



BARBARA CHRISTINA SILVA AMÂNCIO

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE
CEDRO AUSTRALIANO SOB CICLOS DE DÉFICIT HÍDRICO**

**LAVRAS – MG
2020**

BARBARA CHRISTINA SILVA AMÂNCIO

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE CEDRO
AUSTRALIANO SOB CICLOS DE DÉFICIT HÍDRICO**

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

Prof. Dr. José Donizeti Alves
Orientador

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori
Coorientador

Prof. Dr. Sebastião Carlos da Silva Rosado
Coorientador

**LAVRAS - MG
2020**

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

Amâncio, Barbara Christina Silva.

Caracterização fisiológica e bioquímica de cedro australiano
sob déficit hídrico / Barbara Christina Silva Amâncio. - 2020.

87 p.

Orientador(a): Jose Donizeti Alves.

Coorientador(a): Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori,
Sebastião Carlos da Silva Rosado.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. *Toona ciliata*. 2. Seca. 3. Carboidratos. I. Alves, Jose
Donizeti. II. Marchiori, Paulo Eduardo Ribeiro. III. Rosado,
Sebastião Carlos da Silva. IV. Título.

BARBARA CHRISTINA SILVA AMÂNCIO

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE CEDRO AUSTRALIANO
SOB CICLOS DE DÉFICIT HÍDRICO**

**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF
AUSTRALIAN CEDAR UNDER WATER DEFICIENCY CYCLES**

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

BANCA em 06 de março de 2020.

Profa. Dra. Elisa Monteze Bicalho	UFLA
Dr. João Paulo Pennacchi	UFLA
Dra. Kamila Rezende Dázio de Souza	UNIFAL
Prof. Dr. Leandro Carlos	IFGOIANO

Prof. Dr. José Donizeti Alves
Orientador

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori
Coorientador
Prof. Dr. Sebastião Carlos da Silva Rosado
Coorientador

**LAVRAS - MG
2020**

À Jeová, Deus,
DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus, por me dar forças nos momentos difíceis, seu espírito santo para absorver o conhecimento e responder aos meus pedidos. Ao Lucas R. Rosado pelo suporte durante toda minha fase acadêmica e pessoal, contribuindo de forma direta para a condução desse experimento e no meu crescimento.

À minha família e amigos, em especial, Vó Barbara, meus pais Auber e Marly, Paulo Henrique, Gabriella, Lucas Rosado, Tallyta, Caro, Lucelene, Valéria, Ivonilde, Sebastião, Isabel, Sara, Endrigo, Ramon, Sara, Mauro, Nanda, Jonas, Vitor, Tamires e Paula por estarem sempre ao meu lado dando forças para continuar no caminho acadêmico e todo amor transmitido mesmo à distância.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jose Donizeti Alves, pela orientação, disponibilidade e ensinamentos, durante o meu doutoramento. Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori e Prof. Dr. Sebastião Carlos da Silva Rosado pelo apoio, excelente convivência, conversas, sugestões, oportunidade e contribuição dos conhecimentos para produzir esse trabalho. À Dra. Kamila Rezende Dázio de Souza pela colaboração durante todo o doutorado, pela amizade, conselhos, sugestões e por ter se tornado tão presente e especial em minha vida mesmo à distância.

À banca pelas contribuições, considerações e sugestões. Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal da UFLA (PPGFV -UFLA) e ao Núcleo de Estudos em Fisiologia Vegetal pela oportunidade ao conhecimento compartilhado. À Salete, Joel e Odorêncio pela convivência e toda ajuda prestada. Ao André Baldansi e Tailor do Departamento de Ciências do Solo pela ajuda na parte nutricional das plantas.

À Universidade Federal de Lavras, ao PPGFV - UFLA, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), FAPEMIG, CNPq, à empresa Bela Vista Florestal, pelos suportes: intelectual, administrativo, financeiro e estrutural para o desenvolvimento de pesquisas. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas (LBFMP) pela convivência, ajuda, suporte, amizade e conhecimento compartilhado. À Lissa, Cassio, Mario que estiveram também presentes durante a condução do experimento e nos estudos, compartilhando comigo as risadas, os momentos difíceis e fazendo com que tudo se

tornasse mais leve. E em especial, à Beatriz e Iasminy por terem continuado ao meu lado na reta final, não tenho palavras para agradecer a amizade verdadeira de vocês.

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

O cedro australiano é uma espécie florestal tropical e subtropical que tem sido plantada em regiões do cerrado brasileiro sujeitas ao déficit hídrico. Possui grande capacidade para atividade de reflorestamento permitindo investigar a exposição a sucessivos ciclos de seca, para serem plantadas em locais com pouca disponibilidade hídrica. O objetivo desse estudo foi avaliar e caracterizar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos dos clones de cedro australiano, quando submetidos a múltiplos ciclos de déficit hídrico, comparadas às plantas de evento único de estresse, ambos após a reidratação. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com mudas de clones comerciais, BV 1110, BV 1210 e BV 1321. Esses foram separados em grupos de plantas de irrigação contínua – CDH0, submetidas a um ciclo de déficit hídrico – CDH1 e a três ciclos de déficit hídrico – CDH3, seguidos de reidratação. Foram feitas análises de potencial hídrico foliar ($\Psi_{w\text{foliar}}$), trocas gasosas (taxa fotossintética líquida – A , condutância estomática – g_s e transpiração – E), análises biométricas (altura total – H , comprimento da raiz principal – CR , diâmetro do caule no nível do colo – D , número de folhas totais – NF , número de folíolos totais – NFI , área foliar total – AF , massa seca dos folíolos, caule e raiz, comprimento radicular específico e porcentagem de água no tecido radicular), fluorescência da clorofila a , determinação do teor de pigmentos fotossintéticos, determinação dos carboidratos (amido, sacarose, açúcar solúvel total, açúcar redutor), proteínas, aminoácidos, prolina, atividade de enzimas do metabolismo antioxidante (dismutase do superóxido – SOD , catalase – CAT e ascorbato peroxidase – APX) e do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxidação lipídica (MDA). O clone BV 1110, obteve maior CR sob seca, porém o estresse não foi suficiente para reduzir seu metabolismo. A prolina foi um indicador de estresse pelo alto conteúdo encontrado nos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit, assim como o H_2O_2 . Das enzimas antioxidantes, a atuante foi a SOD nas folhas e raízes. O clone BV 1210, apesar dos valores reduzidos para número de folhas, folíolos e fluorescência da clorofila a sob DH, foram restaurados após a reidratação. O conteúdo de prolina e H_2O_2 foi reduzido no grupo CDH3 sob DH. A CAT foi a enzima mais ativa nas folhas desse clone sob estresse hídrico. O clone BV 1321 obteve o menor CR , potencial hídrico, redução no NF e NFI no grupo CDH3. A maquinaria fotossintética foi alterada pela seca e recuperada após reidratação. Houve consumo de carboidratos nas folhas e raízes. O H_2O_2 também foi reduzido no grupo CDH3 sob DH e a enzima atuante foi a APX , no grupo de plantas CDH1 sob DH. Sendo assim, o clone BV 1110 se mostrou resistente ao déficit hídrico imposto por não alterar suas características de crescimento e desenvolvimento. Os clones BV 1210 e BV 1321 realizaram ajustes metabólicos (não padronizados) que as permitiram exibir diferentes respostas nos grupos CDH1 e CDH3. E os parâmetros utilizados para caracterização dos clones de cedro australiano mostraram ser satisfatórios para considerar o clone BV 1210 resiliente ao déficit hídrico imposto.

Palavras-chave: *Toona ciliata*. Seca. Carboidratos. Estresse hídrico.

ABSTRACT

Australian cedar is a tropical and subtropical forestry species that has been planted in regions of the Brazilian cerrado that are subjected to water deficit. It has great capacity for reforestation allowing investigation of exposure to successive drought cycles, aiming for planting in locations with little water availability. This study aimed to evaluate and characterize physiological and biochemical mechanisms of different Australian cedar clones, when subjected to multiple water deficit cycles, compared to plants with a single stress event, both after rehydration. The experiment was carried out in a greenhouse with seedlings from the commercial clones BV 1110, BV 1210 and BV 1321. These clones were separated into groups classified as plants with continuous irrigation - CDH0, submitted to one water deficit event - CDH1 and three water deficit events - CDH3, all followed by rehydration. The clone performance, under these conditions, was evaluated by different physiological and biochemical traits. The performed analysis determined leaf water potential ($\Psi_{w\text{foliar}}$), gas exchange (net photosynthetic rate - A , stomatal conductance - g_s and transpiration - E), biometry (total height - H , main root length- CR , stem diameter at the base level - D , number of total leaves - NF , number of total leaflets - NFl , total leaf area - AF , dry mass of leaflets, stem and root, specific root length and root water percentage), chlorophyll fluorescence a , photosynthetic pigment content, carbohydrates (starch, sucrose, total soluble sugars, reducing sugars), proteins, amino acids, proline, enzyme activity of the antioxidant metabolism (superoxide dismutase - SOD , catalase - CAT and peroxidase ascorbate - APX) and content of hydrogen peroxide (H_2O_2) and lipid peroxidation (MDA). Under drought, the BV 1110 clone showed higher CR , but the stress was not enough to reduce its metabolism. Proline was an indicator of stress due to its high content in the groups CDH1 and CDH3 under water deficit, as well as H_2O_2 . Among the antioxidant enzymes, SOD was the one active in leaves and roots. The BV 1210 clone had reduced number of leaves, leaflets and chlorophyll fluorescence a under DH, but they were restored after rehydration. The content of proline and H_2O_2 was reduced in the CDH3 group under DH. CAT was the most active enzyme in the leaves of this clone under water stress. The BV 1321 clone had the lowest CR , water potential and reduction in NF and NFl in the CDH3 group. The photosynthetic machinery was altered by drought and recovered after rehydration. Carbohydrates consumption was detected in the leaves and roots. H_2O_2 was also reduced in the CDH3 group under DH. APX was the active enzyme in the CDH1 plant group under DH. Thus, the BV 1110 clone proved to be resistant to the imposed water deficit by not changing its characteristics of growth and development. The BV 1210 and BV 1321 clones performed metabolic adjustments (non-standard) that allowed them to exhibit different responses in the CDH1 and CDH3 groups. The parameters used to characterize the Australian cedar clones proved to be satisfactory to consider the BV 1210 clone resilient to the imposed water deficit.

Keywords: *Toona ciliata*. Drought. Water deficit. Carbohydrates

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1	Local de estudo e condições de cultivo	21
3.2	Material vegetal.....	22
3.3	Caracterização dos tratamentos e delineamento experimental	23
3.4	Avaliações	26
3.4.1	Potencial hídrico da folha.....	26
3.4.2	Trocas gasosas	26
3.4.3	Análises biométricas	26
3.4.4	Avaliações da fluorescência da clorofila “a”	27
3.4.5	Determinação do teor de pigmentos fotossintéticos	27
3.4.6	Determinação dos carboidratos, proteínas, aminoácidos e prolina.....	28
3.4.7	Determinação da atividade de enzimas do metabolismo antioxidante.....	29
3.4.8	Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.....	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

As alterações nas condições climáticas em todo o mundo sob a influência do aumento na temperatura permitem a criação de fenômenos climáticos incomuns, muitas vezes sob a forma de inundações ou déficit hídrico (RAZA et al., 2019). O déficit hídrico é considerado o mais agravante, pois a exposição prolongada de plantas a essas condições é o que mais acomete as culturas agrícolas e as florestais (ANDROCIOLOI et al., 2020; DANG et al., 2019; DOBBERTIN, 2005; FLETA-SORIANO; MUNNÉ-BOSCH, 2016; NITSCHKE et al., 2017; DE OLIVEIRA et al., 2019; PANDEY; SHUKLA, 2015).

No geral, as plantas respondem ao déficit hídrico reduzindo o potencial hídrico, seguido da desidratação celular e diminuição da resistência hidráulica. Ocorre também a limitação na expansão celular, no tamanho da folha e da atividade metabólica. O fechamento estomático e a inibição da fotossíntese se dão para evitar a perda de água, aumentar a resistência difusiva e sua captação de água com sistemas radiculares mais profundos e ativos (LI; LIU, 2016; RAZA et al., 2019). A fotossíntese é a última a ser afetada em situações de estresse severo, em que os elétrons produzidos pela hidrólise da água se acumulam e passam a ser formadas as espécies reativas de oxigênio (EROs) que poderão acarretar em morte celular, quando produzidas em elevadas quantidades (PFAUTSCH et al., 2016; SHARMA et al., 2012).

Além de levar à diminuição da fotossíntese, a seca também interfere na respiração, translocação de assimilados, absorção de íons e no metabolismo de carboidratos. Os osmólitos de baixo peso molecular como os aminoácidos, prolina, ácidos orgânicos, a síntese de proteínas e enzimas adequadas alteram a composição do citosol, causando mudanças nas estruturas das macromoléculas e, conseqüentemente, levando à inibição do crescimento e diminuição na produtividade (BERTOLLI; MAZZAFERA; SOUZA, 2014; DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019). Em vista disso, os efeitos da seca são percebidos em todas as escalas organizacionais das plantas, alterando o equilíbrio e conduzindo a uma série de mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, e até mesmo afetando a produção total de biomassa sob exposições prolongadas de seca (LI, 2015; LISAR et al., 2012; PINHEIRO; CHAVES, 2011; SOUZA et al., 2014).

Com a crescente incidência de déficit hídrico, o desenvolvimento de culturas resistentes à seca tende a aumentar por meio de pesquisas de plantas ou culturas sob ambiente controlado, a fim de explorar sua produtividade (GOSAL; WANI; KANG, 2009). No caso das espécies florestais, a exploração da tolerância ao estresse hídrico é necessária para indústrias baseadas

em madeira para o crescimento sustentável e equilibrado (QURESHI, 2003; YOUSAF et al., 2018).

O cedro australiano (*Toona ciliata* M. Roemer) é uma espécie florestal tropical e subtropical que possui crescimento rápido e alta produtividade, pertencente à família Meliaceae (HONG-GANG et al., 2014; LORENZI et al., 2003). A espécie tem sido plantada em regiões do cerrado brasileiro sujeitas ao déficit hídrico e tem se mostrado com capacidade de tolerância à seca por alguns meses (HEINRICH; BANKS, 2006; HONG-GANG et al., 2014). Além disso, possui grande capacidade para atividade de reflorestamento o que permite investigar a exposição a sucessíveis ciclos de seca, resultando em plantas exibindo respostas rápidas e fortes e sendo capazes de serem plantadas em locais com pouca disponibilidade hídrica (WANG et al., 2017).

A seleção de clones resilientes ao déficit hídrico é uma estratégia promissora para aumentar a produtividade em regiões mais predispostas ao estresse hídrico mais rigoroso. Os programas de melhoramento para a resiliência à seca geralmente selecionam os melhores genótipos baseados no crescimento e na produtividade em condições de déficit hídrico (ATAIDE et al., 2019; BERENQUER et al., 2018). A resiliência é considerada um dos melhores mecanismos das plantas para tolerar à seca e refere-se às alterações que permitem a planta suportar o estresse, com redução no seu desempenho, retornando ao estado de equilíbrio quando o fator de estresse desaparece, ou seja, é a velocidade da recuperação aos níveis de controle (WESTMAN, 1978). Por isso, a análise das características fisiológicas e bioquímicas em uma abordagem combinada pode contribuir para adentrar no entendimento dos mecanismos de resiliência à seca.

As alterações das plantas em resposta ao déficit hídrico também podem variar de acordo com o tempo de exposição e intensidade do estresse, além do estágio fenológico da planta e das características genéticas (CONNOR, 2005; GALLE et al., 2011). Ao longo de seu ciclo de vida, em seu ambiente natural, as plantas são expostas a períodos repetidos de seca que diferem em duração e intensidade, permitindo respostas mais rápidas e melhoradas durante os próximos eventos de estresse. Alguns autores citam que a exposição contínua a um tipo de estresse comparado com um único evento pode resultar em uma redução no desempenho da planta (HU et al., 2015; SCHEFFER et al., 2001; WANG et al., 2017). Porém outros sugerem que esses eventos podem preparar a planta para que ela tenha melhor desempenho diante de novas situações de estresse, também chamada de “memória do estresse”, uma vez que as mudanças estruturais e na maquinaria bioquímica contribuem para efeitos significativos na resposta da

planta que passou pela seca reiterada em relação à aquela que não passou por esses estresses ao longo do tempo (FLETA-SORIANO; MUNNÉ-BOSCH, 2016; KINOSHITA; SEKI, 2014; MENEZES-SILVA et al., 2017).

Além disso, compreender como essas plantas respondem à seca episódica é de extrema utilidade para o auxílio na implementação de práticas de manejo frente às alterações climáticas (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010). Estudos realizados com a espécie em situação de estresse hídrico e nutricional mostraram que clones comerciais apresentam características diferentes quanto ao crescimento e desenvolvimento (SANTOS et al., 2016). Porém, não foram encontrados trabalhos com as características de respostas aos episódios de seca e reidratação do cedro australiano. Por isso, faz-se necessário compreender as respostas ao estresse prolongado e os mecanismos advindos dos sucessivos eventos do estresse por seca de cultivares de cedro australiano a fim de aperfeiçoar a produtividade dessas plantas.

Conjecturou-se então que: (a) a ocorrência de múltiplos ciclos de déficit hídrico influencia na magnitude das respostas de crescimento e desenvolvimento de mudas de cedro australiano quando comparados com apenas um evento de seca; (b) os clones de cedro australiano apresentam características contrastantes sob condições de déficit hídrico; (c) a classificação de resiliência ao déficit hídrico das mudas é proveniente do ajuste nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos e que; (d) esses parâmetros podem ser mapeados e isolados contribuindo para o entendimento do ciclo e do manejo da cultura.

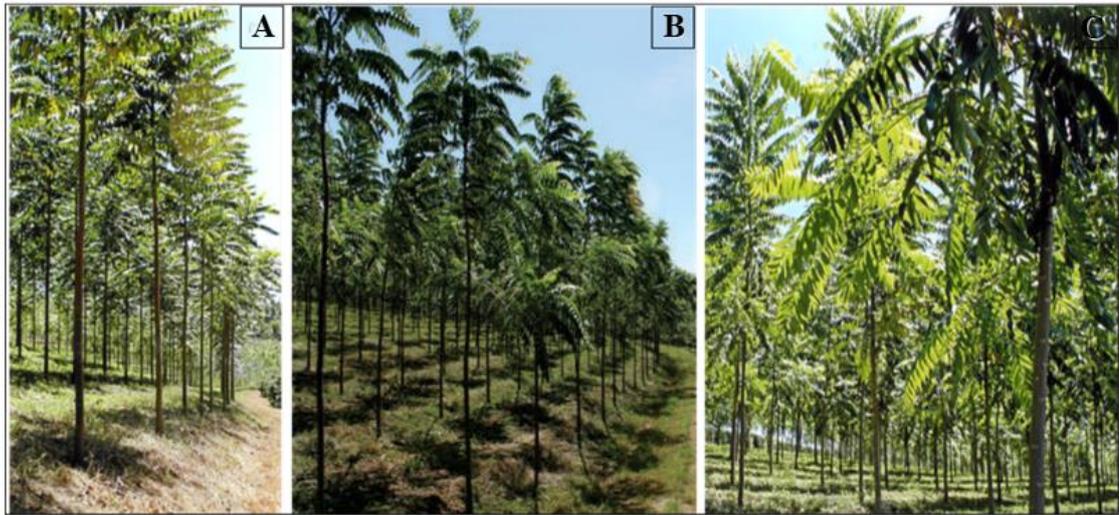
Desta maneira, o objetivo desse trabalho foi avaliar quais os mecanismos fisiológicos e bioquímicos dos diferentes clones de cedro australiano (*Toona ciliata* M. Roemer var. *australis*), quando submetidos a múltiplos ciclos de déficit hídrico quando comparadas às plantas de evento único de estresse, ambos após a reidratação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A *Toona ciliata* M. Roemer popularmente conhecida como cedro australiano é uma espécie florestal exótica proveniente desde a Índia e Malásia até o sul da Austrália. É uma árvore caducifólia, com tronco cilindro e ereto, que apresenta, no Brasil, período de reprodução nos meses de janeiro a março (BYGRAVE; BYGRAVE, 2005; FILHO; WENDLING, 2012; LORENZI et al., 2003). O seu hábitat natural são regiões de climas tropicais e subtropicais com altitudes que variam de 0 a 1500 m e com precipitação média anual de 750 – 4000 mm. Possuem atividades biológicas, como ação antifúngica, antidiabética, antibacteriana, antioxidante, antiinflamatória e analgésica devido à presença de alcalóides, cumarinas, fenóis, flavonoides, taninos, triterpenos e esteróides (NEGI et al., 2011).

A variedade *australis* foi introduzida no Brasil pela empresa Aracruz Celulose (ES) em 1973, denominada na época de Aracruz Florestal sendo plantado no norte do Espírito Santo com a promessa de alta renda aos produtores rurais (BRANDÃO, 2005). Doravante, houve expansão para as regiões Sul da Bahia e na região Sudeste do país sugerindo implantação da espécie em áreas de cerrado que apresentam baixo potencial hídrico (PINHEIRO et al., 2003). Por meio da empresa Bela Vista Florestal, foram importadas sementes do cedro australiano e a partir do ano de 2007, iniciou-se os estudos envolvendo o melhoramento genético e a clonagem da espécie (SANTOS, 2011). Da seleção genética do cedro australiano foram registrados e protegidos seis clones no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), dentre eles o BV 1110, BV 1210 e BV 1321 (FIGURA 1).

Figura 1 - Imagens dos clones BV1110 (A), BV1210 (B) e BV1321 (C), cultivados na Fazenda Experimental da Bela Vista Florestal (MAPA), aproximadamente três anos de idade.



Fonte: MAPA

O cedro australiano exibe grande capacidade de produção, com crescimento rápido em condições adequadas, podendo alcançar de 20-30m de altura, e maior resistência ao ataque de pragas como a broca do broto terminal (*Hipsipyla grandella*) que no caso de cedros e mognos brasileiros, ataca e impede seu crescimento (LUNZ et al., 2009). Além do uso da madeira de qualidade para ganho comercial, a espécie apresenta grande potencial para atividade de reflorestamento, visto que é descrita como uma espécie intermediária, com boa tolerância ao sol e à sombra e alta produção no crescimento consorciado ao café, sendo utilizado para sombreamento (OLIOSI et al., 2016). Mas, apesar da alta aptidão na produtividade e na atividade de reflorestamento, os estudos são escassos quanto as respostas fisiológicas e bioquímicas nas condições ambientais no Brasil.

O futuro do Brasil no abastecimento agrícola é cada vez mais promissor, pois é um país com grande representatividade para o agronegócio. Dentre os recursos naturais necessários para a expansão da produção de alimentos e de matéria prima para a indústria de transformação, destaca-se o relevo compatível com a produção e a disponibilidade de água. Por esse motivo tem-se a necessidade da exploração e utilização de áreas de menor capacidade para cultivo sejam por menor aptidão agrícola, limitações em qualidades físicas e químicas do solo, bem como condições de temperatura e precipitação menos favoráveis (CARMO; ALMEIDA, 2016).

O setor florestal tem se expandido, principalmente, para áreas do cerrado, as quais apresentam ciclos da estação de seca. Com isso a mortalidade de florestas e culturas, induzidas pelo déficit hídrico, tem se tornado um dos principais focos de estudos no comportamento das

plantas, pois períodos longos e/ou sucessíveis de seca podem afetar severamente o crescimento das plantas e o rendimento da produção (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019; FATIMA et al., 2018; WILTSHIRE et al., 2013). Na prática, para tornar as plantas mais resistentes a variações nas condições ambientais, os viveiros florestais realizam a rustificação de mudas, suspendendo e diminuindo, progressivamente, o tempo de irrigação das mudas, possibilitando menores perdas ao transferi-las para o campo. Esse processo de rustificação não objetiva o desenvolvimento da muda e, sim, a aclimação às condições de campo, tornando a identificação de genótipos resistentes para implantação em condições ambientais adversas, especialmente em relação à deficiência hídrica no solo, um desafio para muitas empresas florestais (TATAGIBA et al. 2007).

