synthesis and hydrolysis associated to latex productivity, in rubber tree clones (*Hevea brasiliensis* (Willd ex. Adr. de Juss.) Muell.Arg) cultivated in Lavras, MG. 2015.

ASADA, K.; NAKANO, Y. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981. ISSN 0032-0781.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, June 01 2013. ISSN 1573-9058. Disponível em: <

AUSTIN, D. et al. **Studies on soil-plant-atmosphere system in Hevea: II. Seasonal effects on water relations and yield.** 1988. 45-60.

AZEVEDO, R. A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 2, p. 280-292, 1998. ISSN 0031-9317..

BARRATT, D. H. et al. Normal growth of *Arabidopsis* requires cytosolic invertase but not sucrose synthase. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 31, p. 13124-9, Aug 4 2009. ISSN 1091-6490 (Electronic)0027-8424 (Linking).

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, May 7 1976. ISSN 0003-2697 (Print) 0003-2697.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: (Ed.). **Methods in enzymology**: Elsevier, v.52, 1978. p.302-310. ISBN 0076-6879.

CHANDRASHEKAR, T. R. et al. AN ANALYSIS OF GROWTH AND DROUGHT TOLERANCE IN RUBBER DURING THE IMMATURE PHASE IN A DRY SUBHUMID CLIMATE. **Experimental Agriculture**, v. 34, n. 3, p. 287-300, 1998. ISSN 0014-4797.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 3, p. 250-257, 2002. ISSN 1369-5266.

CHOUREY, P. S. et al. Genetic evidence that the two isozymes of sucrose synthase present in developing maize endosperm are critical, one for cell wall integrity and the other for starch biosynthesis. **Mol Gen Genet**, v. 259, n. 1, p. 88-96, Jul 1998.

COLEMAN, H. D.; YAN, J.; MANSFIELD, S. D. Sucrose synthase affects carbon partitioning to increase cellulose production and altered cell wall ultrastructure. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 31, p. 13118-23, Aug 4 2009.

CROWE, J. H.; HOEKSTRA, F. A.; CROWE, L. M. **Annu Rev Plant Physiol.**, v. 54, n. null, p. 579, 1992. ISSN null.

DANTAS, A. A. A.; CARVALHO, L. G. D.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1862-1866, 2007.

DEBAEKE, P. et al. Sunflower crop: environmental-friendly and agroecological. **OCL**, v. 24, n. 3, p. D304, 2017.

DISCHE, Z. Color Reactions of Pentoses. In: Whistler, R.L. and Wolfrom, M.L., Eds., **Methods in Carbohydrate Chemistry. Academic Press**, p. 475-514., 1962.

FAHRENDORF, T.; BECK, E. Cytosolic and cell-wall-bound acid invertases from leaves of *Urtica dioica* L.: a comparison. **Planta**, v. 180, n. 2, p. 237-44, Jan 1990. ISSN 0032-0935 (Print) 0032-0935.

FAROOQ, S.; O'BRIEN, C. A technology selection framework for integrating manufacturing within a supply chain. **International Journal of Production Research**, v. 50, n. 11, p. 2987-3010, 2012/06/01 2012.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 8, p. 1056-1071, 2005.

FRESNEAU, C.; GHASHGHAIE, J.; CORNIC, G. Drought effect on nitrate reductase and sucrose-phosphate synthase activities in wheat (*Triticum durum* L.): role of leaf internal CO₂. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 11, p. 2983-2992, 2007. ISSN 1460-2431.

GEIGENBERGER, P.; STITT, M. Sucrose synthase catalyses a readily reversible reaction in vivo in developing potato tubers and other plant tissues. **Planta**, v. 189, n. 3, p. 329-39, Mar 1993.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiol**, v. 59, n. 2, p. 309-14, Feb 1977. ISSN 0032-0889 (Print) 0032-0889.

GRATTAN, S. R.; GRIEVE, C. M. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 78, n. 1, p. 127-157, 1998/11/30/ 1998.