A investigação sobre a resposta das plantas à água também é importante, pois a maioria dos cenários de alterações climáticas preveem estresses ambientais, como o aumento da temperatura e a seca, ocorrendo simultaneamente em muitas regiões (MENEZES-SILVA et al., 2019; PACHAURI et al., 2014). Essas respostas das plantas à escassez de água são complexas e variáveis entre culturas e até mesmo genótipos, envolvendo mudanças adaptativas e/ou efeitos deletérios (CHAVES et al., 2003). Uma melhor compreensão dos efeitos da seca sobre as plantas é necessária para aprimorar as práticas de manejo, o melhoramento na agricultura e para prever o destino da vegetação natural sob as mudanças climáticas (CHAVES et al., 2003; OLIVEIRA; SILVA; CARVALHO, 2016). Entretanto, estabelecer as características fisiológicas desejáveis para a adaptação do vegetal à seca é complicado, pois as respostas podem ser atribuídas por alterações na relação da célula com a água, na composição das células, nos processos fisiológicos e mudanças morfológicas da planta. Essas mudanças podem variar de acordo com: a idade da planta, seu estágio de desenvolvimento, tempo de estresse, intensidade do estresse, de espécie para espécie e até mesmo entre genótipos (BERENGUER et al., 2018; CHAI et al., 2016; LIU et al., 2019; YOUSAF et al., 2018).

No metabolismo de todos os organismos vivos, a água é um solvente, meio de transporte e um refrigerador evaporativo vital que facilita as reações biológicas, e nas plantas, ela também fornece a energia necessária para impulsionar a fotossíntese. Sendo assim, qualquer limitação na disponibilidade de água terá grande influência na vida das plantas (FAROOQ et al., 2009; SALVADOR, 2013). Para oferecer novas oportunidades e aumentar a eficiência no uso da água nas plantas, é necessário a manipulação humana por meio de técnicas de criação, melhoramento genético, manejo das culturas em ambientes com recursos hídricos, porém é preciso conhecer os mecanismos utilizados pelas espécies em situação de estresse hídrico.

O estresse hídrico pode ser caracterizado pela limitação no crescimento das plantas e na fixação geral de carbono com consequências negativas na produtividade e até mesmo na sobrevivência das plantas, podendo ser acometido por excesso (hipóxia) ou falta de água (déficit hídrico) (GRIME, 1979; KRAMER, 1963).

O déficit hídrico, do ponto de vista da planta, é caracterizado pela perda de água que excede a taxa de absorção pelas raízes, atuando diretamente nas relações hídricas e promovendo mudanças nas células e vias moleculares (COSTA et al., 2008; FATIMA et al., 2018). A severidade da seca é definida pela frequência, duração e intensidade do estresse e pela fase de desenvolvimento da planta. No tipo moderado a escassez de água ocorre em um período de tempo menor e não atinge o desenvolvimento da planta completamente, havendo a possibilidade de reverter o impacto na planta. Quando o estresse é considerado severo, o déficit hídrico ocorre por mais tempo e impede a planta de se recuperar, comprometendo toda a produção (FAROOQ et al., 2009).

Dentre as alterações fisiológicas e morfológicas em decorrência da falta de água, a primeira resposta das plantas é a diminuição na turgescência celular e a redução do crescimento devido à paralisação no alongamento celular (LARCHER, 2006). As plantas apresentam mecanismos de sobrevivência quando submetidas ao baixo potencial hídrico mantendo o status hídrico por meio do acúmulo de solutos orgânicos. Juntamente com esse acúmulo, as plantas utilizam o potencial de água foliar para monitoramento da disponibilidade de água no solo pois a condição hídrica influencia nos processos de crescimento, respiração, fotossíntese e na transpiração. Na transpiração, o controle estomático é considerado a principal resposta a curto-prazo, sob condições de seca, afetando o potencial hídrico e o transporte de solutos no xilema da planta (CRAMER et al., 2011; FAROOQ et al., 2009; PFAUTSCH et al., 2016; TARDIEU; SIMONNEAU, 1998). Além disso, o déficit hídrico promove diminuição na taxa de assimilação líquida do CO₂ (A), na condutância estomática (g_s) e na transpiração (E) de espécies lenhosas (ALBUQUERQUE et al., 2013; LIMOUSIN et al., 2015). Também há alterações no metabolismo de carboidratos e alterações na atividade de enzimas e síntese proteica (PINHEIRO; CHAVES, 2010).

A redução na assimilação de carbono diminui a síntese de trioses fosfato e o crescimento da planta. Em algumas espécies expostas ao déficit hídrico ocorre a redução de g_s e E , favorecendo a ascensão de seiva via xilema provavelmente pela síntese ou acúmulo de solutos compatíveis, no vacúolo ou no citosol. Esses solutos possuem função osmoprotetora, a fim de manter o equilíbrio hídrico e preservar a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas,

para a continuidade das atividades vitais. Dentre esses solutos, a prolina, glicina betaína e os carboidratos solúveis totais são os mais comuns que, ao se acumularem levam à redução do potencial hídrico, aumentando a capacidade de absorção de água pelas plantas (CHEN; MURATA, 2008; SAMARINA et al., 2017; SUDACHKOVA et al., 2002; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

A deficiência hídrica pode também acarretar na formação do embolismo que é a presença de ar dentro do xilema. Essa formação é dependente da pressão negativa do xilema e da arquitetura hidráulica das plantas. O embolismo reduz a capacidade das plantas de suprir água para os tecidos, limitando a abertura estomática e a fotossíntese e causando disfunção hidráulica na planta (PEREIRA et al., 2016). A condutividade hidráulica específica depende do diâmetro dos elementos condutores e do tipo de perfuração. Quando os vasos condutores são menores e a resistência de filtração é alta ocorre a diminuição da condutividade hidráulica específica. Se a condutividade hidráulica específica no xilema for alta a planta ficará mais suscetível ao embolismo, interrompendo no local o fluxo transpiracional (NARDINI et al., 2017; VIEIRA; CARVALHO; CAMPELO, 2020).

Sob tais condições, as plantas apresentam estratégias para prevenir e restaurar a capacidade hidráulica e reparo do embolismo por meio da manutenção do metabolismo de carboidratos não estruturais (CNS) (BRODERSEN; MCELRONE, 2013; MARTIN-BENITO et al., 2017; NARDINI et al., 2016). Nesse processo de reparo ao embolismo, o carbono fotossinteticamente assimilado, amido, é despolimerizado em sacarose e frutose e translocado para a região periférica do caule, ficando responsável pela desobstrução e reparo do tecido embolizado (SAIKI et al., 2017; YOHIMURA et al., 2016).

Os carbonos fotossinteticamente assimilados pela planta são classificados como carbono estrutural e não estrutural. O carbono estrutural é fixado como composto da parede celular em forma de celulose conferindo resistência as paredes (MAHLI, 2011). Já o carbono não estrutural inclui açúcares solúveis (sacarose e rafinose), amido, lipídios, aminoácidos, ácidos orgânicos e álcoois, podendo ser transportados e armazenados em células do parênquima axial e radial do xilema (HOCH et al., 2003). Os açúcares também são reconhecidos como importantes moléculas reguladoras na sinalização e nas funções de eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROS) nas plantas, afetando dezenas de genes responsivos ao estresse. A fonte, natureza e a localização dos sinais de açúcar e não-açúcar são importantes para proporcionar um mecanismo regulador integrador que controla várias funções de uma célula vegetal (BOLOURI-MOGHADDAM et al., 2010).

Nos processos de transporte na direção fonte/dreno a sacarose é o principal açúcar não-redutor mobilizado (NARDINI et al., 2016). Ela desempenha um papel essencial na regulação de processos metabólicos como a assimilação e transporte de carbono e nitrogênio, além das respostas ao dano oxidativo e a função antioxidante, que neutraliza espécies reativas de oxigênio (EROs), principalmente radicais hidroxila (HORACIO; MARTINEZ-NOEL, 2013). Em situações de estresse, a sacarose promove a tolerância pela ativação do sistema antioxidante através da sinalização ou atuação como antioxidante (KEUNEN et al., 2013). A sacarose atua também como uma molécula de sinalização que induz enzimas de síntese de frutanos e ativa a síntese de amido (MARTINS et al., 2019; VALKO et al., 2007). Além disso, pode controlar a partição de assimilados ao nível da translocação floema (GUTIÉRREZ et al., 2007). No metabolismo do nitrogênio a sacarose desempenha papel de sinalizador controlando a assimilação, o transporte de nitrogênio e estimula as vias de biossíntese de aminoácidos (VARGAS; PONTIS; SALERNO, 2008).

Outros carboidratos importantes derivados de sacarose são os oligossacarídeos da família rafinose (RFOs: extensões de α -galactosil de sacarose), junto aos frutanos (extensões de β -fructosil de sacarose). Esses oligossacarídeos e as enzimas do seu metabolismo interagem indiretamente com as vias de sinalização de EROs. A rafinose é utilizada na proteção da fosforilação e transporte de elétrons das membranas dos cloroplastos contra desidratação e estresse de alta temperatura (SANTARIUS, 1973). Os frutanos estimulam outros mecanismos de defesa antioxidantes específicos por meio de mudanças nas suas concentrações, atuando diretamente às mudanças de concentração de ascorbato (AsA) e da glutatona reduzida (GSH) (BOLOURI-MOGHADDAM et al., 2010; LAXA et al., 2019).

Quando o grau e a duração do estresse hídrico excederem a tolerância das plantas, o excesso de energia levará a um aumento na produção de EROs. As espécies reativas de oxigênio celular é composta por radicais como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), e radicais hidroxila (HO^{\bullet}) e causam danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ao DNA (APEL; HIRT, 2004; LAXA et al., 2019; SHARMA et al., 2012). Os efeitos citotóxicos das EROs podem ser minimizados pela ativação do sistema antioxidante, por meio de enzimas específicas que atuam neutralizando a ação desses radicais, ou por antioxidantes não enzimáticos.

A neutralização se dá por meio da dismutase do superóxido (SOD), que dismuta o radical superóxido para peróxido de hidrogênio; este, por sua vez, é metabolizado pela ação de várias enzimas como: a catalase (CAT), responsável pela conversão do peróxido de hidrogênio

a água e oxigênio, e as peroxidases como peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidase do guaiacol (POD) que reduzem o peróxido de hidrogênio a água (APEL; HIRT, 2004). Nas plantas, o AsA é encontrado nas organelas da maioria dos tipos celulares sendo o principal componente detoxificador das EROs devido à sua capacidade de doar elétrons em reações enzimáticas e não enzimáticas (BLOKHINA et al., 2003; MARCOS et al., 2018). Além desses, os açúcares solúveis totais também atuam como antioxidantes, sendo os não enzimáticos neutralizadores das EROs que não são neutralizadas por via enzimática, como o oxigênio singlete e OH.

A produção de EROs sob déficit hídrico pode ocorrer em diferentes compartimentos celulares, isto é, parede celular, citosol, núcleo, mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos. No cloroplasto, através da reação de Mehler a produção de EROs é acelerada devido à redução nas atividades dos fotossistemas e na capacidade de transporte fotossintético, além da inibição da assimilação CO₂ (FOYER; NOCTOR, 2002). A limitação da fixação de CO₂ no ciclo de Calvin diminui a oxidação do NADPH e o elétron da ferredoxina reduzida que seria transferido para o NADP vai para o O₂ formando O₂^{•-}. A formação do O₂^{•-} também ocorre no citosol, peroxissomos e no espaço apoplástico (BARBOSA et al., 2014).

Ainda sob estresse hídrico, a atividade fotossintética é inibida nos tecidos vegetais devido ao desequilíbrio entre a captura e a utilização de luz. Ocorre dissipação do excesso de energia luminosa no fotossistema II (PSII) levando à produção excessiva de EROs (SHARMA et al., 2012; FAROOQ et al., 2009). Os parâmetros da dinâmica da fluorescência da clorofila são o método ideal para detectar a influência do estresse hídrico na fotossíntese, devido ao dano do PSII do órgão fotossintético das plantas. Com a diminuição da capacidade de assimilação de CO₂, o PSII pode regular a taxa de transporte de elétrons e a eficiência fotoquímica como resposta e assim evitar os danos causados pelo excesso de energia luminosa via dissipação de calor.

As medições da fluorescência da clorofila a são caracterizadas pela fluorescência inicial (F_o) que consiste na fluorescência quando os centros de reação estão abertos e refere-se à emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila do complexo coletor de luz do PSII, a fluorescência máxima (F_m) quando os centros de reação estão fechados, fluorescência variável (F_v) que é definida como a diferença entre F_m e F_o (F_v=F_m-F_o) e representa o fluxo de elétrons do centro de reação do PSII até a plastoquinona e é também determinada pelo estado do centro de reação (aberto ou fechado); e eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m) que indica a integridade do aparato fotoquímico do PSII (FAROOQ et al., 2009). Além dessas

características, outras são bastante utilizadas para avaliar o desempenho fotossintético de plantas sob estresse, tais como quenching fotoquímico (qP) e não fotoquímico (qN), eficiência fotoquímica efetiva do PSII (Φ PSII), taxa de transporte de elétrons (ETR), dentro outros (ABID et al., 2016; MAXWELL; JOHNSON, 2000). Elevadas razões entre Fv/Fm, sob déficit hídrico, pode ser um indicativo de eficiência no uso da radiação pela fotoquímica e assimilação de carbono sendo possível detectar a partir da técnica do rendimento quântico do PSII (fluorescência da clorofila a) (BU et al., 2010; LI et al., 2017).

Estudos sobre variações na tensão como frio, alta temperatura, salinidade e tolerância à seca, se tornaram relevantes nas últimas décadas. Apesar disso, as informações obtidas desses estudos levam em consideração o evento apenas uma vez na vida da planta (BYUN et al., 2014; HU et al., 2015; HU et al., 2016). Os episódios recorrentes de seca possuem severidade e durações diferentes e isso faz com que se torne cada vez mais difícil extrapolar as informações relacionadas com apenas um único episódio de seca, sendo necessário tomar as devidas precauções (GALLE et al., 2011). A ocorrência de estresse moderado precoce é conhecida como "inicialização" ou priming. O priming está relacionado à memória do estresse como sendo uma maneira potencial de aumentar a tolerância ao estresse da planta (HILKER et al., 2016; KINOSHITA; SEKI, 2014; TOMBESI et al., 2018). A "memória" de um evento passado pode moldar a planta a responder a estímulos ambientais futuros, resultando em plasticidade fenotípica. Essa plasticidade permite ao indivíduo ajustar seu fenótipo ou desenvolver a sua própria experiência ambiental (SULTAN, 2001). Essa "memória" do estresse envolve múltiplas modificações no nível fisiológico, proteômico, transcricional e mecanismos epigenéticos na planta, que podem ocorrer em qualquer período do ciclo de vida, incluindo germinação de sementes, crescimento vegetativo e crescimento reprodutivo (RAMIREZ et al., 2015; FREITAS-GUEDES et al., 2018).

No caso dos efeitos do priming de plantas expostas ao estresse abiótico como baixa temperatura, calor e seca, ocorre a manutenção da homeostase de EROS, aumento da taxa fotossintética e o maior rendimento de grãos (WANG et al., 2014, 2017). Plantas de *Arabidopsis* e café submetidas a um ciclo diário de desidratação exibiram memória de estresse fisiológica e transcricional: as plantas previamente estressadas apresentaram estômatos parcialmente fechados durante um período de recuperação irrigada, facilitando a conservação da água durante um estresse seguinte de desidratação (FREITAS-GUEDES et al., 2018; VIRLOUVET; FROMM, 2015). Outros autores citam que a exposição contínua a um tipo de estresse

comparado com um único evento pode resultar em uma redução no desempenho da planta (HU et al., 2015; SCHEFFER et al. 2001; TOMBESI et al., 2018; WANG et al., 2017).

Por meio de programas de melhoramento para resiliência à seca, a seleção de genótipos plantados em regiões contrastantes vem contribuindo para o aumento na produtividade e no crescimento (ATAIDE et al., 2019; BERENGUER et al., 2018). No caso do cedro australiano, por possuir grande capacidade para atividade de reflorestamento, a espécie tem sido plantada em regiões do cerrado brasileiro sujeitas ao déficit hídrico e tem se mostrado com capacidade de tolerância à seca por alguns meses (WANG et al., 2017). Outros estudos, em campo, avaliaram o conteúdo dos CNE nos anéis de crescimento da madeira de *Toona ciliata* e permitiu identificar o comportamento e a interação dos genótipos (clones) com as alterações climáticas (ARAUJO, 2019).

Sendo assim, cabe investigar as respostas dos diferentes clones de cedro australiano quando expostos ao estresse único de seca ou sucessíveis ciclos e caracterizar as diferenças no desenvolvimento e aclimatação. Podendo o estresse vir a estimular a potencialização e a defesa ou redução no seu crescimento e desenvolvimento (BRUCE et al., 2007; FLETA-SORIANO; MUNNÉ-BOSCH, 2016; IWASAK; PASZKOWSKI, 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de estudo e condições de cultivo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia/UFLA nos meses de abril à novembro. As análises bioquímicas e enzimáticas foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas do Departamento de Biologia/UFLA, localizado no município de Lavras –MG.

Durante toda a fase experimental foram realizadas leituras diárias (a cada 1 hora) das temperaturas máxima, média e mínima (T, °C) e da umidade relativa do ar (UR, %) com o auxílio de um termohigrômetro digital Instrutherm (modelo HT-500) posicionado no interior da casa de vegetação (FIGURA 2).

Figura 2 - Vista parcial do stand experimental com os clones BV1110, BV1210 e BV1321, cultivados em casa de vegetação aos 70 dias após o plantio.



Fonte: do autor.

3.2 Material vegetal

Foram utilizadas mudas dos clones BV 1110, BV 1210 e BV1321 de cedro australiano adquiridas do Viveiro Bela Vista Florestal (Campo Belo-MG), com aproximadamente oito meses de idade e classificados pela empresa como resiliente, moderado e sensível ao déficit hídrico, respectivamente.

O clone BV1110, é proveniente da região de Iron Range, o clone BV1210 de Pascoe River, ambos localizados em altitude de 40m, precipitação de 2091 mm e classificação climática no sistema Köppen como *AW* (tropical de savana – inverno seco). Enquanto que, o clone BV1321 é oriundo da região de Shipton Flat, com altitude de 300m, precipitação de 1873mm e classificação climática *CFa* (subtropical úmido – verão quente e úmido). Todas as regiões estão localizadas no estado de Queensland, na Austrália, conforme visto na Figura 3 (ROSADO, 2016; SANTOS, 2011).

Figura 3 – Distribuição das origens de cedro australiano na costa leste da Austrália



Fonte: Google Maps

3.3 Caracterização dos tratamentos e delineamento experimental

As mudas com idade de plantio (aproximadamente 8 meses) foram transplantadas para vasos com capacidade de 8 L, contendo 1/3 de Latossolo Vermelho de textura Argilosa (TABELA 1) misturado com 1/3 de areia e 1/3 de N-P-K (4-14-8):

Tabela 1- Resultado analítico de identificação de amostra do solo coletado.

pH	K	P	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	T
	-----mg/dm ³ -----			-----cmolc/dm ³ -----						
5,8	16,11	1,21	-	1,45	0,39	0,01	1,88	1,88	1,89	3,76
V	m	M.O.	P-Rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S	
-----%-----	dag/kg	mg/L	-----mg/dm ³ -----							
50,03	0,53	0,99	3,60	1,01	51,29	10,34	2,39	0,06	101,80	

Legenda: **K**: potássio; **P**: fósforo; **Na**: sódio; **Ca**: cálcio; **Mg**: magnésio; **Al**: alumínio; **H+Al**: hidrogênio + alumínio; **SB**: Soma de Bases Trocáveis; **CTC(t)**: Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; **CTC(T)**: Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; **V**: Índice de Saturação de Bases; **m**=Índice de Saturação de Alumínio; **M.O.**: matéria orgânica; **P-rem**: Fósforo remanescente; **Zn**: zinco; **Fe**: ferro; **Mn**: manganês; **Cu**: cobre; **B**: boro e **S**: enxofre.

As plantas foram cultivadas durante 45 dias em casa de vegetação, com irrigação constante, para aclimação. A adubação foi dividida em três partes durante o experimento (uma vez antes de iniciar os tratamentos (45 dias) e durante a condução do experimento, duas vezes, em um intervalo de 20 dias), utilizando solução nutritiva.

A solução foi constituída dos macronutrientes: nitrogênio (300mg N/kg), enxofre (50mg S/kg) e potássio (1200mg K/kg), e pelos micronutrientes: boro (0,5mg B/kg), zinco (5mg Zn/kg), cobre (1,5mg Cu/kg) e molibdênio (0,1mg Mo/kg). Esses tiveram como fontes: NH_4NO_3^- , K_2SO_4 , KCl (6,0 mM), H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, respectivamente. A composição dos nutrientes foi seguida pela recomendação de Malavolta (1980), baseado na análise do solo e demanda da cultura. As doses de N e K foram parceladas 3 vezes, isto é a quantidade total foi dividida por 3 aplicações. Durante esse período de aclimação as mudas perderam todas as suas folhas (caducifolia) vindo a recuperá-las após 25 dias.

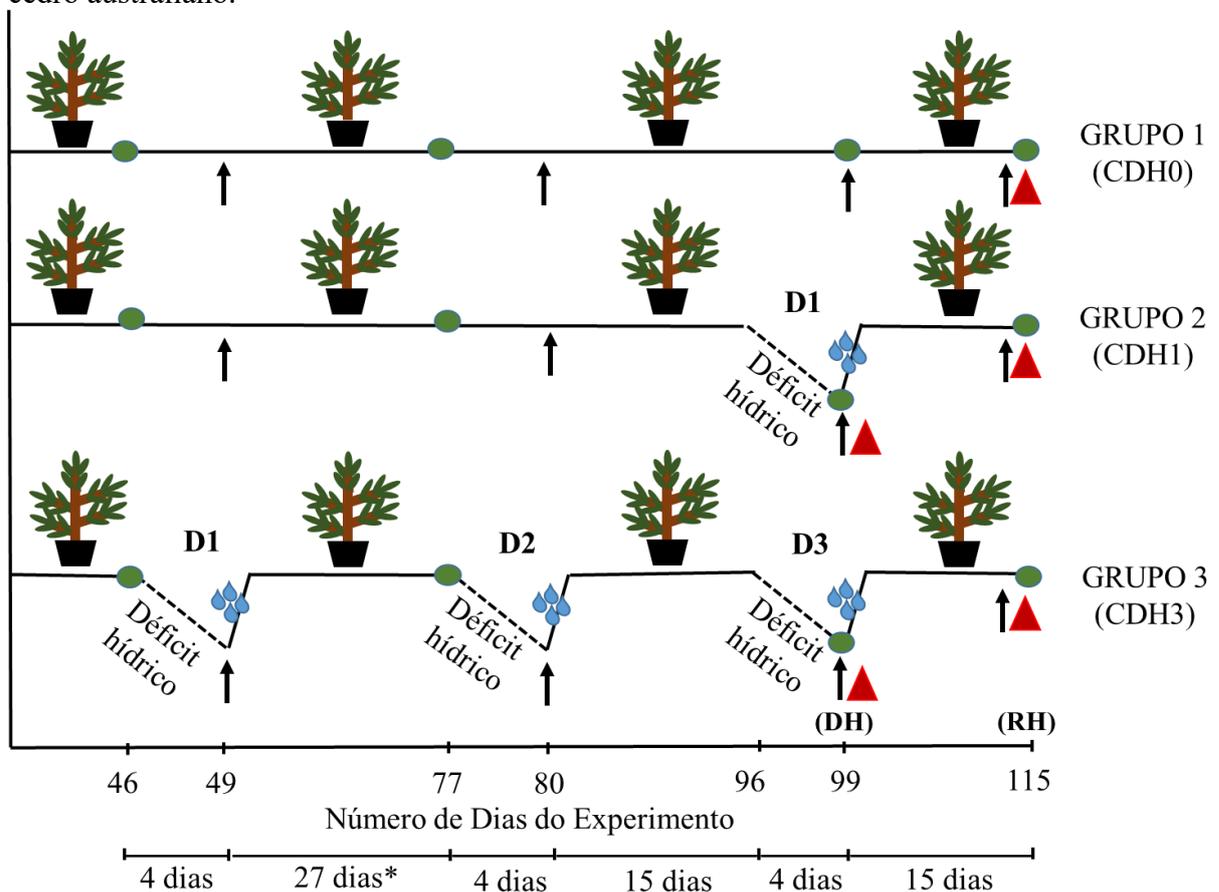
Após o período de aclimação (45 dias), as mudas foram submetidas a ciclos variados de suspensão da irrigação conforme realizado por Menezes-Silva et al (2017), com adaptações (FIGURA 4):

CDH0 (grupo 1) – Ciclo de déficit hídrico zero, ou seja, irrigação contínua;

CDH1 (grupo 2) – Um ciclo de déficit hídrico (irrigação suspensa) até a perda da turgescência da folha; seguido de reidratação para a recuperação da turgescência (4 dias da irrigação suspensa seguida de 15 dias de hidratação);

CDH3 (grupo 3) – Três ciclos de déficit hídrico até a perda da turgescência da folha, seguidos de reidratação para a recuperação da turgescência (4 dias de irrigação suspensa + 27 dias de hidratação* + 4 dias de irrigação suspensa + 15 dias de hidratação + 4 dias de irrigação suspensa + 15 dias de hidratação).

Figura 4 - Representação esquemática dos ciclos de déficit hídrico e recuperação dos clones de cedro australiano.



Legenda: GRUPO 1, plantas em irrigação contínua (CDH0); GRUPO 2, plantas submetidas a um evento de déficit hídrico e reidratadas (CDH1); e GRUPO 3, plantas submetidas a três eventos de déficit hídrico, seguidos de reidratação (CDH3). D1, D2 e D3 representam 1, 2 e 3 ciclos de déficit hídrico respectivamente. Os pingos (☔) representam ponto de reidratação, as linhas tracejadas (-----) representam o período de irrigação suspensa, os círculos (●) representam as avaliações não destrutivas, os triângulos (▲) representam as coletas destrutivas (Déficit Hídrico - DH e Reidratação - RH) e as setas (↑) representam as análises do potencial hídrico das folhas (Ψ_{folha}).

Fonte: Do autor (2020).

O CDH3 consistiu de 3 ciclos de déficit hídrico e reidratação. Após os 45 dias de aclimatação foi suspensa a irrigação por 4 dias (tempo necessário para as plantas atingirem redução máxima da taxa fotossintética, perda de turgescência das folhas e baixo potencial hídrico foliar) em comparação com as plantas controle (irrigação contínua). Após esse período a irrigação foi mantida constante por 27 dias, onde as plantas submetidas ao estresse atingiram a máxima taxa fotossintética em comparação com as plantas irrigadas – D1. Esse processo foi repetido por mais dois ciclos (D2 e D3), porém com períodos de reidratação de 15 dias.

O primeiro ciclo de reidratação foi mantido por 27 dias devido a chuvas torrenciais que causaram aumento na umidade relativa do ar influenciando na turgescência das folhas.

A perda da turgescência foi detectada visualmente, seguida de confirmação por análise do potencial hídrico foliar. A rega de plantas hidratadas ocorreu todos os dias por meio da adição de 2L de água até a observação do solo totalmente úmido. Para determinação do déficit hídrico foi feita a suspensão da rega por corte brusco até a queda dos parâmetros fisiológicos avaliados.

Foi realizado um pré-teste para analisar o comportamento da planta frente a taxa fotossintética, potencial hídrico foliar e ponto de turgescência das folhas para padronização no parâmetro de déficit hídrico e reidratação. Por meio desse pré-teste foi possível detectar que no 4º dia de suspensão da rega as mudas reduziram a taxa fotossintética, o potencial hídrico foliar, atingiram ponto de murcha, indicando déficit hídrico e após o 4º dia ocorreu a queda foliar (caducifolia) a partir da redução no potencial hídrico em -3,5 MPa, porém ainda apresentando capacidade de emitir nova folhagem.

As análises fisiológicas não destrutivas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila “a” foram realizadas no mesmo dia em todos os tratamentos. O potencial hídrico foliar foi avaliado em todos os grupos de plantas (CDH0, CDH1 e CDH3), sempre no 4º dia após a suspensão da rega do grupo CDH3. As coletas para as análises destrutivas ocorreram no DH dos grupos de plantas CDH1 e CDH3 e no RH dos grupos CDH0, CDH1 e CDH3, nos horários entre 8 e 10h da manhã (FIGURA 4).

O delineamento utilizado foi de Blocos Casualizados (DBC), em esquema fatorial composto de três clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321), três grupos de plantas (irrigação constante – CDH0, um ciclo de restrição hídrica - CDH1 e três ciclos de restrição hídrica – CDH3) e cinco repetições, totalizando 75 plantas avaliadas após dois momentos (déficit hídrico - DH e reidratação - RH). Totalizou-se 75 plantas pois o grupo CDH0 foi coletado para avaliação apenas no momento de RH.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por teste Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade de erro utilizando o software estatístico SISVAR®.

3.4 Avaliações

3.4.1 Potencial hídrico da folha

O potencial hídrico foliar foi determinado em folíolos individuais com uma bomba de pressão tipo Scholander (fabricante), na antemanhã (3:30h – 5:30h) de todos os tratamentos nas etapas de indução de seca em todos os ciclos de déficit hídrico (D1, D2 e D3).

3.4.2 Trocas gasosas

As medidas fisiológicas de trocas gasosas foram realizadas nos três grupos de plantas (CDH0, CDH1 e CDH3) nos três ciclos (D1, D2 e D3), em folíolos intactos, completamente expandidos, no terço médio da planta, entre 9 e 12 horas. Utilizou-se o analisador de gases infravermelho portátil (IRGA, Li-cor –Li6400 XT, Lincoln, NE, USA), fonte de luz artificial de fluxo de $1500 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sob condições atmosféricas naturais ($\sim 380\text{-}390\text{ppm}$ de CO_2). As características avaliadas foram: taxa fotossint\u00e9tica líquida (A), condut\u00e2ncia estom\u00e1tica (g_s) e transpira\u00e7\u00e3o (E).

3.4.3 An\u00e1lises biom\u00e9tricas

Foram mensuradas no per\u00edodo de DH (grupo CDH1 e CDH3) e RH (grupo CDH0, CDH1 e CDH3), a altura das plantas (H), atrav\u00e9s da medida do colo at\u00e9 a gema apical, e o comprimento da raiz (CR), do colo da planta at\u00e9 o meristema apical, utilizando uma r\u00e9gua. O di\u00e2metro do caule (D) foi medido no colo da planta com um paqu\u00edmetro (Modelo Mitutoyo). O n\u00famero de folhas (NF) e n\u00famero de fol\u00edolos (NF1) foram feitos por contagem direta.

Amostras aleatorizadas de dez por cento do total dos fol\u00edolos foram utilizadas para determina\u00e7\u00e3o da \u00e1rea foliar (AF). A \u00e1rea do fol\u00edolo foi determinada utilizando uma c\u00e2mera Nikon e software (ImageJ).

Os fol\u00edolos, caules e ra\u00edzes foram levados para estufa de circula\u00e7\u00e3o for\u00e7ada de ar, a 70 °C, at\u00e9 massa constante para obten\u00e7\u00e3o da massa seca (MS) e pesados em balan\u00e7a digital (modelo

Shimadzu). Após pesagem da massa seca o material foi moído em moinho do tipo Willey e separado para quantificação dos carboidratos, proteínas, aminoácidos e prolina. Parte dos materiais (folíolos e raízes) foram separados e armazenados em ultra-freezer, a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para quantificação do teor de clorofilas e carotenoides (folhas), da atividade de enzimas do metabolismo antioxidante e determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.

O comprimento radicular específico foi calculado utilizando o valor do comprimento de raiz (cm)/Massa seca da raiz(g) dado em cm g^{-1} . A porcentagem de água no tecido radicular foi medida através da $\text{Massa seca da raiz} \times 100 / \text{Massa fresca total da raiz}$.

3.4.4 Avaliações da fluorescência da clorofila “a”

As características da fluorescência da clorofila *a* foram determinadas com o uso de um fluorímetro de luz modulada MINI-PAM (Walz, Germany) em folíolos localizados no ramo caulinar. As medições ocorreram no período noturno entre as 3h e 4h, a fim de garantir adaptação ao escuro pelos folíolos, evitando possíveis interferências e para determinação dos parâmetros: (F_0) = fluorescência mínima do folíolo adaptado ao escuro, (F_m) = fluorescência máxima do folíolo adaptado ao escuro, (F_v) = fluorescência máxima variável, (F_v/F_m) = máximo rendimento quântico do FSII e (ETR) = taxa relativa de transporte de elétrons. Todas as medições fotossintéticas do rendimento quântico do FSII foram realizadas entre 9h e 12h, para garantir a adaptação do folíolo à luz, sendo (F_m') = fluorescência máxima do folíolo adaptado ao claro e (F_s') = fluorescência estacionária na luz. As mensurações efetuadas com o auxílio de pinças de metal (DLC-8) acopladas ao sensor MINI-PAM, foram colocadas na região mediana dos folíolos, em um dos lados do limbo foliar, evitando-se a nervura central. Os parâmetros de rendimento quântico do FSII constituíram de: “*quenching*” fotoquímico (qP), “*quenching*” não-fotoquímico (qN) e o rendimento quântico efetivo do FSII [Y(II)]. Os parâmetros de fluorescência foram estimados da seguinte maneira: $F_v = F_m/F_0$; $Y(II) = F_v'/F_m'$, $ETR = Y(II) \times PAR \times 0,5 \times 0,87$; $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$ (BOLHÀR-NORDENKAMPF; ÖQUIST, 1993).

3.4.5 Determinação do teor de pigmentos fotossintéticos

Os teores dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoides) foram determinados de acordo com Lichtenthaler e Buschmann (2001). Cerca de 0,1 g de peso fresco dos folíolos foram mergulhados em frascos âmbar com 10 mL de acetona fria (80%) por 48 horas. As amostras foram lidas em um espectrofotômetro calibrado com acetona pura. A absorção de clorofila foi lida a 663,2 e 646,8 nm e carotenoides a 470 nm.

A quantificação de pigmentos ($\mu\text{g g}^{-1}$ MF) foi realizada de acordo com as equações:

$$\text{Ch } a: 12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8};$$

$$\text{Ch } b: 21,50 \times A_{646,8} - 5,10 \times A_{663,2}.$$

$$\text{Car: } (1000 \times A_{470} - 1,82 \times \text{Cl } a - 85,02 \times \text{Cl } b) / 198$$

E também foi realizado o monitoramento do conteúdo relativo de clorofila (mg/cm^2) utilizando-se um clorofilometro portátil (at LEAF). As leituras foram realizadas entre as 8 e 10 horas da manhã no terço médio do folíolo. Os valores obtidos (mg/cm^2) foram convertidos utilizando as seguintes fórmulas:

$$\text{SPAD} = (0,99 \times \text{LEAF}) - 10,1$$

$$\text{Conteúdo relativo de clorofila} = ((\text{SPAD}^2) \times (1,25 \times 10^{-5}) + (\text{SPAD}) \times (4,04 \times 10^{-4}) + (5,52 \times 10^{-4}))$$

3.4.6 Determinação dos carboidratos, proteínas, aminoácidos e prolina

Para extração de macro e micromoléculas dos folíolos e raízes foram homogeneizados 0,2 g de massa seca moída, em 10 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40°C. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000g por 10 minutos, coletando-se o sobrenadante. As alíquotas do sobrenadante foram utilizadas para as análises de açúcares solúveis totais, açúcares redutores, aminoácidos e proteínas (ZANANDREA et al., 2010 - adaptado).

A extração de amido se deu após os processos de homogeneização e centrifugação dos tecidos já descritos anteriormente para obtenção dos extratos brutos o pellet foi ressuspenso com 8 mL de tampão acetato de potássio 200 mM pH 4,8, adicionado 2 mL da solução da enzima amiloglucosidase 1 mg/mL. Esse foi incubado em banho-maria por 2 horas a 40°C, centrifugado a 10.000g por 10 minutos. Foi coletado o sobrenadante e armazenado a -20°C. A quantificação ocorreu pelo método da Antrona.

Para extrair a sacarose foram utilizados 800 μL do extrato (macro e micro) e 800 μL de KOH 30% (VAN HANDEL, 1968). Banho-maria a 37°C por 15 minutos. A quantificação foi realizada pelo método da Antrona.

A quantificação do amido foi realizada utilizando alíquota de 70 μL para folíolos e raízes e a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), a alíquota foi de 10 μL nos folíolos e 20 μL nas raízes, ambas realizadas pelo método da Antrona (DISCHE, 1962). Para os açúcares redutores (AR) foi usado o protocolo descrito por Miller (1959), através de DNS, utilizando alíquota de 200 μL para ambos tecidos vegetais.

Para quantificação de aminoácidos (AA) foi empregada alíquota de 20 μL de folíolos e raízes e seguido o protocolo descrito por Yemm, Cocking e Ricketts (1955) pelo método da ninhidrina enquanto que para quantificar a concentração de proteínas solúveis totais (PTS) foi usada alíquota de 20 μL para ambos os tecidos vegetais, seguindo o protocolo descrito por Bradford (1976).

Para a extração da prolina foram pesados 200mg de matéria fresca dos tecidos vegetais e maceradas com 10 mL de ácido sulfosalicílico 3%. Foram agitadas a temperatura ambiente por 60 minutos e filtradas com filtro de papel. Para quantificação utilizou-se alíquotas de 400 μL do extrato dos folíolos e 800 μL para raízes. Foram adicionadas a 2 mL de ninhidrina ácida (BATLES et al., 1973) e 2 mL de ácido acético glacial. Em seguida as amostras foram mantidas por uma 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 microgramas de prolina/g de matéria fresca (TORELLO; RICE, 1986).

3.4.7 Determinação da atividade de enzimas do metabolismo antioxidante

O material foi devidamente coletado em N_2 líquido e armazenado em freezer a $-80\text{ }^\circ\text{C}$. Foi macerado 0,2 g de material fresco dos folíolos e raízes para obtenção do extrato enzimático, às quais foram adicionados 1.500 μL do tampão de extração contendo: 375 μL de tampão fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), 15 μL de EDTA 10 mM, 75 μL de ácido ascórbico 200 mM, e 1.035 μL de água. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a $4\text{ }^\circ\text{C}$ e o sobrenadante coletado e armazenado a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante o período das análises. Os sobrenadantes coletados foram utilizados nas análises enzimáticas da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (BIEMELT; KEETMAN; ALBRECHT, 1998).

A atividade da SOD foi analisada pela capacidade da enzima em inibir a fotoredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), em um meio de reação composto por: 1 μL de amostra dos folíolos e raízes, 39 μL de água e 160 μL de mix (100 μL de fosfato de potássio 100 mM, pH

7,8, 40 μL de metionina 10 mM, 3 μL de EDTA 1 mM, 15 μL de NBT 1 mM e 2 μL de riboflavina 0,2 mM). Com a utilização de uma lâmpada fluorescente de 20W, os tubos com o meio de reação e a amostra foram iluminados por 7 minutos. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima foi feito com a seguinte equação: % de inibição = $(A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições do ensaio (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Os resultados obtidos foram expressos em unidade/min/mg de matéria fresca.

Para a avaliação da CAT nos folíolos foi utilizada: uma alíquota de 3 μL do extrato, sendo adicionada a 180 μL do meio de incubação, contendo: 90 μL de fosfato de potássio 400 mM (pH 7,0), 9 μL de peróxido de hidrogênio 250 mM e 78 μL de água, incubado a 28 °C. Em raízes foi utilizada: uma alíquota de 6 μL do extrato, sendo adicionada a 180 μL do meio de incubação, contendo: 90 μL de fosfato de potássio 400 mM (pH 7,0), 9 μL de peróxido de hidrogênio 250 mM e 75 μL de água, incubado a 28 °C. A leitura foi feita pelo decréscimo na absorbância de 240 nm, a cada 15 segundos, durante 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio (HAVIR; McHALE, 1987). Os resultados foram expressos em $\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$. O coeficiente de extinção molar utilizado foi $36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A atividade da APX foi realizada por monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos. O meio de reação incubado a 28°C para folíolos foi composto de 1 μL do extrato, adicionado a 180 μL de tampão de incubação, miscigenado de: 90 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 9 μL ácido ascórbico 10 mM, 9 μL de H_2O_2 2 mM e 71 μL de água. Para raízes: 3 μL do extrato enzimático, adicionado a 180 μL de tampão de incubação, composto de: 90 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 9 μL ácido ascórbico 10 mM, 9 μL de H_2O_2 2 mM e 69 μL de água. A atividade foi expressa em $\mu\text{mol AsA min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$. O coeficiente de extinção molar utilizado foi $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (NAKANO; ASADA, 1981).

3.4.8 Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

A extração e determinação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foram realizadas de acordo com Wu et al. (2006). A matéria seca dos folíolos e raízes (0,4 g) foi macerada em nitrogênio líquido com polivinil polipirrolidona (PVPP), homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 12.000g por 15min, a 4 °C. Após a

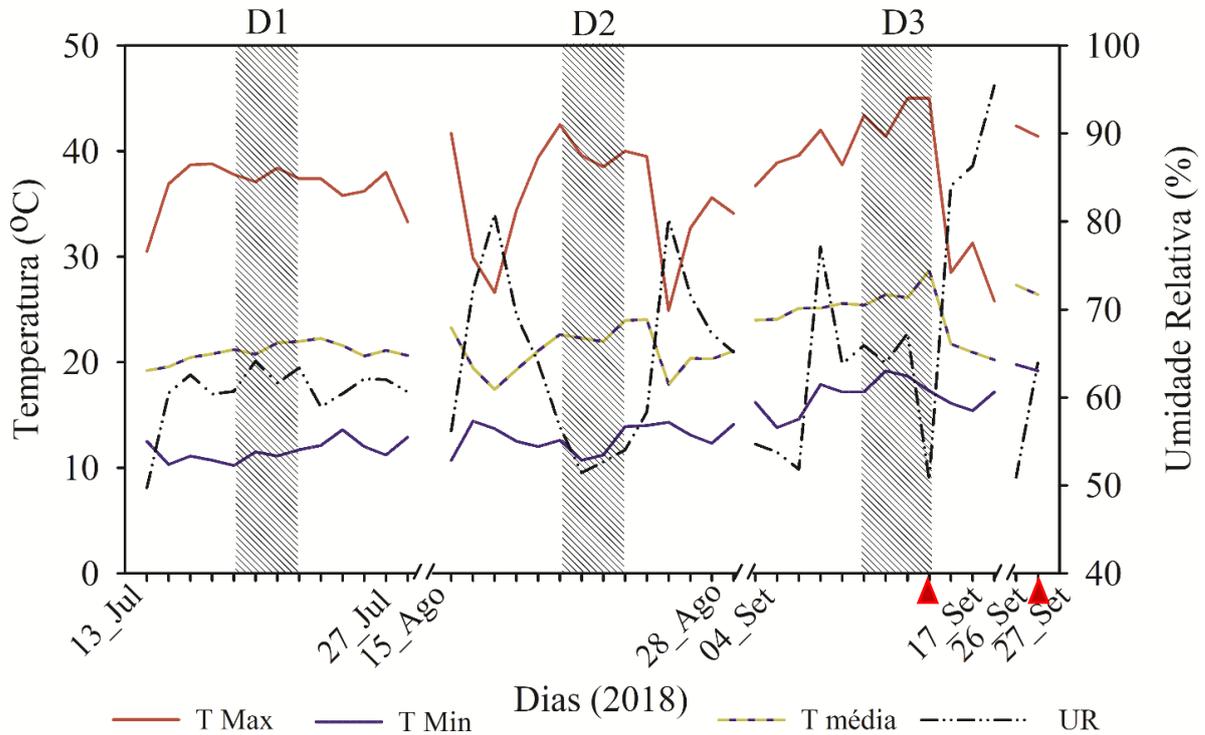
centrifugação o sobrenadante coletado foi incubado com o meio de reação constituído de 45 µL de tampão fosfato de potássio 10mM, pH 7, 45 µL de extrato e 90 µL de iodeto de potássio 1M. A alíquota utilizada para folíolo foi de 10 µL e para raiz 45 µL. A absorbância foi lida a 390 nm, e uma curva padrão de H₂O₂ foi utilizada para quantificar a concentração de peróxido nas amostras, sendo os valores expressos em µmol/mg de matéria fresca (VELIKOVA; YORDANOV; EDREVA, 2000).

A análise de peroxidação lipídica (MDA) foi determinada pela quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito Buege e Aust (1978). A extração seguiu o mesmo protocolo de maceração do H₂O₂. Porém, o material homogeneizado foi centrifugado a 12.000 g, por 15 minutos. Alíquotas de 125 µL do sobrenadante foram adicionados a 250 µL de TCA + TBA (1 mL do meio de reação (0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (p/v) de TCA), incubado, em seguida, a 95°C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras determinadas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação: $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / (\epsilon \cdot b)$, em que: ϵ (coeficiente de extinção = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$); b (comprimento ótico = 1). A quantidade de MDA foi expressa em nmol de MDA/mg de matéria fresca.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do período experimental a temperatura média foi de aproximadamente 27 °C, no entanto, durante as coletas, detectou-se um aumento na temperatura média, apresentando por volta de 30 °C na primeira coleta (DH), e uma forte elevação na temperatura máxima de aproximadamente 44 °C na segunda coleta (RH) (FIGURA 5). A umidade relativa média (UR) no decorrer do experimento foi de 53,53%, enquanto que no momento de DH a UR média foi de 54,69%, entretanto, após a reidratação foi de 50,90%.

Figura 5 - Dados diários de temperatura (T, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) registradas dentro da casa de vegetação durante o período experimental.



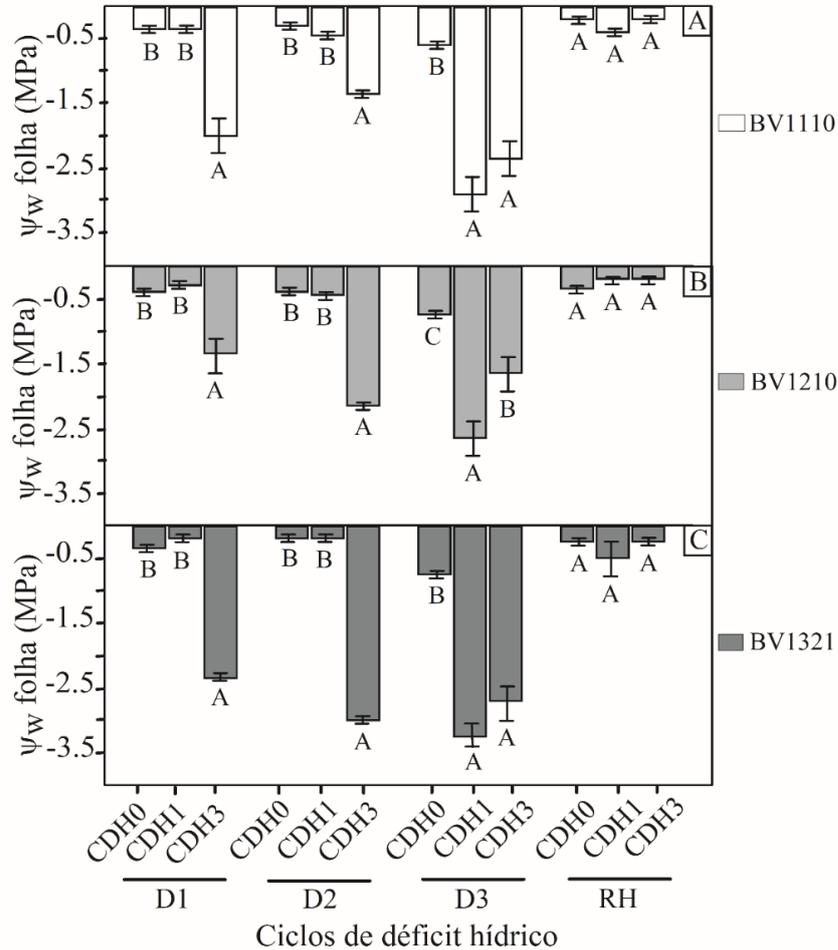
Legenda: Temperatura máxima, mínima e média no eixo primário, representadas pelas linhas contínuas e pontilhada, respectivamente e de umidade relativa do ar no eixo secundário, representada pela linha tracejada. As marcações em D1, D2 e D3 indicam as faixas de dias dos ciclos de restrição hídrica. Os triângulos (▲) representam os pontos de coleta (período de DH e após a RH, respectivamente).
Fonte: Do autor (2020).

Sob condições de irrigação constante (CDH0), o potencial hídrico foliar (Ψ_{wfoliar}) se manteve sempre acima de $-0,7\text{MPa}$, independentemente do clone e do ciclo estudado, o que indicou que as plantas sob irrigação constante estavam totalmente hidratadas ao longo do experimento (FIGURA 6). A suspensão da irrigação durante os ciclos D1, D2 e D3, provocou decréscimos no Ψ_{wfoliar} nos três clones. No primeiro ciclo (D1), o Ψ_{wfoliar} do clone BV1110, para o grupo de plantas hidratadas (CDH0 e CDH1) foi de aproximadamente $-0,1\text{MPa}$ enquanto que o grupo de plantas sob déficit hídrico apresentou uma redução de $-2,3\text{MPa}$ (FIGURA 6A). No segundo ciclo de déficit hídrico (D2), o Ψ_{wfoliar} das plantas dos grupos CDH0 e CDH1 foi por volta de $-0,5\text{MPa}$ e do grupo CDH3 uma média de $-1,5\text{MPa}$. No ciclo D3, o grupo CDH0 permaneceu com o potencial hídrico foliar próximo de $-0,6\text{MPa}$ e os grupos com restrição hídrica (CDH1 e CDH3) exibiram potencial hídrico de aproximadamente $-3,0\text{MPa}$ (FIGURA 6A).