- GRIFFITHS, C. A.; PAUL, M. J.; FOYER, C. H. Metabolite transport and associated sugar signalling systems underpinning source/sink interactions. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1857, n. 10, p. 1715-1725, 2016.
- GURURAJA RAO, G. et al. **Influence of soil, plant and meteorological factors on water relations and yield in Hevea brasiliensis**. 1990. 175-180.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiol**, v. 84, n. 2, p. 450-5, Jun 1987. ISSN 0032-0889 (Print) 0032-0889.
- HUBER, S. C.; HUBER, J. L. ROLE AND REGULATION OF SUCROSE-PHOSPHATE SYNTHASE IN HIGHER PLANTS. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**, v. 47, p. 431-444, Jun 1996. ISSN 1040-2519 (Print) 1040-2519.
- ISARANGKOOL NA AYUTTHAYA, S. et al. Water loss regulation in mature Hevea brasiliensis: effects of intermittent drought in the rainy season and hydraulic regulation. **Tree Physiol**, v. 31, n. 7, p. 751-62, Jul 2011. ISSN 0829-318x.
- K, A. **Drought induced changes in photosynthesis and chloroplast protein in Hevea brasiliensis**. 2010. 55-63.
- KAMELI, A.; M. LOSELDELTA, D. **Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress**. 1993. 609-614.
- KOCH, K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Curr Opin Plant Biol**, v. 7, n. 3, p. 235-46, Jun 2004.
- KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **J Exp Bot**, v. 63, n. 4, p. 1593-608, Feb 2012. ISSN 0022-0957.
- LIU, H. L. et al. Over-expression of OsUGE-1 altered raffinose level and tolerance to abiotic stress but not morphology in Arabidopsis. **J Plant Physiol**, v. 164, n. 10, p. 1384-90, Oct 2007. ISSN 0176-1617 (Print) 0176-1617.
- LUZIA DOURADO, C. et al. **Selection strategies for growth characters and rubber yield in two populations of rubber trees in Brazil**. 2018.
- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959/03/01 1959.
- MIYAN, M. A. Droughts in Asian Least Developed Countries: Vulnerability and sustainability. **Weather and Climate Extremes**, v. 7, p. 8-23, 2015/03/01/ 2015. ISSN 2212-0947. Disponível em: <

NAIR, D. et al. Physiological traits for identification of potential drought tolerant accessions from wild *Hevea* germplasm. **Natural Rubber Research**, v. 24, n. 1, p. 69-75, 2011. ISSN 0970-2431.

PER, T. S. et al. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 115, p. 126-140, 2017/06/01/ 2017.

PRIYADARSHAN, P. M. et al. **Yielding Potential of Rubber (*Hevea brasiliensis*) in Sub-Optimal Environments**. 2005. 221-247.

SEKI, M. et al. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 296-302, 2007/06/01/ 2007.

SHARMA, S. et al. Characterization of stress and methylglyoxal inducible triose phosphate isomerase (OscTPI) from rice. **Plant Signal Behav**, v. 7, n. 10, p. 1337-45, Oct 1 2012.

SOUZA, L. M. et al. QTL mapping of growth-related traits in a full-sib family of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) evaluated in a sub-tropical climate. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e61238, 2013.

STURM, A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. **Plant physiology**, v. 121, n. 1, p. 1-8, 1999.

TORELLO, W. A.; RICE, L. A. Effects of NaCl stress on proline and cation accumulation in salt sensitive and tolerant turfgrasses. **Plant and Soil**, v. 93, n. 2, p. 241-247, June 01 1986.

WANG, L. F. Physiological and molecular responses to drought stress in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Plant Physiol Biochem**, v. 83, p. 243-9, Oct 2014. ISSN 0981-9428.

WEBER, H.; ROITSCH, T. Invertases and life beyond sucrose cleavage. **Trends Plant Sci**, v. 5, n. 2, p. 47-8, Feb 2000.

WEI, Z. et al. Overexpression of poplar xylem sucrose synthase in tobacco leads to a thickened cell wall and increased height. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0120669, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic)

YEMM, E.; COCKING, E.; RICKETTS, R. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

ZANANDREA, I. et al. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, v. 57, n. 8, p. 661-669, 2010.

ZIVCAK, M. et al. Photosynthetic responses of sun- and shade-grown barley leaves to high light: is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess

of light? **Photosynth Res**, v. 119, n. 3, p. 339-54, Mar 2014. ISSN 0166-8595.