Para o clone BV1210, no primeiro ciclo (D1), os grupos de plantas hidratadas CDH0 e CDH1 obtiveram Ψ_{foliar} de -0,4 MPa e o grupo com déficit hídrico (CDH3), -1,5 MPa (FIGURA 6B). No ciclo D2, os grupos CDH0 e CDH1 de plantas hidratadas indicou Ψ_{foliar} em torno de -0,5 MPa, enquanto que o grupo CDH3 apresentou valores de -2,3MPa. No terceiro ciclo (D3), o grupo de plantas hidratadas CDH0 obteve o Ψ_{foliar} de -0,7 MPa, o grupo de um ciclo de déficit hídrico (CDH1) exibiu valor médio de -2,5MPa e o grupo que estava no terceiro ciclo de déficit hídrico (CDH3) valores de aproximadamente -2,0MPa (FIGURA 6B).

Já o clone BV1321 expressou menores valores durante a indução do déficit hídrico quando comparado com os outros clones, passando a ser usado como parâmetro para indicar o estresse aplicado (FIGURA 6C). No ciclo D1 os grupos de plantas hidratadas, CDH0 e CDH1, apresentaram Ψ_{foliar} médio de -0,4 MPa e o grupo CDH3 valor de -2,3 MPa. O segundo ciclo (D2) permitiu aferir Ψ_{foliar} de -0,2 MPa para os grupos CDH0 e CDH1 enquanto que o grupo CDH3 foi de -3,0 MPa. No ciclo D3, o grupo CDH0 indicou Ψ_{foliar} de -0,7 MPa, já o grupo com um ciclo de déficit hídrico (CDH1) expressou Ψ_{foliar} de -3,2MPa ao passo que o grupo CDH3 apresentou valor médio de -2,8 MPa (FIGURA 6C). Os valores do potencial hídrico foliar no período de reidratação (RH), foram semelhantes para todos os clones independente dos ciclos de déficit hídrico, com média de -0,5 MPa (FIGURA 6A, B, C).

Figura 6 - Potencial hídrico foliar (Ψ_w) na antemã (entre 3 e 4h) dos clones de cedro australiano BV1110 (A), BV1210 (B) e BV1321 (C), submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), nos períodos de restrição hídrica (D1, D2 e D3) e reidratação (RH), cultivados em casa de vegetação.

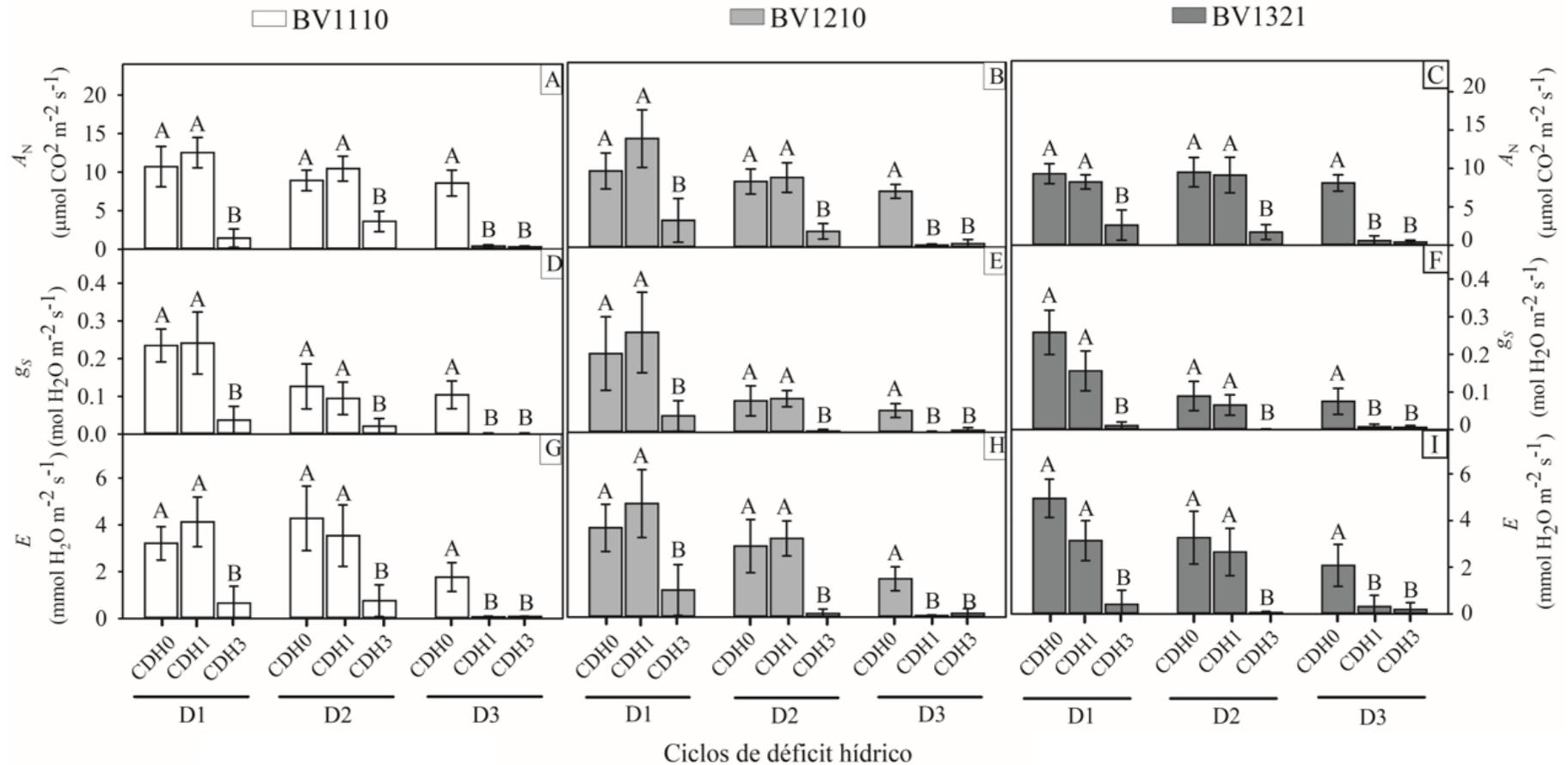


Nota: As letras comparam os grupos de plantas nos períodos de restrição hídrica e reidratação. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$). (D1): primeiro ciclo de déficit hídrico; (D2): segundo ciclo de déficit hídrico; (D3): terceiro ciclo de déficit hídrico (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico.

Fonte: do autor (2020).

Os parâmetros avaliados nas análises de trocas gasosas foram fotossíntese líquida (A) (FIGURA 7A, 7D, 7G), condutância estomática (g_s) (FIGURA 7B, 7E, 7H) e transpiração (E) (FIGURA 7C, 7F, 7I). Os clones BV1110, BV1210 e BV1321 apresentaram padrões semelhantes nos ciclos D1 e D2 para os grupos de plantas hidratadas CDH0 e CDH1, enquanto que os grupos CDH3 de plantas sob déficit hídrico registraram redução em todos os parâmetros analisados. Já no ciclo D3, os grupos sob déficit hídrico CDH1 e CDH3 expressaram reduções nas variáveis A , g_s e E quando comparadas aos grupos CDH0, em que as plantas permaneceram hidratadas (FIGURA 7A, 7B, 7C, 7D, 7E, 7F, 7G, 7H, 7I).

Figura 7 – Fotossíntese líquida (A_N), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) dos clones de cedro australiano BV1110, BV1210, BV1321 nos períodos de restrição hídrica (D1, D2 e D3), submetido a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3).



Nota: As letras comparam os grupos de plantas nos períodos de restrição hídrica. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$). (D1): primeiro ciclo de déficit hídrico; (D2): segundo ciclo de déficit hídrico; (D3): terceiro ciclo de déficit hídrico (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico.

Fonte: do autor (2020).

As análises biométricas, na tabela 2, mostraram que os clones BV1110 e BV1210 apresentaram valores similares de altura e diâmetro nos grupos CDH1 e CDH3 quando em situação de déficit hídrico e, após a reidratação, nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3. O comprimento da raiz não apresentou diferença entre os grupos em DH e RH, porém quando comparados os grupos após a reidratação houve aumento de aproximadamente 35% e 27% nas plantas submetidas ao CDH1 e 38% e 36% ao grupo CDH3 nos clones BV1110 e BV1210, respectivamente (TABELA 2).

O clone BV1321 expressou alturas semelhantes entre os grupos CDH1 e CDH3 no período de DH e entre os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 em RH. Após a reidratação, as plantas do grupo CDH3 apresentaram um aumento de 17% em sua altura. Os valores observados do diâmetro não diferiram significativamente entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, entretanto, após a reidratação o grupo CDH3 exibiu redução de 10% em relação aos grupos CDH0 e CDH1 e não houve diferença entre os grupos após RH. Não se observou alterações no comprimento da raiz nos grupos submetidos a DH e RH, apenas quando comparado o grupo de plantas CDH1 após a reidratação que é possível notar um aumento de 31% (TABELA 2).

Tabela 2 – Altura das plantas (H), diâmetro do caule (D) e o comprimento da raiz (CR) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).

Clones	Ciclos de déficit hídrico		Altura – H	Diâmetro - D	Comprimento da Raiz
			(cm)	(mm)	- CR (cm)
BV1110	DH	CDH1	97,00 Aa	17,28 Aa	29,40 Ab
		CDH3	92,30 Aa	17,11 Aa	23,90 Ab
	RH	CDH0	96,00 A	18,40 A	44,50 A
		CDH1	98,40 Aa	18,75 Aa	45,60 Aa
		CDH3	92,5 Aa	17,13 Aa	39,00 Aa
BV1210	DH	CDH1	88,70 Aa	17,04 Aa	23,70 Ab
		CDH3	87,08 Aa	17,07 Aa	20,20 Ab
	RH	CDH0	86,90 A	19,49 A	30,50 A
		CDH1	84,00 Aa	19,09 Aa	32,50 Aa
		CDH3	72,70 Aa	17,32 Aa	31,80 Aa
BV1321	DH	CDH1	75,00 Aa	17,77 Aa	18,20 Ab
		CDH3	61,20 Ab	17,50 Aa	20,90 Aa
	RH	CDH0	79,40 A	18,51 A	24,90 A
		CDH1	72,90 Aa	19,88 Aa	26,70 Aa
		CDH3	73,70 Aa	16,05 Ba	22,50 Aa

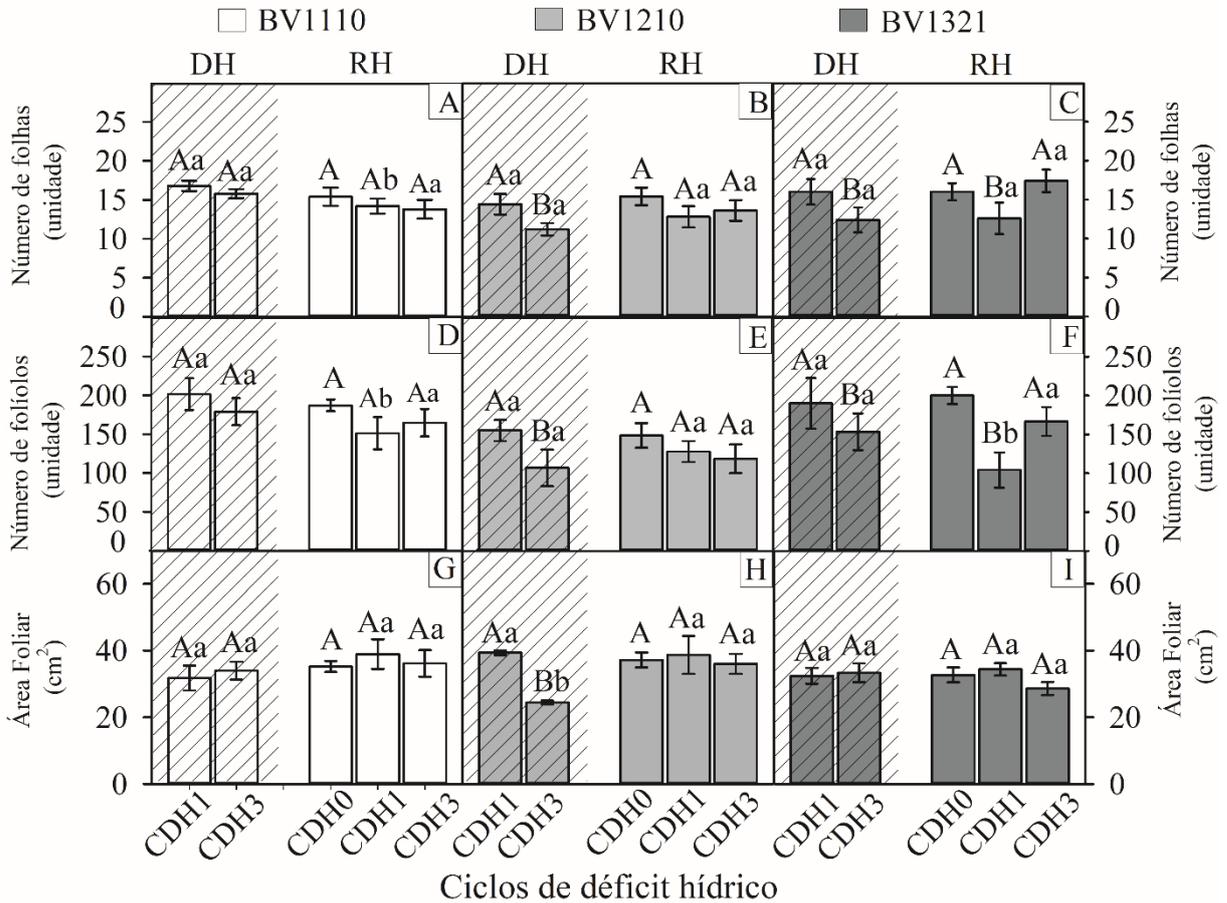
Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

Os parâmetros expressos na Figura 8 mostraram, para o clone BV1110, um padrão de semelhança entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação, com relação ao número de folhas, folíolos e da área foliar (FIGURA 8A, 8D, 8G). Quando comparados os grupos após a reidratação foi possível notar uma redução de 18% e 33% no número de folhas e folíolos, respectivamente do grupo CDH1, enquanto que não houve diferença na área foliar (FIGURA 8A, 8D e 8G).

O clone BV1210 variou por meio de uma redução entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico para os parâmetros de número de folhas, folíolos e área foliar (FIGURA 8B, 8E e 8H), ao passo que os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 não diferiram entre si após a reidratação. Ao comparar os grupos de plantas sob déficit hídrico e após a reidratação, notou-se valores similares entre o número de folhas e folíolos e um aumento de 32% na área foliar do grupo CDH3.

Em referência ao número de folhas e folíolos do clone BV1321, foi possível detectar redução no grupo CDH3 em relação ao grupo CDH1 sob DH (FIGURA 8C e 8F). Após a reidratação, o grupo CDH1 mostrou uma diminuição significativa ao número de folhas e folíolos ao ser comparado aos grupos CDH0 e CDH3, que não diferiram entre si (FIGURA 8C e 8F). Não houve alteração significativa no número de folhas dos grupos em comparação aos períodos de DH e RH (FIGURA 8C). Quanto ao número de folíolos, o grupo CDH1 apresentou um decréscimo de 82% entre os períodos de déficit hídrico e reidratação (FIGURA 8F). O parâmetro de área foliar não registrou diferenças significativas entre os grupos nos períodos de DH e RH, assim como entre os períodos (FIGURA 8I).

Figura 8 - Número de folhas (NF), número de folíolos (NF1) e área foliar (AF) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

Na tabela 3 podemos observar que o clone BV1110 não apresentou diferença na massa seca (MS) de folíolos e caules nos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação, bem como na comparação dos grupos entre os períodos. Ao analisar os dados de MS da raiz foi possível notar que os grupos CDH1 e CDH3 não diferiram entre si no período de déficit hídrico (DH), porém ao relacionar os grupos entre os períodos notou-se uma diminuição de aproximadamente 37% no grupo CDH3 após a reidratação. (TABELA 3). O comprimento radicular específico foi 27% maior no grupo de plantas CDH1 em comparação com CDH3 sob déficit hídrico. Após a reidratação o grupo CDH0 apresentou

menor valor do que os grupos CDH1 e CDH3. Não foi encontrada diferença significativa nos grupos entre os períodos de DH e após RH. Já o parâmetro de porcentagem de água no tecido radicular não mostrou variação entre os grupos CDH1 e CDH3 sob DH, porém o grupo CDH0 obteve valores menores do que CDH1 e CDH3 após RH. Mas ao relacionar os grupos CDH1 e CDH3 entre os períodos, DH obteve porcentagens maiores do que após a reidratação (TABELA 3).

Ao relacionar os grupos do clone BV1210 sob déficit hídrico, verificou-se uma redução de 30% na MS de folíolos no grupo CDH3 (TABELA 3). Após a reidratação os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 apresentaram valores similares no conteúdo de massa seca. Ao comparar os grupos nos diferentes períodos não foi possível notar diferença significativa. A massa seca dos caules e das raízes não diferiram os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, em contrapartida, após o período de reidratação o grupo CDH3 registrou redução significativa em relação aos grupos CDH0 e CDH1. Padrões similares foram encontrados nos grupos quando comparados os períodos de DH e RH. Quanto ao comprimento radicular não foram observadas variações entre CDH1 e CDH3 para o período de DH, entretanto após a reidratação o grupo CDH3 foi o que registrou maior valor em comparação com CDH0 e CDH1. Ao comparar os períodos, o grupo CDH1 não diferiu enquanto que CDH3 foi maior em RH. Para porcentagem de água no tecido não foram observadas alterações nos grupos CDH1 e CDH3 sob DH e CDH0, 1 e 3 após RH. Mas entre os períodos o grupo de plantas CDH3 obteve menor valor após o período de reidratação (TABELA 3).

Os dados de massa seca de folíolos obtidos para o clone BV1321 não exibiu diferença nos grupos CDH1 e CDH3 quando induzido o déficit hídrico, ao passo que após a reidratação os grupos CDH1 e CDH3 apresentaram redução em relação ao grupo de plantas que permaneceram hidratadas ao longo do experimento (CDH0). Não houve alteração significativa na comparação dos grupos nos períodos de DH e RH (TABELA 3). Valores similares foram detectados para MS dos caules nos grupos de plantas em situação de déficit hídrico e após a reidratação, assim como comparados nos dois períodos. A massa seca das raízes nos grupos de plantas CDH1 e CDH3 sob DH não apresentou diferença nos seus valores, em contrapartida, após a reidratação o grupo CDH0 se mostrou maior em comparação aos grupos CDH1 e CDH3. Ao comparar os grupos entre os períodos notou-se uma redução de 40% no grupo CDH3 após a reidratação. Quanto ao comprimento radicular específico, os grupos CDH1, CDH3 sob DH e os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação não mostraram diferenças significativas. Enquanto que, ao comparar os períodos, os grupos CDH1 e CDH3 foram maiores após o

período reidratação. A porcentagem de água no tecido radicular foi maior no grupo de plantas CDH1 sob déficit hídrico e sem alterações nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Em relação aos períodos, o grupo de plantas CDH3 obteve maiores valores sob déficit hídrico do que após a reidratação (TABELA 3).

Tabela 3 – Massa seca (MS) dos folíolos, caule e raiz, comprimento radicular específico e porcentagem de água no tecido radicular dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).

Clones	Ciclos de déficit hídrico		MS	MS	MS	Comprimento	Água no
			Folíolo (g)	Caule (g)	Raiz (g)	radicular específico (cm g ⁻¹)	tecido radicular (%)
BV1110	DH	CDH1	21,66 Aa	31,84 Aa	30,02 Aa	1,00 Aa	31,58 Aa
		CDH3	21,09 Aa	29,14 Aa	33,28 Aa	0,73 Bb	30,46 Aa
	RH	CDH0	26,52 A	34,46 A	36,31 A	1,26 B	24,95 B
		CDH1	20,90 Aa	33,15 Aa	30,98 Aa	1,56 Aa	27,03 Ab
		CDH3	20,00 Aa	28,91 Aa	20,45 Bb	1,98 Aa	28,76 Ab
BV1210	DH	CDH1	20,54 Aa	30,39 Aa	29,67 Aa	0,88 Aa	33,97 Aa
		CDH3	12,07 Ba	24,54 Aa	24,23 Aa	0,87 Ab	27,00 Aa
	RH	CDH0	22,82 A	37,89 A	28,08 A	1,15 B	23,93 A
		CDH1	18,32 Aa	32,70 Aa	27,35 Aa	1,28 Ba	25,03 Ab
		CDH3	13,51 Aa	24,70 Ba	16,51 Ba	2,00 Aa	26,80 Aa
BV1321	DH	CDH1	19,04 Aa	32,79 Aa	30,19 Aa	0,64 Ab	35,62 Aa
		CDH3	18,37 Aa	29,08 Aa	37,56 Aa	0,57 Ab	29,70 Ba
	RH	CDH0	24,51 A	39,26 A	29,45 A	0,87 A	25,38 A
		CDH1	12,92 Ba	32,24 Aa	23,38 Aa	1,31 Aa	29,28 Ab
		CDH3	17,01 Ba	30,82 Aa	23,54 Ab	1,14 Aa	26,76 Aa

Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico.

Fonte: do autor (2020).

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram expressos na tabela 4 utilizando as variáveis *quenching* não-fotoquímico (NPQ), rendimento quântico potencial do PSII (YII), rendimento quântico efetivo (Φ PSII), e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR). Nos folíolos do clone BV 1110, o *quenching* não-fotoquímico foi similar nos grupos CDH1 e CDH3 sob DH, e menores nos grupos CDH0 e CDH1 quando comparados com o grupo CDH3 após RH. Ao relacionar os grupos entre os períodos foi possível notar um aumento nos grupos CDH1 e CDH3 após a reidratação. Não houve diferença nos valores da Y(II) e Φ PSII nos grupos CDH1 e CDH3 quando induzido o déficit hídrico e nem mesmo nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Da mesma maneira que não foi possível notar diferença estatística quando comparados os grupos de plantas entre os períodos de DH e RH. A capacidade intrínseca do aparelho fotossintético representado pela ETR foi similar nos grupos CDH1 e CDH3 durante o período de seca e nos grupos CDH0, 1 e 3 após a reidratação. Porém, ao relacionar os grupos entre os períodos, o grupo CDH1 aumentou a taxa entre os períodos de DH e RH (TABELA 4).

No clone BV 1210, o NPQ foi maior no grupo de plantas CDH1 do que CDH3 sob déficit hídrico, porém os grupos CDH1 e 3 expressaram menores taxas do que o grupo CDH0, após RH. Ao analisar os grupos entre os períodos de DH e após RH foi possível notar que a reidratação promoveu uma redução no grupo CDH1 e aumento no grupo CDH3. Valores de similaridade foram obtidos pelo rendimento quântico potencial do PSII, nos grupos CDH1 e CDH3 em DH, e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Porém, os grupos CDH1 e CDH3 no período de DH foram menores em comparação ao período após RH. A variável do rendimento quântico efetivo foi menor no grupo CDH3 no período de DH e maior no grupo CDH1 após o período de reidratação. Ao relacionar os períodos, houve uma redução no Φ PSII do grupo de plantas CDH3 e aumento no grupo CDH1 após a RH. A ETR foi maior estimada no grupo CDH1 do que o grupo CDH3, no período de déficit hídrico e menor no grupo CDH0, após o período de RH. Entre os períodos, os grupos CDH1 e CDH3 tiveram um aumento significativo de DH para após a RH (TABELA 4).

Ao analisar a fluorescência da clorofila *a* do clone BV 1321, foi possível notar que o grupo de plantas CDH1 obteve maiores valores no NPQ do que o grupo CDH3 e após a reidratação os grupos CDH1 e CDH3 foram menores do que CDH0. Essa redução foi visualizada quando comparados os períodos, onde CDH1 e 3 reduziram seus valores. O Y(II) das plantas sob déficit hídrico foi menor no grupo CDH1 do que no CDH3, após a reidratação não houve diferença entre os grupos. Enquanto que entre os períodos, os grupos CDH1 e CDH3 de plantas sob o período de DH foram maiores do que no período após a reidratação. Maiores

valores do Φ PSII foram observados no grupo CDH3 sob DH e após a reidratação esse grupo de plantas obtiveram menores taxas (TABELA 4). Entre os períodos, o grupo CDH1 sob DH, foi significativamente inferior ao período de RH. A ETR do grupo de plantas CDH1 se mostrou menor do que CDH3 sob déficit hídrico, enquanto que após a reidratação não foi possível observar alterações entre os grupos CDH0, 1 e 3. Em comparação entre os períodos, os grupos CDH1 e CDH3 foram inferiores no DH do que após o período de RH (TABELA 4).

Tabela 4 – *Quenching* não-fotoquímico (NPQ), rendimento quântico potencial do PSII (YII), rendimento quântico efetivo (Φ PSII), e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) nos folíolos dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).

Clones	Ciclos de déficit hídrico		NPQ	Y(II) (Fv/Fm)	Φ PSII	ETR ($\mu\text{mol } \bar{e} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
BV1110	DH	CDH1	1,28 Ab	0,71 Aa	0,34 Aa	17,56 Ab
		CDH3	1,55 Ab	0,69 Aa	0,37 Aa	19,17 Aa
		CDH0	1,45 B	0,79 A	0,43 A	23,12 A
	RH	CDH1	1,52 Ba	0,78 Aa	0,41 Aa	21,46 Aa
		CDH3	2,39 Aa	0,79 Aa	0,41 Aa	22,67 Aa
BV1210	DH	CDH1	1,36 Aa	0,58 Ab	0,42 Ab	23,21 Ab
		CDH3	0,93 Bb	0,51 Ab	0,33 Bb	18,30 Bb
		CDH0	2,34 A	0,77 A	0,31 B	21,93 A
	RH	CDH1	0,62 Bb	0,79 Aa	0,58 Aa	32,76 Ba
		CDH3	1,20 Ba	0,78 Aa	0,40 Bb	23,54 Aa
BV1321	DH	CDH1	1,32 Aa	0,62 Ab	0,19 Bb	10,89 Bb
		CDH3	0,81 Ba	0,49 Bb	0,36 Aa	14,82 Ab
		CDH0	1,53 A	0,77 A	0,42 A	27,51 A
	RH	CDH1	0,79 Bb	0,76 Aa	0,47 Aa	28,17 Aa
		CDH3	0,72 Bb	0,78 Aa	0,36 Ba	29,06 Aa

Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). DH: período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

Os teores de clorofila *a* encontrados no clone BV1110 apresentados na tabela 5 mostraram que não houve alterações nos grupos CDH1 e CDH3 quando em situação de déficit hídrico, porém após a reidratação foi possível notar que o grupo de plantas CDH0 expressou maior conteúdo de clorofila em relação aos grupos CDH1 e CDH3. Ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de déficit hídrico e reidratação não houve variação no conteúdo de clorofila *a*. O conteúdo de clorofila *b* não se mostrou diferente nos grupos CDH1 e CDH3 em DH, ao passo que quando reidratados o grupo CDH0 exibiu menor teor em comparação aos grupos CDH1 e CDH3. Valores menores foram observados no grupo CDH3 após o período de reidratação quando comparados os períodos. Sob déficit hídrico, o teor de carotenoides foi expresso em menor quantidade no grupo CDH1, enquanto que após a reidratação o grupo CDH0 apresentou maior teor em relação aos grupos CDH1 e CDH3. Os grupos não diferiram no conteúdo de carotenoides entre nos períodos. As análises do índice SPAD exibiram valores similares nos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Porém ao relacionar os grupos nos períodos de DH e RH notou-se redução nos grupos CDH1 e CDH3 (TABELA 5).

Para o clone BV1210, o teor de clorofila *a* foi expresso de maneira similar entre os grupos CDH1 e CDH3 no período de déficit hídrico e com uma redução no grupo CDH1 quando comparado a CDH0 e CDH3 após a reidratação. Não foram observadas alterações no conteúdo de clorofila *a* ao relacionar os grupos nos períodos de DH e RH. Com relação ao teor de clorofila *b* nos grupos sob déficit hídrico, houve um aumento de 76,4% no grupo CDH3 comparado ao grupo CDH1. Após a reidratação também foi possível observar um acréscimo de aproximadamente 95% no conteúdo de clorofila *b* nos grupos CDH1 e CDH3 quando comparados as plantas irrigadas constantemente. Ao analisar os grupos entre os períodos de DH e RH foi possível notar que a reidratação promoveu uma redução em média de 71% no teor de clorofila *b* no grupo CDH3 (TABELA 5). Plantas em condição de déficit hídrico apresentaram valores próximos de conteúdo de carotenoides entre os grupos CDH1 e CDH3, porém após o período de reidratação foi possível notar que o grupo CDH0 expressou maiores teores de carotenoides em relação aos grupos CDH1 e CDH3. Padrões de similaridade foram observados ao comparar os grupos de plantas nos períodos de DH e RH. Não foram registradas alterações no índice SPAD nos grupos CDH1 e CDH3 de plantas sob DH e os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após RH, em contrapartida houve redução nos grupos CDH1 e CDH3 de plantas reidratadas em comparação com as plantas no período de déficit hídrico (TABELA 5).

Em referência ao clone BV1321, o teor de clorofila *a* não diferiu entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação, ao passo que ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH e RH foi possível registrar que o grupo CDH3 reduziu o conteúdo de clorofila *a* após a reidratação. O conteúdo de clorofila *b* foi expresso em menor quantidade no grupo de plantas CDH3 quando comparado ao CDH1 no período de déficit hídrico. Após a reidratação o grupo CDH3 exibiu maior conteúdo de clorofila *b* em relação aos grupos CDH0 e CDH1. Ainda foi possível notar redução no teor de clorofila *b* no grupo CDH1 e aumento no grupo CDH3 no período de reidratação quando comparado ao período de déficit hídrico (TABELA 5). Houve um padrão na resposta do conteúdo de carotenoides com valores similares nos grupos CDH1 e CDH3 no período de DH, nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 no período de RH. Ao comparar os grupos entre os diferentes períodos, houve redução nos grupos CDH1 e CDH3 entre os períodos de DH para RH. Com relação ao índice SPAD nota-se que os grupos CDH1 e CDH3 não modificaram no período de déficit hídrico, em contrapartida houve uma redução significativa no grupo CDH3 em relação aos grupos CDH0 e CDH1 após o período de reidratação, assim como quando comparados o grupo mesmo grupo entre os períodos de DH e RH (TABELA 5).

Tabela 5 – Conteúdo de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), carotenoides e conteúdo relativo de clorofila (clorofilometro) nos folíolos dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).

Clones	Ciclos de déficit hídrico	Pigmentos			Conteúdo Relativo de Chl (mg cm ⁻²)	
		Chl <i>a</i> (mg g ⁻¹ MF)	Chl <i>b</i> (mg g ⁻¹ MF)	Carotenoides (mg g ⁻¹ MF)		
BV1110	DH	CDH1	2.152 Aa	0.899 Aa	0.441 Ba	0.04 Aa
		CDH3	2.848 Aa	0.563 Aa	0.749 Aa	0.04 Aa
	RH	CDH0	4.089 A	0.069 B	0.867 A	0.02 A
		CDH1	1.717 Ba	0.737 Aa	0.491 Ba	0.03 Ab
		CDH3	2.342 Ba	0.131 Ab	0.573 Ba	0.03 Ab
BV1210	DH	CDH1	3.000 Aa	0.303 Ba	0.666 Aa	0.04 Aa
		CDH3	2.148 Ab	1.284 Aa	0.585 Aa	0.04 Aa
	RH	CDH0	3.782 A	0.026 B	0.968 A	0.03 A
		CDH1	1.946 Ba	0.608 Aa	0.484 Ba	0.03 Ab
		CDH3	3.047 Aa	0.566 Ab	0.704 Ba	0.03 Ab
BV1321	DH	CDH1	2.708 Aa	0.748 Aa	0.719Aa	0.04 Aa
		CDH3	2.940 Aa	0.251 Bb	0.732 Aa	0.04 Aa
	RH	CDH0	2.631 A	0.270 B	0.594 A	0.03 Aa
		CDH1	2.029 Aa	0.217 Bb	0.470 Ab	0.03 Aa
		CDH3	1.797 Ab	0.867 Aa	0.573 Ab	0.01 Bb

Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

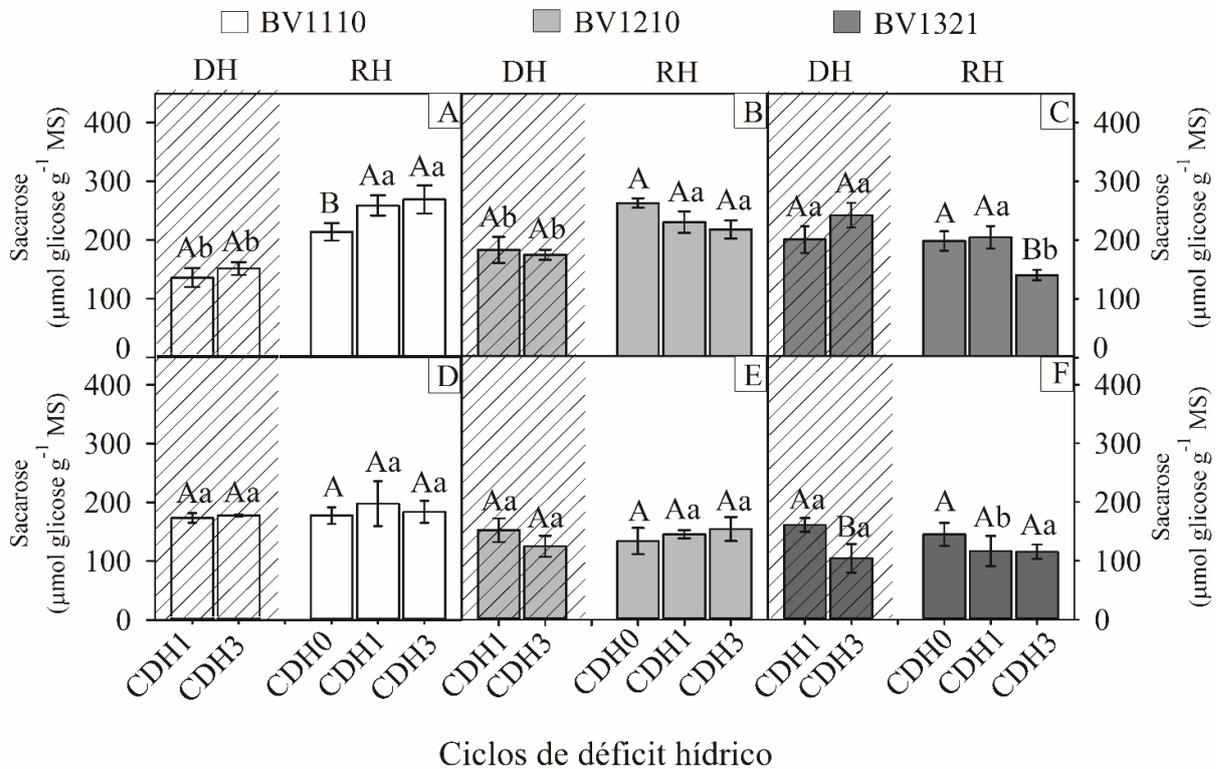
O conteúdo de sacarose nos folíolos do clone BV1110 não apresentou diferença significativa entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, enquanto que após a hidratação os grupos CDH1 e CDH3 expressaram maiores teores de sacarose em relação ao grupo de plantas CDH0. Além disso, os grupos CDH1 e CDH3 acumularam sacarose após o período de

reidratação quando comparado ao período de déficit hídrico (FIGURA 9A). Nas raízes, não foram observadas variações no conteúdo de sacarose nos grupos de plantas CDH1 e CDH3 nos períodos de DH e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 no período após RH, bem como ao comparar os grupos entre os dois períodos avaliados (FIGURA 9D).

No clone BV1210, o teor de sacarose nos folíolos não foi alterado nos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Entretanto, ao comparar os grupos entre os períodos notou-se um aumento no conteúdo de sacarose após a reidratação (FIGURA 9B). Os conteúdos de sacarose nas raízes não diferiram entre os grupos nos períodos de DH e nos grupos após RH, bem como não promoveu modificações ao relacionar os grupos de plantas sob déficit hídrico e após a reidratação (FIGURA 9E).

Ao comparar os grupos do clone BV1321 sob déficit hídrico, não foram observadas alterações no conteúdo de sacarose nos folíolos, ao passo que o grupo de plantas CDH3 exibiu redução significativa após a reidratação em relação aos grupos CDH0 e CDH1. O grupo de plantas CDH3 diminuiu 72% no teor de sacarose ao comparar os grupos entre os períodos (FIGURA 9C). Ao relacionar o conteúdo de sacarose nas raízes notou-se que o grupo de plantas CDH3 sob restrição hídrica reduziu seu conteúdo em relação ao grupo CDH1, em contrapartida plantas após a reidratação não diferiram entre os grupos CDH0, CDH1 e CDH3. Já entre os grupos de plantas submetidas aos períodos de DH e RH, o grupo CDH1, exibiu 38% a menos no conteúdo de sacarose nas raízes (FIGURA 9F).

Figura 9 – Sacarose nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

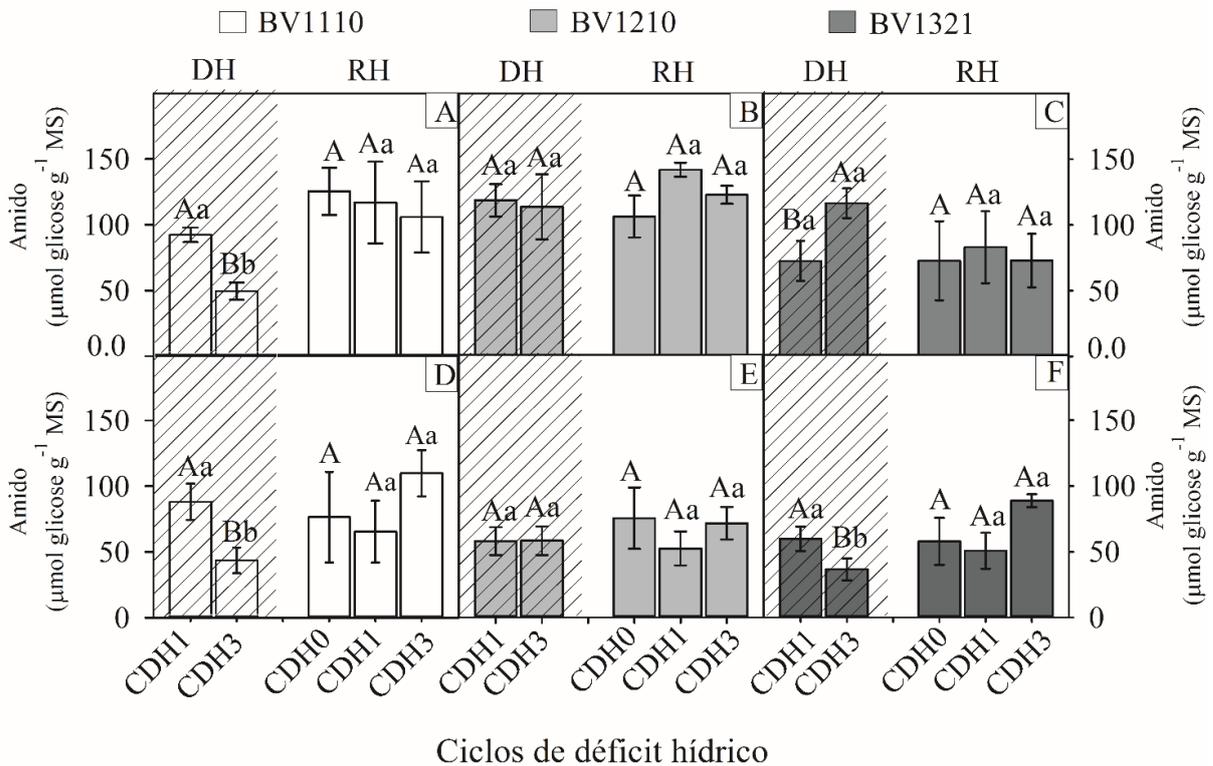
O teor de amido nos folíolos e nas raízes do clone BV1110 sob déficit hídrico expressou uma redução no grupo de plantas CDH3, contudo os grupos CDH0, 1 e 3, após a reidratação, não diferiram entre si. O grupo de plantas CDH3 apresentou acréscimo no conteúdo de amido nos folíolos e raízes quando comparados os períodos de DH para RH (FIGURA 10A e 10D).

Nos folíolos e nas raízes do clone BV1210 foi possível notar padrões de semelhança entre os grupos sob déficit hídrico, entre os grupos após a reidratação, bem como ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 10B e 10E).

As respostas do clone BV1321 com relação ao teor de amido nos folíolos mostrou um aumento significativo no grupo CDH3 em plantas sob déficit hídrico, porém os grupos de plantas CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação não diferiram entre si. Análises comparativas dos grupos entre os períodos de DH e RH não apresentaram diferenças no conteúdo de amido nos folíolos (FIGURA 10C). Nas raízes, o teor de amido reduziu significativamente no grupo

CDH3 sob déficit hídrico, em contrapartida, padrões de semelhança foram observados nos grupos de plantas CDH0, CDH1 e CDH3 em RH. Ao comparar os grupos de plantas entre os períodos avaliados foi possível notar que o grupo CDH3 acumulou 58% de amido após a reidratação (FIGURA 10F).

Figura 10 – Teor de amido nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

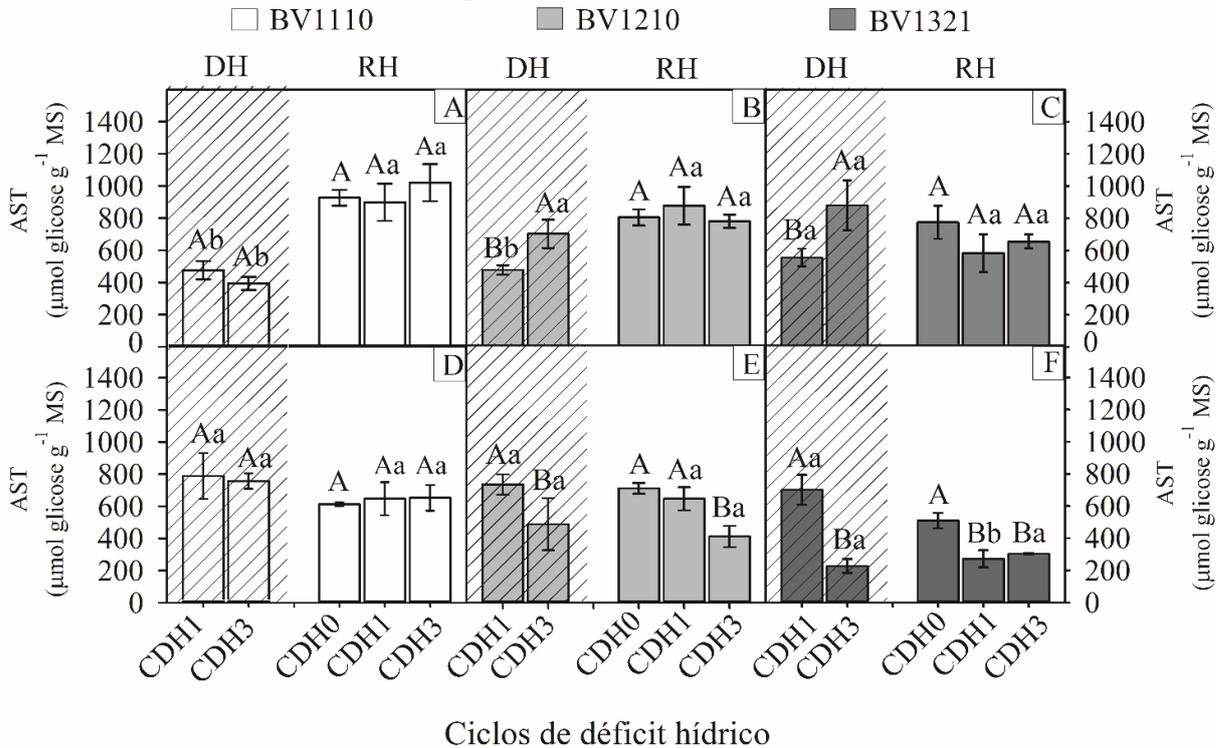
Nos folíolos do clone BV1110, os teores de açúcares solúveis totais (AST) nos grupos de plantas CDH1 e CDH3 não registraram variação no período de déficit hídrico bem como nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Os grupos CDH1 e CDH3 apresentaram acúmulo de AST de 47% e 61% respectivamente, ao comparar os grupos entre os períodos de DH e RH (FIGURA 11A). Os conteúdos de AST nas raízes exibiram valores similares nos grupos CDH1 e CDH3 assim como nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e

após a reidratação, respectivamente. Quando comparado os grupos entre os períodos também foi possível notar semelhança no teor de AST, nas raízes (FIGURA 11D).

No clone BV1210, o conteúdo de AST nos folíolos foi maior no grupo CDH3 sob restrição hídrica, ao passo que após a reidratação os valores foram iguais entre os grupos CDH0, CDH1 e CDH3. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH e RH, notou-se aumento no teor de AST no grupo CDH1 (FIGURA 11B). As raízes foram afetadas no grupo CDH3 apresentando redução no período de déficit hídrico, assim como no período de reidratação. Valores próximos nos conteúdos de AST foram encontrados nos grupos entre os períodos de DH e RH (FIGURA 11E).

Com relação ao clone BV1321, os teores de AST nos folíolos no grupo de plantas CDH3 foi maior em relação ao grupo CDH1, sob déficit hídrico. Todavia não foram encontradas alterações nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 das plantas após a reidratação e também quando comparados os grupos entre os períodos de DH e RH (FIGURA 11C). Nos tecidos radiculares notou-se uma redução no conteúdo de AST do grupo de plantas CDH3 em relação ao CDH1 sob restrição hídrica, e nos grupos CDH1 e CDH3 em comparação com o grupo CDH0, após a reidratação. Análises comparativas nos grupos entre os períodos DH e RH exibiram um decréscimo de 57% no grupo CDH1 após a reidratação (FIGURA 11F).

Figura 11 – Teor de açúcares solúveis totais nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

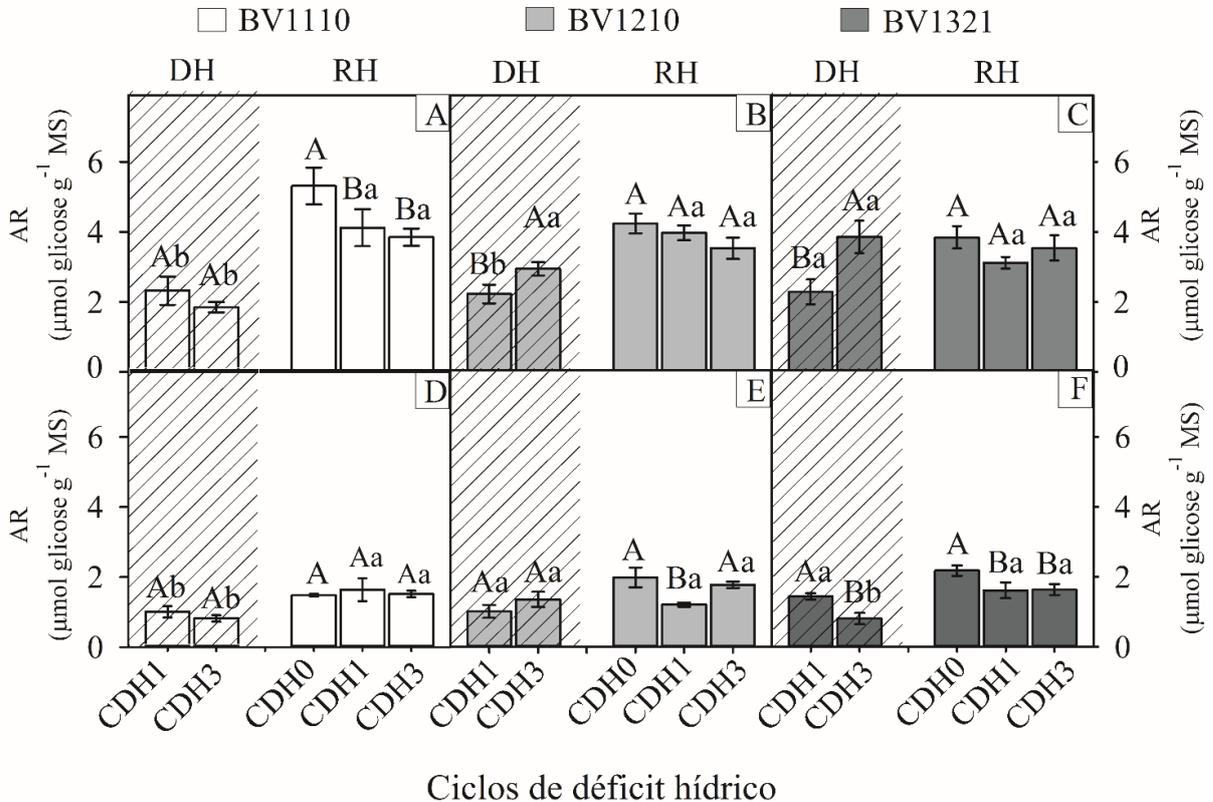
As análises realizadas para os açúcares redutores (AR) nos folíolos do clone BV1110 mostraram que, não houve alteração nas concentrações entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, ao passo que, no período de reidratação os grupos CDH1 e CDH3 apresentaram redução no conteúdo com relação ao grupo CDH0. Ao comparar os grupos de plantas entre os períodos avaliados, notou-se um aumento de 43,7% e 48% nos grupos CDH1 e CDH3 respectivamente, após o período de reidratação (FIGURA 12A). Os teores de açúcares redutores encontrados nas raízes não exibiram alterações entre os grupos CDH1 e CDH3 sob restrição hídrica, bem como nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Entretanto, foi detectado um aumento no conteúdo de AR, nos grupos CDH1 e CDH3, ao serem reidratadas em comparação com o período de déficit hídrico (FIGURA 12D).

As respostas encontradas no clone BV1210 indicaram maiores teores de açúcares redutores nos folíolos do grupo CDH3 sob déficit hídrico, ao passo que não ocorreu alteração

entre os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. O grupo CDH1 apresentou um acréscimo quando comparados os períodos de DH para RH (FIGURA 12B). Nos tecidos radiculares, os conteúdos de AR foram semelhantes entre os grupos CDH1 e CDH3 em DH, em contrapartida, houve redução após o período de reidratação no grupo CDH1, quando comparado aos grupos de plantas CDH0 e CDH3. Os teores de AR nas raízes não foram afetados nos grupos CDH1 e CDH3 nos períodos de DH para RH (FIGURA 12E).

No clone BV1321, os teores de açúcares redutores nos folíolos exibiram maiores valores no grupo de plantas CDH3, sob restrição hídrica. Ao passo que, os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 não diferiram entre si após a reidratação e em comparação dos grupos aos períodos de DH e RH (FIGURA 12C). Os conteúdos de AR encontrados nas raízes registraram uma diminuição no grupo CDH3 sob déficit hídrico, bem como nos grupos CDH1 e CDH3 após a reidratação, em comparação ao grupo CDH0. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH e RH, notou-se um aumento de 50% no grupo CDH3 após o período de reidratação (FIGURA 12F).

Figura 12 – Açúcar redutor nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

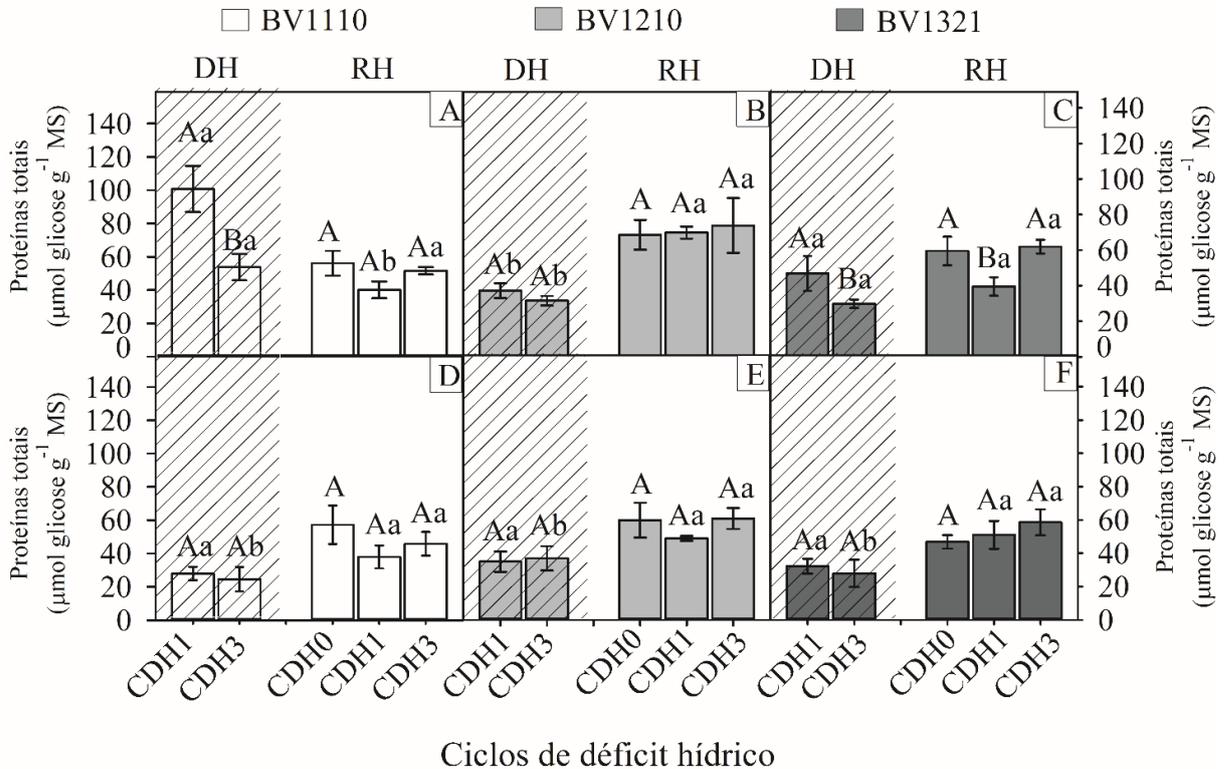
O conteúdo de proteínas totais nos folíolos do clone BV1110 durante o período de déficit hídrico, se mostrou superior no grupo de plantas submetidas a um ciclo de DH. Após o período de reidratação os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 apresentaram valores significativamente semelhantes. O grupo de plantas CDH1 expressou uma redução de 51% ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 13A). Nas raízes, os grupos CDH1 e CDH3 sob restrição hídrica não diferiram entre si no teor de proteínas totais, bem como os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após o período de reidratação. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de déficit hídrico e após a reidratação, o grupo CDH3 registrou um aumento de 46% no teor de proteínas totais (FIGURA 13D).

O clone BV1210 apresentou valores semelhantes na concentração de proteínas totais, nos folíolos dos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, assim como após o período de

reidratação, nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3. Os grupos CDH1 e CDH3 mostraram um aumento de aproximadamente de 47% e 57% no conteúdo, respectivamente, ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 13B). Nos tecidos radiculares os grupos CDH1 e CDH3, no período de restrição hídrica, não apresentaram variações no conteúdo de proteínas totais, bem como os grupos CH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Entretanto, foi detectado um aumento de 39,3% no grupo CDH3 ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de déficit hídrico e após a reidratação (FIGURA 13E).

Nos folíolos do clone BV1321, a concentração de proteínas totais reduziu no grupo de planta CDH3, no período de restrição hídrica, ao passo que, após o período de reidratação o grupo de plantas CDH1 obteve menor concentração quando comparado aos grupos CDH0 e CDH3. O grupo CDH3 registrou um aumento significativo no conteúdo ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 13C). O conteúdo de proteínas totais nas raízes dos grupos de plantas CDH1 e CDH3 não variou no período de déficit hídrico, assim como nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após o período de reidratação. Em contrapartida, ao comparar os grupos de plantas entre os períodos DH para RH, o grupo CDH3 apresentou maiores concentrações de proteínas totais (FIGURA 13F).

Figura 13 – Proteínas totais nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



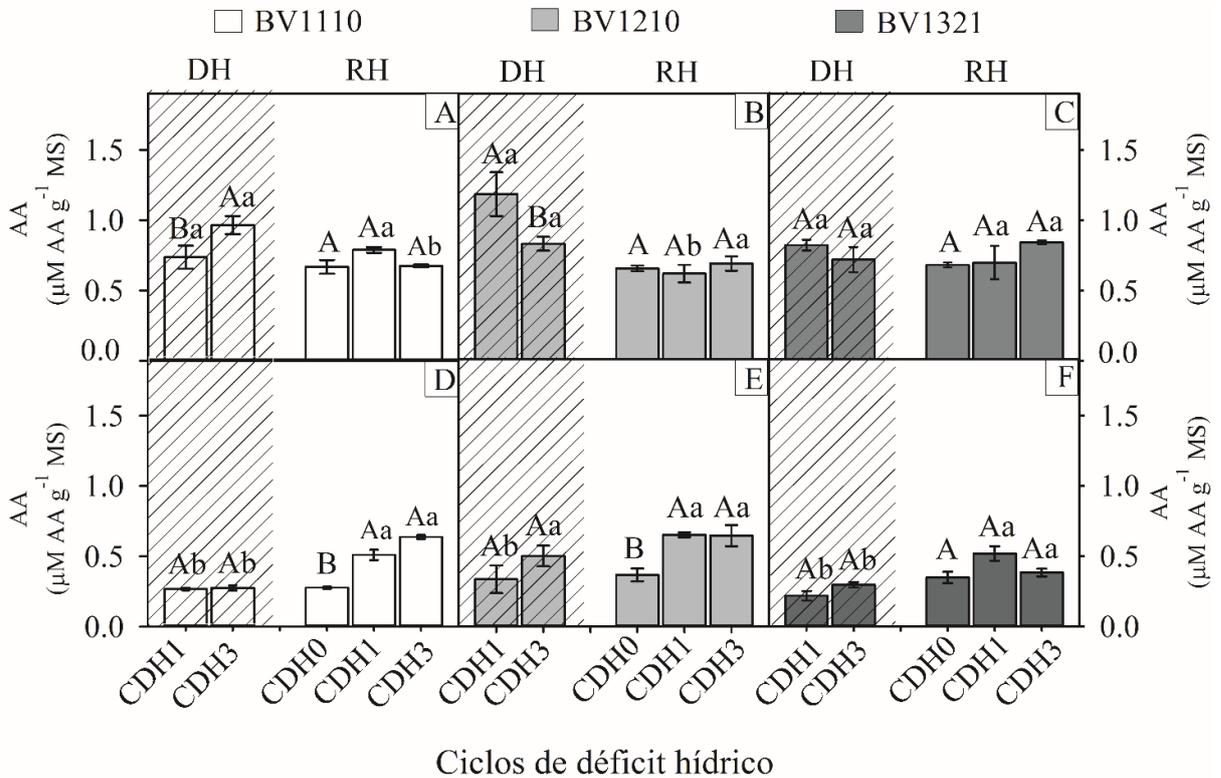
Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

As respostas encontradas do conteúdo de aminoácidos totais, nos folíolos, para o clone BV1110, registrou um aumento significativo no grupo de plantas CDH3 sob restrição hídrica, enquanto que os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 não apresentaram alterações nos valores após o período de reidratação. O grupo CDH3 exibiu uma diminuição na concentração de aminoácidos ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH (FIGURA 14A). Nos tecidos radiculares, os grupos CDH1 e CDH3 não variaram o conteúdo de aminoácidos sob déficit hídrico, entretanto, esses mesmos grupos após a reidratação, apresentaram maior concentração de aminoácidos em relação ao grupo de plantas hidratadas constantemente. Houve um aumento significativo de 47% e 56% na concentração de aminoácidos nos grupos CDH1 e CDH3, respectivamente ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH (FIGURA 14D).

Com relação ao clone BV1210, o grupo de plantas CDH1 submetidas a apenas um ciclo de déficit hídrico obteve maior conteúdo de aminoácidos totais nos folíolos no período de DH, enquanto que os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 não diferiram entre si após o período de reidratação. O grupo CDH1 apresentou uma redução de 62% no conteúdo de aminoácidos ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 14B). Nas raízes, os grupos CDH1 e CDH3 exibiu padrões semelhantes no conteúdo de aminoácidos totais, no período de déficit hídrico, ao passo que após o período de reidratação os grupos CDH1 e CDH3 apresentaram um aumento significativo em comparação ao grupo CDH0. O grupo de plantas CDH1 obteve maior conteúdo de aminoácidos ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH (FIGURA 14E).

Nos folíolos do clone BV1321, não foram observadas variações no conteúdo de aminoácidos totais nos grupos CDH1 e CDH3, sob déficit hídrico e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após o período de reidratação, assim como quando comparados os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 14C). Os conteúdos de aminoácidos nos tecidos radiculares mostraram-se semelhantes entre os grupos CDH1 e CDH3, sob déficit hídrico, bem como nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3, após o período de reidratação. Entretanto, foi possível observar um aumento significativo nos grupos CDH1 e CDH3 ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de déficit hídrico e após a reidratação (FIGURA 14F).

Figura 14 – Aminoácidos totais nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

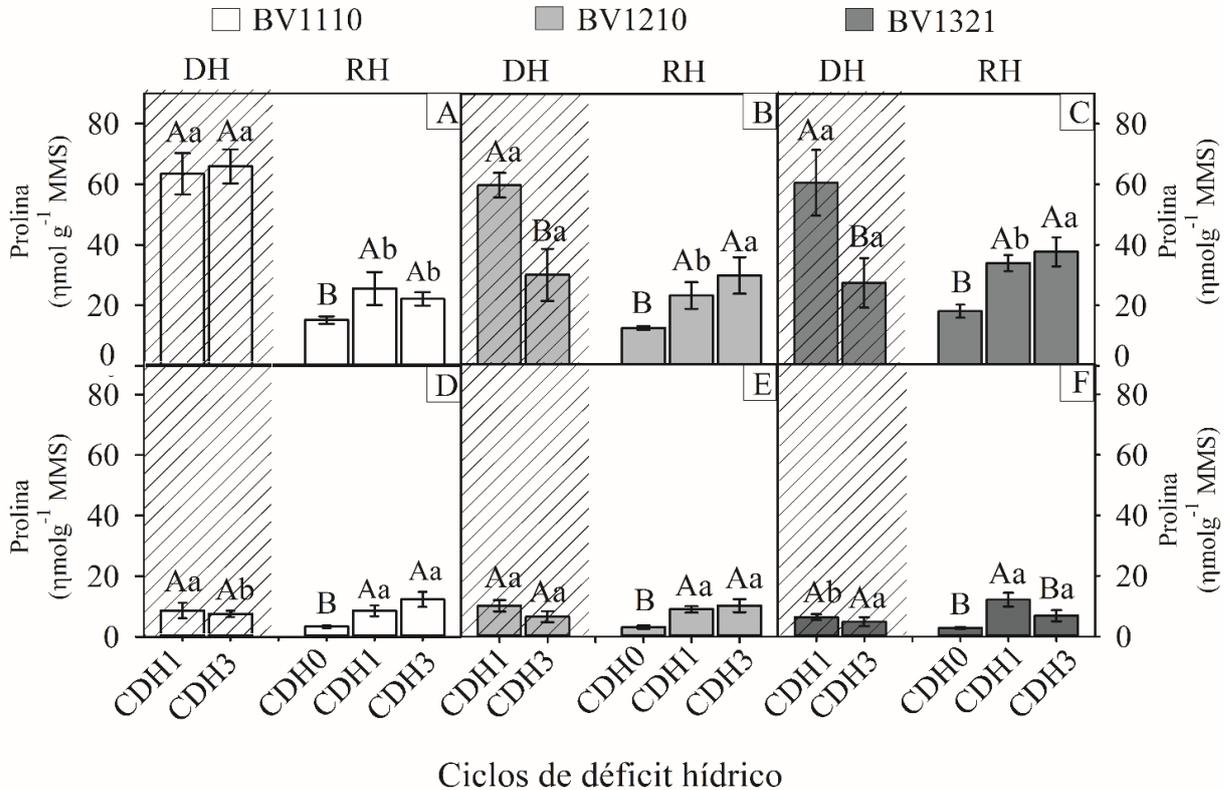
Por meio das análises realizadas para quantificar o conteúdo de prolina, no clone BV1110 foi possível observar que, os grupos CDH1 e CDH3 não diferiram entre si no período de restrição hídrica, em contrapartida, apresentaram maiores valores quando comparados ao grupo de plantas constantemente hidratadas, após o período de reidratação. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH, notou-se que os grupos CDH1 e CDH3 reduziram 48% e 57,5%, respectivamente seu conteúdo de prolina, após o período de reidratação (FIGURA 15A). O conteúdo de prolina nos tecidos radiculares não exibiram diferença entre os grupos CDH1 e CDH3 no período de déficit hídrico, entretanto após o período de reidratação houve um aumento significativo em relação ao grupo de plantas CDH0.

O grupo de plantas CDH3 aumentou o conteúdo de prolina ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 15D).

O clone BV1210, reduziu o conteúdo de prolina, nos folíolos do grupo CDH3, sob déficit hídrico, ao passo que os grupos CDH1 e CDH3 aumentaram em relação ao grupo CDH0, após o período de reidratação. Menores valores foram encontrados no grupo CDH1 ao comparar os grupos entre os períodos de restrição hídrica e após a reidratação (FIGURA 15B). Quanto ao conteúdo de prolina no sistema radicular, não foram observadas variações entre os grupos CDH1 e CDH3, sob déficit hídrico, porém houve um aumento após a reidratação, ao comparar com o grupo de plantas irrigadas constantemente. Não houve variações ao relacionar o conteúdo de prolina dos grupos de plantas, entre os períodos de déficit hídrico e após a reidratação (FIGURA 15E).

Foi possível encontrar redução, nas respostas encontradas com relação ao conteúdo de prolina, nos folíolos do clone BV1321, no grupo de plantas CDH3, sob déficit hídrico. Ao passo que os grupos CDH1 e CDH3 exibiram aumento quando comparados ao grupo CDH0, após o período de reidratação. O grupo CDH1 reduziu o conteúdo de prolina ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH (FIGURA 15C). Nos tecidos radiculares, o conteúdo de prolina não diferiu entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, entretanto o grupo CDH1 apresentou um aumento quando comparado aos grupos CDH0 e CDH3, após o período de reidratação. Além disso, ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH, o grupo CDH1 expressou um aumento no conteúdo de prolina (FIGURA 15F).

Figura 15 – Conteúdo de prolina nos folíolos (A, B e C) e raízes (D, E e F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

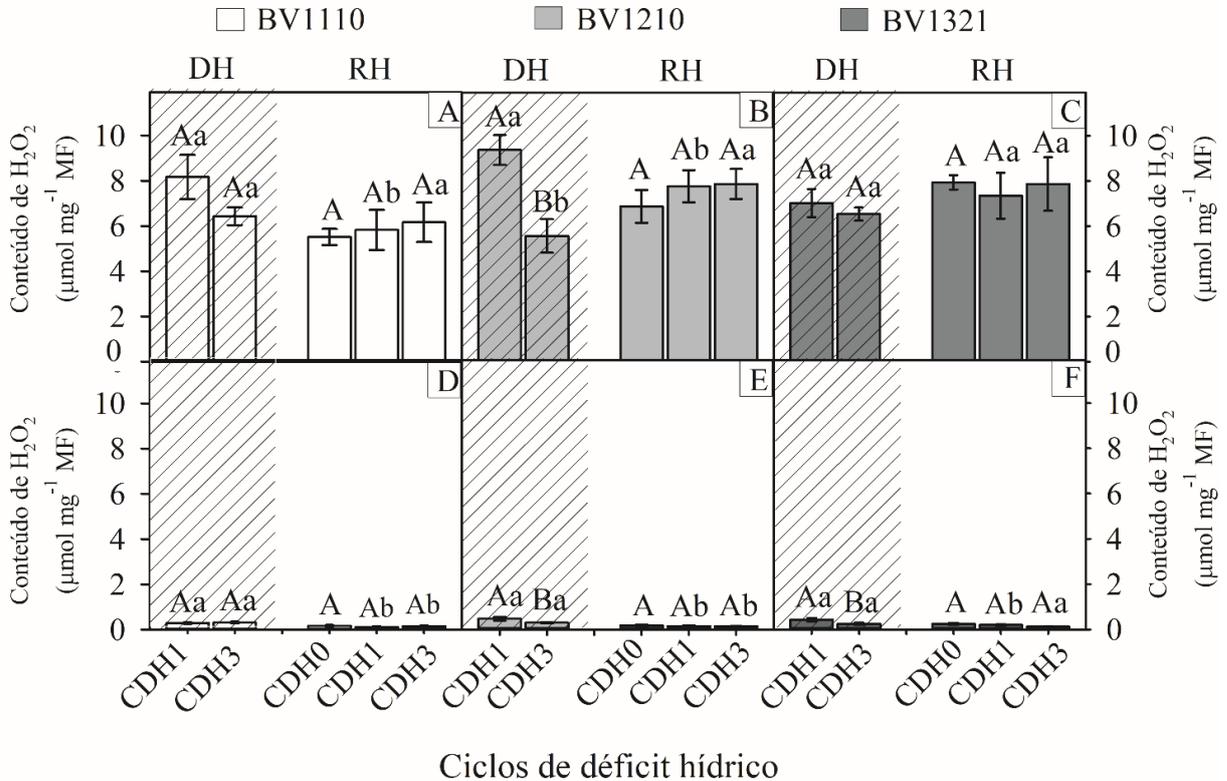
Ao determinar o conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nos folíolos do clone BV1110, não foram observadas variações nos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após a reidratação. Porém, ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH, o grupo CDH1 exibiu uma redução no conteúdo de H_2O_2 (FIGURA 16A). Não houve diferença no conteúdo de H_2O_2 nas raízes dos grupos de plantas sob déficit hídrico e após o período de reidratação. Em contrapartida, os grupos CDH1 e CDH3 expressaram menores valores ao relacionar os grupos entre os períodos de déficit hídrico e reidratação (FIGURA 16D).

No clone BV1210, o maior conteúdo de H_2O_2 nos folíolos foi encontrado no grupo CDH1, sob déficit hídrico, contudo, grupos de plantas após a reidratação não diferiram entre si. O grupo CDH1 apresentou redução enquanto que o grupo CDH3 aumentou o conteúdo de H_2O_2 ,

quando comparados os períodos de DH para RH (FIGURA 16B). Nos tecidos radiculares, o conteúdo de H_2O_2 exibiu aumento no grupo CDH1 sob déficit hídrico, em contrapartida os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 não diferiram entre si, após o período de reidratação. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos avaliados foi possível notar que os grupos CDH1 e CDH3 reduziram o conteúdo de H_2O_2 após a reidratação (FIGURA 16E).

O conteúdo de H_2O_2 , nos folíolos do clone BV1321 não apresentou variação entre os grupos sob déficit hídrico e após a reidratação, assim como nos grupos entre os períodos DH para RH (FIGURA 16C). Nas raízes, o conteúdo de H_2O_2 foi maior no grupo CDH1 sob restrição hídrica, porém após o período de reidratação não houve diferença entre os grupos CDH0, CDH1 e CDH3. Ao relacionar os grupos entre os períodos notou-se uma diminuição no conteúdo de H_2O_2 no grupo CDH1 (FIGURA 16F).

Figura 16 – Peróxido de hidrogênio em folíolos (A, B, C) e raízes (D, E, F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

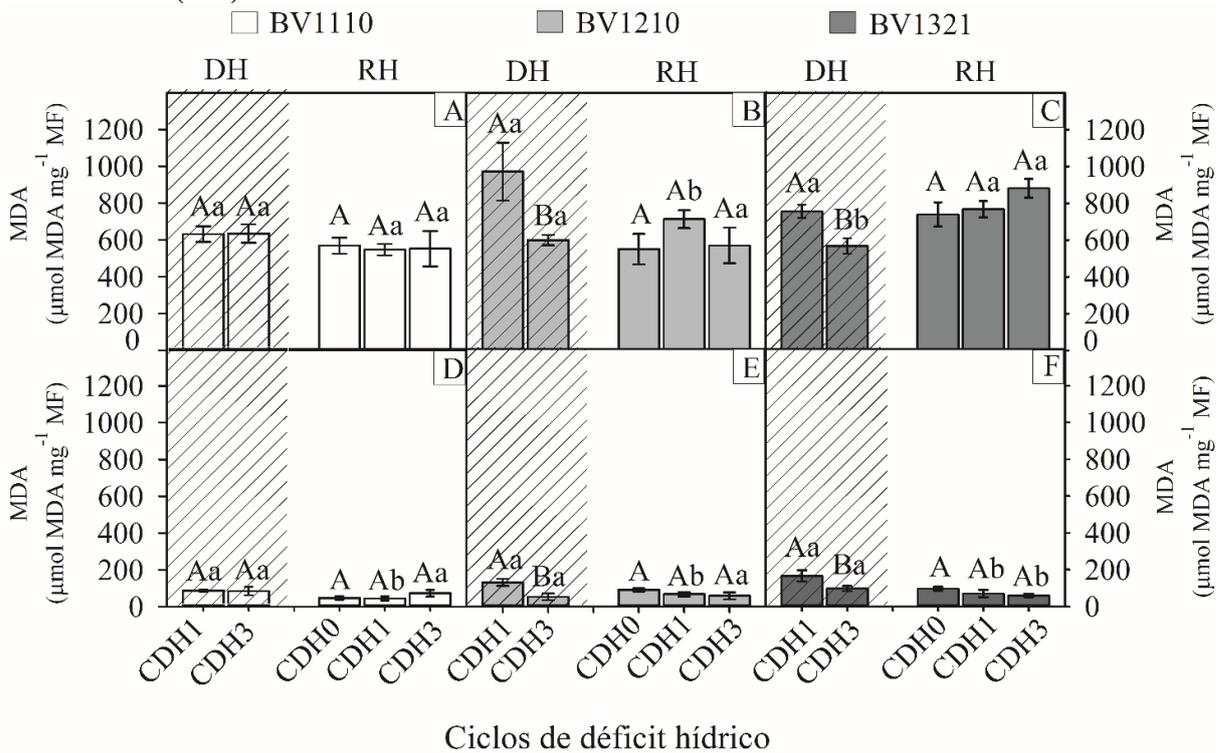
A peroxidação lipídica, expressa por meio do conteúdo de malondialdeído (MDA) nos folíolos do clone BV1110, não diferiu entre os grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico e nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3, após a reidratação. Assim como ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 17A). Houve um padrão de similaridade das respostas nos tecidos radiculares dos grupos de plantas, sob restrição hídrica e após a reidratação. Enquanto que, ao relacionar os grupos entre os períodos notou-se uma redução no grupo CDH1 (FIGURA 17D).

No clone BV1210, o padrão de resposta do conteúdo de MDA nos folíolos e raízes, foram semelhantes. O grupo CDH1 exibiu maior teor de MDA sob déficit hídrico, ao passo que não houve alteração significativa nos grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após o período de

reidratação. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH notou-se uma redução no grupo CDH1 (FIGURA 17B e 17E).

Para o clone BV1321, o grupo CDH1 apresentou maior conteúdo de MDA nos folíolos sob déficit hídrico, ao passo que não houve diferença significativa entre os grupos CDH0, CDH1 e CDH3 após o período de reidratação. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH, foi possível notar um aumento no conteúdo de MDA no grupo de plantas CDH3 (FIGURA 17C). Nos tecidos radiculares, o grupo CDH1 exibiu maior conteúdo de MDA sob restrição hídrica, porém os grupos após a reidratação não diferiram entre si. Os grupos de plantas CDH1 e CDH3 reduziram 35% e 65% respectivamente do seu conteúdo de MDA, ao comparar os grupos entre os períodos de déficit hídrico para reidratação (FIGURA 17F).

Figura 17 – Malondialdeído em folíolos (A, B, C) e raízes (D, E, F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).

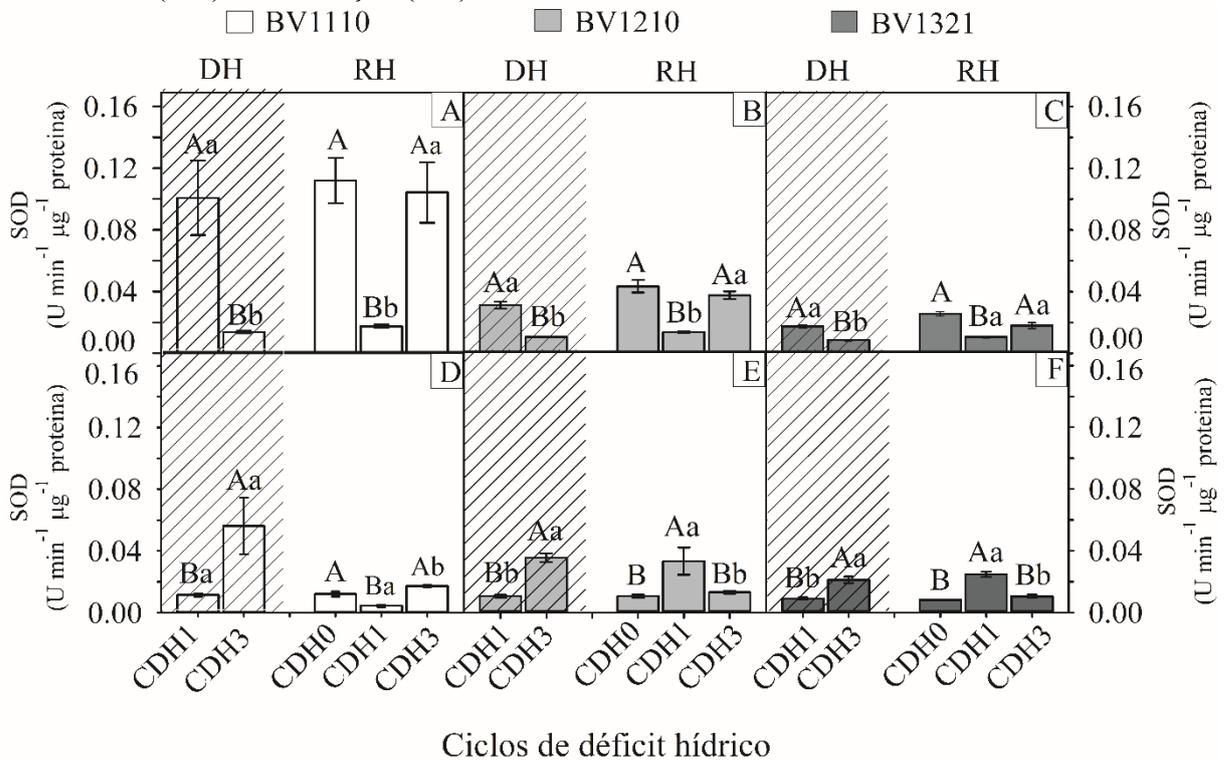


Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

A determinação da atividade do metabolismo antioxidante se deu através de análises das enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX). Em folíolos do clone BV1110, a atividade da SOD reduziu no grupo de plantas CDH3, no período de déficit hídrico, enquanto que após o período de reidratação o grupo CDH1 registrou menor atividade, quando comparado aos grupos CDH0 e CDH3. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de déficit hídrico e após a reidratação notou-se um comportamento análogo de redução de 83% na atividade da SOD para o grupo CDH1 e aumento de 87% para o grupo CDH3 (FIGURA 18A). Nos tecidos radiculares, o grupo CDH3 exibiu maior atividade da SOD, no período de restrição hídrica, ao passo que o grupo CDH1 teve menor atividade em relação aos grupos CDH0 e CDH3, após o período de reidratação. Uma redução na atividade pôde ser observada no grupo CDH1 ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH (FIGURA 18D).

Os clones BV1210 e BV1321 obtiveram o mesmo comportamento na atividade da enzima dismutase do superóxido. Em folíolos, houve uma redução significativa da atividade no grupo de plantas CDH3, no período de restrição hídrica, e no grupo CDH1, após o período de reidratação, em relação aos grupos de plantas CDH0 e CDH3. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH, verificou-se uma redução na atividade do grupo CDH1 e aumento no grupo CDH3 (FIGURA 18B e 18C). Nas raízes, a atividade da SOD exibiu um aumento no grupo CDH3, no período de restrição hídrica, ao passo que após a reidratação, o grupo CDH1 apresentou maior atividade em relação aos grupos CDH0 e CDH3. O grupo de plantas submetidas a um ciclo de déficit hídrico aumentaram, enquanto que plantas submetidas a três ciclos de déficit hídrico reduziram a atividade enzimática da SOD, ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 18E e 18F).

Figura 18 - Atividade da enzima dismutase do superóxido em folíolos (A, B, C) e raízes (D, E, F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

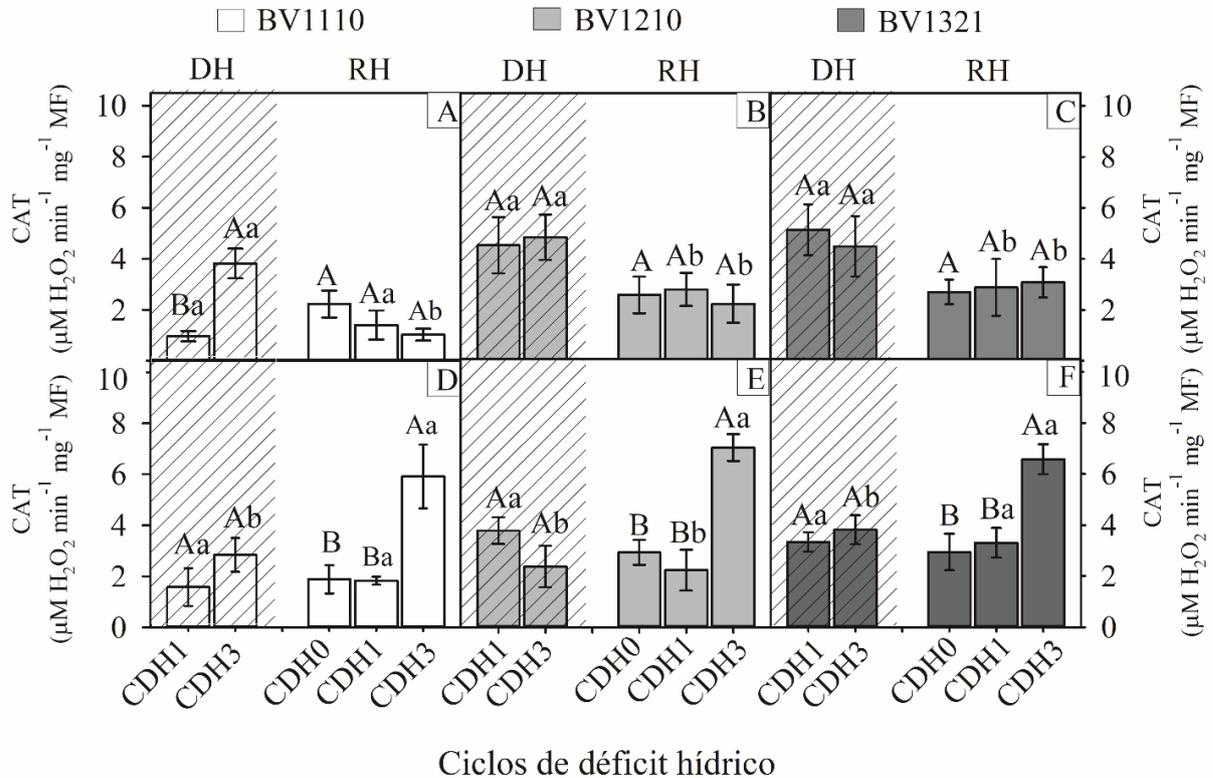
A atividade da catalase em folíolos do clone BV1110, exibiu um aumento de 45% no grupo de plantas CDH3, sob déficit hídrico, em contrapartida não houve alteração na atividade dos grupos de plantas após o período de reidratação. Ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH notou-se uma redução significativa de 73% na atividade do grupo de plantas CDH3 (FIGURA 19A). Não foi observada variação na atividade da catalase nos tecidos radiculares dos grupos no período de déficit hídrico, ao passo que após a reidratação, o grupo de plantas CDH3 exibiu um aumento expressivo em relação aos grupos CDH0 e CDH1. Ainda em relação ao grupo CDH3, foi possível notar maior atividade ao comparar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 19D).

Nos folíolos do clone BV1210, a atividade da catalase não promoveu variação entre os grupos de plantas CDH1 e CDH3, sob restrição hídrica, bem como os grupos CDH0, CDH1 e

CDH3 após o período de reidratação. Ao comparar os grupos entre os períodos de déficit hídrico e após a reidratação verificou-se uma redução na atividade dos grupos CDH1 e CDH3 (FIGURA 19B). Nos tecidos radiculares o déficit hídrico não alterou a atividade dos grupos CDH1 e CDH3, entretanto após o período de reidratação o grupo CDH3 expressou um aumento em sua atividade. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH, o grupo CDH1 apresentou uma redução enquanto que o grupo CDH3 aumentou a atividade enzimática (FIGURA 19E).

Não houve diferença significativa na atividade da CAT, em folíolos, do clone BV1321, nos períodos de déficit hídrico e reidratação. Enquanto que, após o período de reidratação, os grupos CDH1 e CDH3 exibiram uma redução na atividade ao comparar os períodos (FIGURA 19C). As atividades enzimáticas nas raízes não variaram entre os grupos CDH1 e CDH3 sob restrição hídrica, ao passo que após o período de reidratação o grupo CDH3 mostrou maior atividade em relação aos grupos CDH0 e CDH1. Ao comparar os grupos de plantas entre os períodos de DH para RH foi possível notar aumento na atividade do grupo CDH3 (FIGURA 19F).

Figura 19 - Atividade da enzima catalase em folíolos (A, B, C) e raízes (D, E, F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

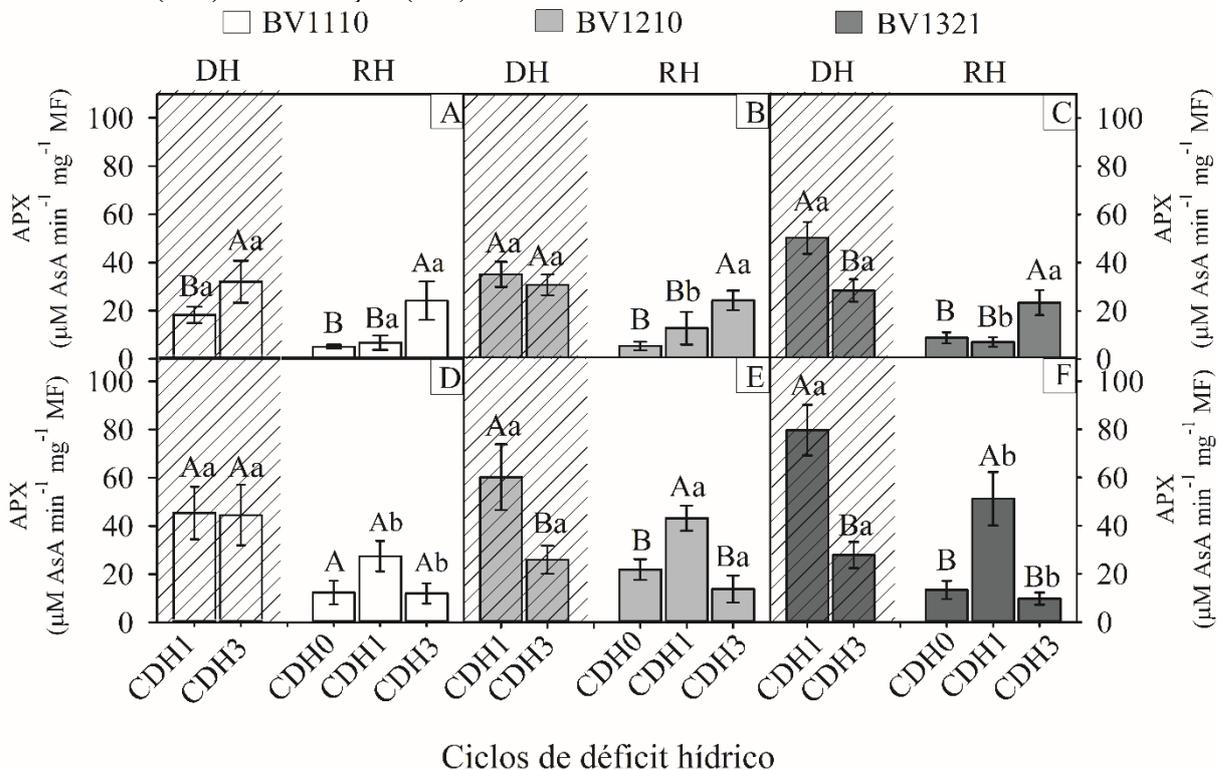
As respostas do clone BV1110 para a atividade da enzima peroxidase do ascorbato, em folíolos, foi maior no grupo CDH3, sob déficit hídrico e também após o período de reidratação. O grupo CDH1 apresentou redução na atividade ao relacionar os grupos entre os períodos de DH para RH (FIGURA 20A). Não houve diferença na atividade da APX nas raízes dos grupos sob restrição hídrica, porém foi possível notar maior atividade no grupo CDH1, após o período de reidratação. Os grupos de plantas submetidas a um e três ciclos de déficit hídrico exibiram redução na atividade enzimática ao comparar os grupos entre os períodos de déficit hídrico e reidratação (FIGURA 20D).

Em referência ao clone BV1210, a atividade da APX nos folíolos não diferiu significativamente entre os grupos sob DH, ao passo que após a reidratação o grupo CDH3 registrou maior atividade em relação aos grupos CDH0 e CDH1. Ao comparar os grupos de

plantas entre os períodos de DH para RH, foi possível observar uma redução de 63% na atividade do grupo CDH1 (FIGURA 20B). Nos tecidos radiculares, a maior atividade da APX ocorreu no grupo de plantas CDH1, sob déficit hídrico, assim como após o período de reidratação. Não houve diferença na atividade da APX dos grupos de plantas ao relacionar os períodos de DH para RH (FIGURA 20E).

Nos folíolos do clone BV1321, a maior atividade da APX foi expressa no grupo de plantas CDH1 sob déficit hídrico, enquanto que após o período de reidratação, o grupo CDH3 obteve maior atividade. Ao relacionar os grupos de plantas entre os períodos de déficit hídrico para a reidratação, foi observada uma redução de 86% na atividade do grupo CDH1 (FIGURA 20C). Nos períodos de déficit hídrico e reidratação, as raízes do grupo CDH1 exibiram maior atividade da APX. Entretanto, ao comparar os grupos entre os períodos foi possível notar uma queda na atividade deste mesmo grupo, assim como do grupo CDH3 (FIGURA 20F).

Figura 20 - Atividade da enzima peroxidase do ascorbato em folíolos (A, B, C) e raízes (D, E, F) dos clones de cedro australiano (BV1110, BV1210 e BV1321) submetidos a 0, 1 e 3 ciclos de déficit hídrico (CDH0, CDH1, CDH3), no período de restrição hídrica (DH) e reidratação (RH).



Nota: As letras maiúsculas comparam os ciclos de déficit hídrico nos períodos de restrição hídrica e reidratação, as letras minúsculas comparam os ciclos entre os períodos. Tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0.05$). (DH): período déficit hídrico; (RH): período após a reidratação; (CDH0): grupo de plantas irrigadas constantemente; (CDH1): grupo de

plantas com um ciclo de déficit hídrico; (CDH3): grupo de plantas com três ciclos de déficit hídrico. Fonte: do autor (2020).

Neste estudo de avaliação entre os três clones comerciais BV 1110, BV 1210 e BV 1321, foi possível observar o comportamento das plantas no estado de um determinado grau de déficit hídrico e após a reidratação, assim como comparar os grupos de plantas que passaram por nenhum, um e três sucessíveis ciclos de déficit. Alguns autores afirmam que eventos repetitivos de limitação de água seguidos de precipitação, podem desencadear atividade biológica de recuperação diferenciada relacionada a *A*, porém dependente da intensidade ou duração da seca (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010; BERENGUER et al., 2018). Apesar dos clones em campo serem classificados pela empresa como resiliente, moderado e sensível ao déficit hídrico, todos apresentaram respostas similares quanto ao crescimento após a reidratação, independentemente do número de ciclos de seca submetido. Porém, as alterações metabólicas para se obter a mesma taxa de crescimento foram diferentes entre os clones.

O potencial hídrico foliar dos clones BV 1110, BV 1210 e BV 1321 foi reduzido em todos os grupos de plantas sob déficit hídrico independente dos ciclos D1, D2 e D3, porém o menor $\Psi_{W\text{foliar}}$ observado nas plantas sob DH foi no ciclos D1 e D2 e o menor observado no grupo de plantas CDH1 e CDH3 foi no ciclo D3 (FIGURA 6A, 6B e 6C). Esse foi um dos parâmetros de avaliação da intensidade do estresse hídrico nos clones de cedro australiano, pois com a imposição da seca, à medida que o conteúdo de água diminui, as células tendem a encolher e a parede celular relaxar, causando a perda no turgor e redução no potencial hídrico das folhas ($\Psi_{W\text{foliar}}$) (FAROOQ et al., 2009). Os valores encontrados neste trabalho (FIGURA 6), foram menores do que os relatados com mudas clonais de outras espécies lenhosas com valor médio de -3,7MPa e maiores do que espécies arbóreo, com valor de -2,4MPa, sob déficit hídrico (MENEZES-SILVA et al., 2017; TEIXEIRAS et al., 2012). Após o período de reidratação todos os clones aumentaram o potencial hídrico, igualando ao de plantas totalmente irrigadas (FIGURA 6A, 6B e 6C), isso mostra o mesofilo das plantas não era irreversivelmente afetados com a imposição do déficit hídrico e que apesar da alteração no potencial hídrico foliar, o estresse pode ser considerado moderado.

Nos três clones de cedro australiano, não foi possível observar diferença estatística quanto à altura da planta, diâmetro e a massa seca do caule, para os grupos com um e com sucessíveis ciclos de seca e nem mesmo durante o período de déficit e após o período de reidratação (TABELA 2 e 3). O parâmetro de biomassa e crescimento é utilizado para evidenciar a resiliência das plantas sob restrição de água por ser considerado um dos estressores que mais

limitam o crescimento (LOKA et al., 2019; RUBILAR et al., 2020; SAADAOU, 2017) Ao manter a turgescência foliar, a planta permite o crescimento e alongamento das células, o que não ocorre se houver limitação no suprimento de água (ATAIDE et al., 2018; PEREIRA et al., 2012).

Porém, quanto aos parâmetros de comprimento da raiz (TABELA 2) e comprimento radicular específico (TABELA 3), ficou evidente um aumento para os clones BV 1110, BV 1210 e BV 1321 após o período de reidratação, nos grupos de plantas após três ciclos de déficit. O aumento desses parâmetros foi inversamente proporcional à massa seca das raízes que reduziram após a reidratação (TABELA 3). Esse acontecimento por ser explicado pelo fato dos clones investirem em raízes pequenas ou radículas, e isso faz com que o peso não seja alterado (PFAUTSCH et al., 2016). A presença das raízes pequenas é considerada uma estratégia adaptativa para que haja aumento na captação de água, proporcionando uma superfície absorvente (BASU et al., 2016). Alguns estudos mostram que, em condições de déficit hídrico, a diferença na captação de água entre espécies ou genótipos distintos não está relacionada a um aumento na biomassa radicular, mas sim nas características hidráulicas específicas de algumas raízes, deixando em aberto uma maior exploração no envolvimento de barreiras apoplásticas ao restringir a captação de água nas raízes e o seu envolvimento com o embolismo (RANATHUNGE; SCHREIBER, 2011).

Com o clone BV 1110 não foram observadas alterações no número de folhas, folíolos e na área foliar durante os ciclos de seca e após a reidratação, assim como ocorre a algumas espécies pioneiras (ATAIDE et al., 2018). É sabido que, quando o déficit hídrico ocorre após o desenvolvimento da planta, a inibição na expansão das células pode resultar em queda das folhas principalmente em espécies caducifólias, como mecanismo de defesa da planta. Nesse trabalho, foi possível notar esse comportamento apenas nos clones BV 1210 e BV 1321 que reduziram o número de folhas, de folíolos, a área foliar e a massa seca após o terceiro ciclo de déficit hídrico (FIGURA 8A, 8B e 8C; TABELA 3). Alguns estudos mostram que as espécies lenhosas normalmente após indução de déficit hídrico, também reduzem a emissão de novas folhas como estratégia para evitar a perda de água por transpiração (KOZLOWSKI, 1976; SCHWIDER et al., 2013). Essas respostas de queda foliar podem limitar o processo fotossintético, contribuindo para redução na fotossíntese, que é um avaliador do status fisiológico da planta (FAROOQ et al., 2009; FATIMA et al., 2018; TAKAHASHI; SHINOZAKI, 2019).

Conforme constatado nesse estudo com clones de cedro australiano, as reduções na fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e taxa de transpiração (E) mostrou-se significativas nos grupos de plantas CDH1 e CDH3, sob déficit hídrico durante os ciclos D1, D2 e D3 (FIGURA 7). E essas reduções ficaram ainda mais evidentes ao serem comparadas com o aumento na média da temperatura diária e redução da umidade relativa do ar, mostrando que os clones de cedro australiano responderam diretamente aos efeitos do dia em relação as trocas gasosas (FIGURAS 5 e 7). Nos estágios iniciais da seca, a sinalização química das raízes pode causar a perda de turgor das células e conseqüentemente o fechamento estomático, de acordo com o que foi observado para os clones BV 1110, BV 1210 e BV 1321 (FIGURA 7D, 7E e 7F). Conforme a abertura estomática diminui para restringir a difusão da água, a entrada de CO_2 no mesófilo também reduz, restringindo o suprimento de CO_2 para os sítios de carboxilação e afetando negativamente a A (BERENQUER et al., 2018; TAKAHASHI; SHINOZAKI, 2019).

A condutância estomática (g_s) também é tida como um parâmetro para avaliação da intensidade do déficit hídrico, devido ao elo entre a perda de transpiração e ganho de carbono (HODECKER et al., 2018). Pode ser considerada como uma ferramenta útil no aprimoramento da seleção genética para maior produtividade em ambientes propensos à seca, devido alteração no crescimento e na economia de água pelo fechamento estomático (ALBUQUERQUE et al., 2013; FATIMA et al., 2018; LOKA et al., 2019). Outro fator importante que está diretamente associado a g_s , é o processo de transpiração (E), responsável pela perda de água. A redução de E durante os ciclos de déficit hídrico para os três clones avaliados, visto nas figuras 7G, 7H e 7I, pode ser atribuída ao fechamento estomático e à diminuição do suprimento de água devido ao decréscimo da condutividade hidráulica das raízes, causando a redução no potencial hídrico das folhas, assim como em estudos com diferentes tipos de plantas (BRODRIBB, 2003; DANG et al., 2019; HUBER et al., 2019; RODRIGUEZ-GAMIR et al., 2019). Além disso, apesar do aumento na temperatura nos ciclos D2 e D3 (FIGURA 5) a taxa de transpiração não chegou a zero, provavelmente devido perda de vapor pela cutícula evitando o aquecimento do folíolo e favorecendo o processo fotossintético (TARDIEU, 2005).

Em condições de seca, a taxa de assimilação líquida de CO_2 pode levar a superexcitação e subsequente dano fotoinibidor do fotossistema II ($PSII$), reduzindo algumas características fotoquímicas como a taxa de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico potencial do $PSII$ (F_v/F_m), rendimento quântico efetivo ($\Phi PSII$) e aumento do *quenching* não-fotoquímico (NPQ) (LIU et al., 2019; MAXWELL; JOHNSON, 2000). Alguns estudos ao comparar tecidos

saudáveis e danificados por fatores abióticos, notaram valores entre 0,80 e 0,65 para folhas saudáveis e valores abaixo desse intervalo como indicativo de danificação nos centros de reação do *PSII* (ROUSSEAU et al., 2013). Ao considerar esses valores, foi possível notar que Φ_{PSII} dos clones BV 1110 não foi danificado no decorrer dos ciclos de déficit hídrico, enquanto que dos clones BV 1210 e BV 1321 foram reduzidos no período de DH e recuperados após o período de reidratação (TABELA 4). Com a redução da condutância de CO_2 no mesófilo, o uso dos elétrons para assimilá-lo no ciclo de Calvin tendem a reduzir e esses podem ser desviados para outros processos como a fotorrespiração, além disso, pode induzir o aumento da dissipação de calor pelo *NPQ* afim de proteger o *PSII* (FAROOQ et al., 2009). Nesse caso, o clone BV 1110 apresentou uma capacidade de tolerância ao déficit hídrico devido à maior eficiência do sistema fotoprotetor do *PSII*, que pode ser atribuída em razão de seu melhor desempenho fotoquímico em relação aos demais clones avaliados. Devido à capacidade dos clones BV 1210 e BV 1321 apresentarem recuperação da fotossíntese após o período de reidratação foi possível utilizar a integridade do aparelho fotossintético da planta para caracterizar a sua resiliência (DIAS et al., 2018; GETTE; PAKHARKOVA, 2020; MAXWELL; JOHNSON, 2000). A redução nos valores de $Y(II)$, sob déficit hídrico também está relacionada com a maior fotoinibição nas plantas. Os resultados encontrados para os clones de cedro australiano indicaram inibição maior para o clone BV 1210. Os menores valores de F_v/F_m podem estar relacionados com a sobrecarga dos sistemas antioxidantes e como a redução de moléculas funcionais de proteção do aparato fotossintético, resultando em baixo rendimento no processo fotoquímico como consequência de danos na funcionalidade no centro de reação do *PSII* e redução na A (FALQUETO et al., 2017). O mesmo padrão de resposta foi encontrado em estudos com cedro australiano sob déficit hídrico e nutricional (SANTOS, 2016).

A clorofila é de suma importância para a fotossíntese das plantas, permitindo a captação de energia da luz. No presente estudo, o conteúdo de clorofila *a*, *b* tiveram uma tendência de redução após o período de reidratação, sendo mais acentuado no clone BV 1321. Sabe-se que a severidade do estresse hídrico age na degradação da clorofila e que a redução do teor de clorofila foliar nessas condições reduz a eficiência fotossintética (TABELA 4), porém, plantas que possuem a capacidade de manter o conteúdo de clorofilas por maior tempo podem aumentar a fotossíntese (ARABZADEH, 2009). O teor de carotenoides nos clones BV 1110 e BV 1210 apresentaram características similares de redução em condições de estresse hídrico, principalmente quando submetidos ao primeiro ciclo de seca (TABELA 5). Já o clone BV 1321 não mostrou alteração no conteúdo durante a imposição dos tratamentos. Nos estudos em

plantas consideradas resilientes à seca, os níveis de carotenoides tendem a aumentar sob déficit hídrico, e isso indica aumento da fotoproteção por quantidade de luz absorvida, mostrando ser um bom indicativo de sistema antioxidante (FAROOQ et al., 2009; LISAR et al., 2012; HAVAUX; KLOPPSTECH, 2001). Com a redução no conteúdo de água nas folhas, na condutância estomática e na fotossíntese líquida ocorreu a degradação das clorofilas totais dos clones BV 1110, BV 1210 e ainda maior no clone BV 1321 (TABELA 5). O mesmo pôde ser observado em estudos com plantas tolerantes à seca, com degradação das clorofilas totais e concentração constante dos carotenoides, sob déficit hídrico (DIAS et al., 2018; AIDAR et al., 2010).

O déficit hídrico também é caracterizado em algumas espécies pelo acúmulo de açúcares em seus tecidos. A sacarose e o amido como carboidratos solúveis, são extremamente permeáveis e cumulativos em células de plantas sob seca (FAGERIA, 1989; FIOREZE et al., 2011). O conteúdo de sacarose nas folhas dos clones BV 1110 e BV 1210 apontaram um aumento progressivo após a reidratação (FIGURA 9A e 9B). Esse acúmulo provavelmente foi promovido pela biossíntese de sacarose e aumento da atividade enzimática da sacarose fosfato sintase que possui função de proteger a integridade das membranas e proteínas (HOEKSTRA et al., 2001). No caso do teor de amido, que reduziu nas folhas e nas raízes do clone BV 1110 após três ciclos de déficit hídrico pode ter ocorrido devido aos dois acontecimentos bioquímicos simultâneos que ocorrem em plantas sob essas mesmas condições (FIGURA 10A). A via de transporte de amido é a principal a ser degradada pela ação da enzima amilase, enquanto que a via secundária de sacarose, sofre ações de enzimas invertases, utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos (CHAVES FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001; MARÉCHAUX et al., 2015). Mas pode também contribuir para o acúmulo de açúcares redutores, conforme ocorreu nas folhas dos três clones estudados após a reidratação (FIGURA 12A, 12B e 12C). O conteúdo de AST na raiz (FIGURA 11D), foi mantido no clone BV 1110 devido à redução no conteúdo de amido (FIGURA 10D). Essa redução pode estar relacionada com o ajuste osmótico das células, devido o favorecimento da osmorregulação que permite a recuperação de folhas jovens (BASU et al., 2016; FAROOQ et al., 2009).

O acúmulo de solutos pela célula é outro mecanismo de extrema importância para plantas tolerantes à seca pois reduz o potencial da célula mantendo o seu volume e turgor. Os metabólitos acumulados durante o processo atuam como osmólitos para também desintoxicar as espécies reativas de oxigênio e estabilização das proteínas. O clone BV 1110 diminuiu o conteúdo de proteínas nas folhas após a reidratação (FIGURA 13A). Essa redução das proteínas

totais pode ser causada devido ao aumento da atividade enzimática das proteases, já que esta enzima promove a quebra das proteínas apresentada nas plantas sob déficit hídrico. Além disso, em condição de estresse, a maquinaria celular é convergida a degradação de reservas ou de compostos celulares para manutenção do metabolismo celular favorecendo a hidrólise enzimática. O ajuste osmótico é que mantém a absorção de água e o turgor celular em condições de déficit hídrico sendo considerado um mecanismo importante que permite prolongar a sobrevivência das plantas ou manter o crescimento e a manutenção do turgor em estresse moderados (BASU et al., 2016; BERENQUER et al., 2018; MARÉCHAUX et al., 2015). Os clones BV 1110 e BV 1210 também apresentaram acúmulo de aminoácidos nas suas folhas durante o período de déficit hídrico e redução após a reidratação (FIGURA 14A e 14B). Os aminoácidos como responsáveis pelo transporte de nitrogênio nas plantas e o seu acúmulo nas folhas pode ser considerado uma característica de resiliência das plantas frente a estresses ambientais, principalmente em condições de déficit hídrico (SALEHI-LISAR; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016; YADAV et al., 2019). Também foi possível observar aumento expressivo de prolina nas folhas dos três clones sob seca (FIGURA 15A, 15B e 15C). A prolina é um aminoácido utilizado como indicativo de estresse hídrico e possui propriedade osmoprotetora. O seu acúmulo é resultante do aumento na osmolaridade da célula, que promove a manutenção do turgor, prevenção e desnaturação de proteína, preservação da estrutura e da atividade enzimática e proteção das membranas contra danos das EROs. Alguns trabalhos mostram que plantas sob déficit hídrico aumentaram a concentração de prolina em até 100 vezes, sendo considerada um osmorregulador (KAUR; ASTHIR, 2015; SAMARINA et al., 2017).

Por meio das análises do sistema antioxidante constatou-se que as folhas dos grupos de plantas CDH1 produziram conteúdo de peróxido de hidrogênio durante o período de déficit hídrico para os clones BV 1110 e BV 1210, tanto em folhas quanto raízes (FIGURA 16A, 16B, 16D e 16E). Em condições ótimas de crescimento são formadas as espécies reativas de oxigênio, tais como o oxigênio singleto, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, porém durante o processo de estresse hídrico essa produção pode ser aumentada. Os maiores teores MDA, nas folhas e raízes do grupo CDH1 sob déficit hídrico, no clone BV 1210 é indicativo de danos oxidativos às membranas (FIGURA 17A e 17B) (LAXA et al., 2019). Contudo, esse dano foi menor no clone BV 1321 (FIGURA 17C), possivelmente, pelo menor acúmulo/formação de EROs em consequência de um mecanismo dissipador de excesso de poder redutor mais eficiente, e da maior atividade das enzimas antioxidativas (LAXA et al., 2019; SHARMA et al.,

2012). Após reidratação, os níveis de MDA no clone BV 1210 reduziu, indicando que não havia danos oxidativos nas membranas. As reduções nos valores de MDA após o período de reidratação podem estar relacionados a alta atividade enzimática da SOD, CAT e APX durante o estresse, que foram suficientes para remover eficientemente as EROs e evitar danos as membranas (BIN et al., 2010).

É fundamental que as plantas disponham de mecanismos que controlem os níveis de EROs em seus compartimentos celulares, pois estresses como a seca, ativam o mecanismo de proteção nas plantas como o sistema antioxidativo enzimático formado, principalmente pelas enzimas SOD, CAT e APX (TIAN et al., 2016). Nesse trabalho, o aumento das atividades do sistema antioxidante foi considerado uma característica para classificar o clone BV 1210 como sendo resiliente, assim como é feito com determinadas espécies (LAXA et al., 2019; LOKA et al., 2019). A atividade da SOD nas folhas dos clones BV 1110, BV 1210 e BV 1321 foi mais ativa no grupo CDH1 no período de DH, e na raiz, no grupo CDH3 (FIGURA 18). Porém, no clone BV 1110 foi ainda maior do que nos clones BV 1210 e BV 1321. A atividade da SOD é a primeira barreira antioxidante enzimática, pois são enzimas mais rápidas, atuando na desintoxicação do O_2^- e evitando a formação de OH. O aumento nos níveis da SOD durante a seca também foi relatado em estudos com arroz e girassol (FULDA et al., 2011; SALEKDEH et al., 2002) assim como a redução foi relatada por Cruz de Carvalho, (2008). A APX esteve mais ativa nas raízes dos grupos CDH1 sob DH em todos os clones de cedro australiano avaliados (FIGURA 20D, 20E e 20F). A enzima ascorbato peroxidase possui alta afinidade pelo peróxido de hidrogênio e ascorbato sugerindo não apenas a desintoxicação do H_2O_2 mas também o controle nos seus níveis como mecanismo de sinalização (MITTLER; POULOS, 2005; LAXA et al., 2019). Durante o período de DH, a CAT se mostrou mais ativa nas folhas do grupo CDH3 para o clone BV 1110 e nos grupos CDH1 e CDH3 para os clones BV 1210 e BV 1321 (FIGURA 19A, 19B e 19C). O peróxido de hidrogênio também pode difundir-se para outros locais subcelulares, como núcleo e o citosol desempenhando papel de sinalização intracelular durante o estresse, porém, a maior parte do H_2O_2 fotorrespiratório é decomposto pela catalase nos peroxissomos (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2014).

5 CONCLUSÃO

Os ciclos de déficit hídrico experimentalmente impostos, permitiram observar alterações nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos dos clones. O clone BV 1110 apresentou maior comprimento radicular sob seca, porém o estresse não foi suficiente para reduzir seu metabolismo. A prolina foi um indicador de estresse pelo alto conteúdo encontrado nos grupos CDH1 e CDH3 sob déficit hídrico, assim como o peróxido de hidrogênio. Das enzimas antioxidantes, a atuante foi a SOD nas folhas e raízes.

Já o clone BV 1210 apesar dos valores reduzidos para número de folhas, folíolos e fluorescência da clorofila a sob déficit hídrico, após a reidratação foram restaurados. O conteúdo de prolina e H_2O_2 foi reduzido no grupo CDH3 sob DH. A CAT foi a enzima mais ativa nas folhas desse clone sob estresse hídrico.

Enquanto que o clone BV 1321 obteve o menor comprimento de raiz e potencial hídrico. Assim como redução no número de folhas e folíolos no grupo CDH3. A maquinaria fotossintética foi alterada pela seca, reduzindo a fluorescência da clorofila e recuperada após reidratação. Houve consumo de carboidratos nas folhas e raízes. O peróxido de hidrogênio também foi reduzido no grupo CDH3 sob DH e a enzima atuante em maior concentração foi a APX, no grupo de plantas CDH1 sob DH.

Sendo assim, o clone BV 1110 se mostrou resistente ao déficit hídrico imposto por não alterar suas características de crescimento e desenvolvimento. Os clones BV 1210 e BV 1321 realizaram ajustes metabólicos (não padronizados) que as permitiram exibir diferentes respostas nos grupos CDH1 e CDH3. No entanto, não foram suficientes para evitar danos (redução) ao crescimento das plantas.

Portanto, os parâmetros utilizados para caracterização dos clones de cedro australiano mostraram ser satisfatórios para considerar o clone BV 1210 resiliente ao déficit hídrico imposto.

REFERÊNCIAS

- ABID, G. et al. Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in faba bean (*Vicia faba* L.). **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 4, p. 536-552, 2017.
- AIDAR, S. T. et al. Desiccation tolerance in *Pleurostima purpurea* (Velloziaceae). **Plant Growth Regulation**, v. 62, n. 3, p. 193–202, 2010.
- ALBUQUERQUE, M. P. F. de. et al. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 9–16, 2013.
- ANDROCIOLI, L. et al. Effect of Water Deficit on Morphoagronomic and Physiological Traits of Common Bean Genotypes with Contrasting Drought Tolerance. **Water**, v. 12, n. 1, p. 217, 13 jan. 2020.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- 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***. 2009. Thesis (submitted for degree of Ph.D in plant physiology) Department of Biology Sciences, Teacher Training (Tarbiyat Moallem) University of Tehran, 2009.
- ARAÚJO, A. C. C. de. Seleção de genótipos de *Toona ciliata* fundamentada nas variações radiais do conteúdo de carboidratos não estruturais na madeira. 2019. 50 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.
- ATAÍDE, W. et al. Growth and gas exchange of *Tachigali vulgaris* submitted to water deficiency. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 771–782, jul. 2018.
- BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BASU, S. et al. Plant adaptation to drought stress. **F1000Research**, v. 5, 2016.
- BERENGUER, H. D. P. et al. Differential physiological performance of two Eucalyptus species and one hybrid under different imposed water availability scenarios. **Trees - Structure and Function**, v. 32, n. 2, p. 415–427, 1 abr. 2018.
- BERTOLLI, S. C. et al. Why is it so difficult to identify a single indicator of water stress in plants? A proposal for a multivariate analysis to assess emergent properties. **Plant Biology**, v. 16, n. 3, p. 578-585, 2014.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidantes, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BIEMELT, S.; KEETMAN, U; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, 1998.

BIN, T. et al. Changes of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of waterlogging-tolerant and waterlogging-sensitive maize genotypes at seedling stage. **Agricultural Sciences in China**, v.9, n. 5, p. 651-661, 2010.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. O. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: Hall, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C.; LONG, S. P. Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual. **Springer**, p.193-206, 1993.

BOLOURI-MOGHADDAM, M. R. et al. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **The FEBS journal**, v. 277, n. 9, p. 2022-2037, 2010.

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

BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. **Plant Physiology**, v. 132, n. 4, p. 2166–2173, 1 ago. 2003.

BRUCE, T. J. et al. Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, n. 6, p. 603-608, 2007.

BU, L. D. et al. Response of photosynthetic characteristics to water stress of maize leaf in seeding, **Acta Ecologica Sinica**, v. 30, n. 5, p. 1184-1191, 2010.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzimology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

BYGRAVE, F. L.; BYGRAVE, P. L. Growing Australian red cedar and other Meliaceae species in plantation. **Rural Industries Research & Development Corporation**. 60p. 2005.

BYUN, Y. J. et al. Comparative analysis of gene expression under cold acclimation, deacclimation and reacclimation in *Arabidopsis*. **Physiologia plantarum**, v. 152, n. 2, p. 256-274, 2014.

CARMO, C. R. S.; ALMEIDA, S. D. A. F. Culturas temporárias cultivadas no estado de minas gerais: um estudo comparativo envolvendo crédito rural e variáveis climáticas. **REUNIR: Revista de Administração, Contabilidade e Sustentabilidade**, v. 6, n. 3, p. 20-36, 2016.

CHAI, Q. et al. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. **Agronomy for sustainable development**, v. 36, n. 1, p. 3, 2016.

- CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.
- CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. **Functional plant biology**, v. 30, n. 3, p. 239-264, 2003.
- CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. **Trends in Plant Science**, v.13, n. 9, p. 499-505, 2008.
- CONNOR, D. J. Adaptation of olive (*Olea europaea* L.) to water-limited environments. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, n. 11, p. 1181-1189, 2005.
- COSTA, R. C. L. et al. Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Agronomy Journal**, Madison, v. 7, p. 98- 101, 2008.
- CRAMER, G. R. et al. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC plant biology**, v. 11, n. 1, p. 163, 2011.
- CRUZ DE CARVALHO, M. H. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant signaling & behavior**, v. 3, n. 3, p. 156-165, 2008.
- DANG, H. et al. Drought-Induced Reductions and Limited Recovery in the Radial Growth, Transpiration, and Canopy Stomatal Conductance of Mongolian Scots Pine (*Pinus sylvestris* var. *mongolica* Litv): A Five-Year Observation. **Forests**, v. 10, n. 12, p. 1143, 13 dez. 2019.
- DE OLIVEIRA, T. P. F. et al. Trocas gasosas, condutividade hidráulica das raízes, eficiência do uso da água e crescimento de mudas clonais e seminíferas de *Toona ciliata*. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 715, 2019.
- DIAS, M. C. et al. Chlorophyll fluorescence and oxidative stress endpoints to discriminate olive cultivars tolerance to drought and heat episodes. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 31–35, 27 jan. 2018.
- DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. **Methods in carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, v. 1, p. 478-512, 1962.
- DOBBERTIN, M. Tree growth as indicator of tree vitality and of tree reaction to environmental stress: a review. **European Journal of Forest Research**, v. 124, n. 4, p. 319-333, 2005.
- DUSENGE, M. E.; DUARTE, A. G.; WAY, D. A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. **New Phytologist**, v. 221, n. 1, p. 32-49, 2019.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; CLARK, R. B. **Physiology of crop production**. CRC Press, 2006.

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. et al. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management Agronomy for Sustainable Development. **Springer**, jan. 2009.

FATIMA, M. et al. Drought Effect and Tolerance Potential of Wheat: A Mini-Review. **International Journal of Nanotechnology and Allied Sciences**, v. 2, n. 2, p. 16–21, 10 nov. 2018.

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

FILHO, A. N. K.; WENDLING, I. Produção de mudas de cedro australiano. **Embrapa Florestas-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2012.

FIGUEIREDO, S. L. et al. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 3, p. 342-349, 2011.

FLETA-SORIANO, E.; MUNNÉ-BOSCH, S. Stress memory and the inevitable effects of drought: a physiological perspective. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 143, 2016.

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

FREITAS GUEDES, F. A. et al. Transcriptional memory contributes to drought tolerance in coffee (*Coffea canephora*) plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 147, p. 220-233, 2018.

FULDA, S. et al. Physiology and proteomics of drought stress acclimation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Plant Biology**, v. 13, n. 4, p. 632-642, 2011.

GALLE, A. et al. The Mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi-deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and re-watering cycles. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 14, p. 5207-5216, 2011.

GETTE, I. G.; PAKHARKOVA, N. V. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Fluorescence procedures to assess the photosynthetic resilience in Scots pines after a surface fire. **Institute of Physics Publishing**. 2015.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, Feb. 1977.

GOSAL, S. S.; WANI, S. H.; KANG, M. S. Biotechnology and Drought Tolerance. **Journal of Crop Improvement**, v. 23, n. 1, p. 19–54, 29 jan. 2009.

- GUTIÉRREZ, R. A. et al. Qualitative network models and genome-wide expression data define carbon/nitrogen-responsive molecular machines in *Arabidopsis*. **Genome biology**, v. 8, n. 1, p. 1, 2007.
- HAVAUX, M.; KLOPPSTECH, K. The protective functions of carotenoid and flavonoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis* npq and tt mutants. **Planta**. v. 213, n.6, p. 953–966, 2001.
- HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.
- HEINRICH, I., BANKS, J. C. Variation in phenology, growth, and wood anatomy of *Toona sinensis* and *Toona ciliata* in relation to different environmental conditions. **International Journal of Plant Sciences**, v. 167, n. 4, p. 831-841, 2006.
- HILKER, M. et al. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews**, v. 91, n. 4, p. 1118-1133, 2016.
- HOCH, G.; RICHTER, A.; KÖRNER, C. Nonstructural carbon compounds in temperate forest trees. **Plant Cell Environ**, v. 26, n. 7, p. 1067–1081, 2003.
- HODECKER, B. E. R. et al. Water availability preceding long-term drought defines the tolerance of Eucalyptus to water restriction. **New Forests**, v. 49, n. 2, p. 173–195, 1 mar. 2018.
- HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanism of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v. 6, p. 431-438, 2001.
- HONG-GANG, S. et al. Effects of water stress on seedling growth and biomass allocation of *Toona ciliata* Var. pubescens. **Forest Research**. v. 27, n. 3, p. 381-387, 2014. Doi: 1001-1498(2014) 03- 0381-07 (Chinese language).
- HORACIO, P.; MARTINEZ-NOEL, G. Sucrose signaling in plants: a world yet to be explored. **Plant signaling & behavior**, v. 8, n. 3, p. e23316, 2013.
- HU, T. et al. Stress memory induced transcriptional and metabolic changes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in response to salt stress. **Physiologia plantarum**, v. 156, n. 1, p. 54-69, 2016.
- HU, T. et al. Stress memory induced rearrangements of HSP transcription, photosystem II photochemistry and metabolism of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) in response to high-temperature stress. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 403, 2015.
- HUBER, A. E. et al. Signal coordination before, during and after stomatal closure in response to drought stress. **New Phytologist**, v. 224, n. 2, p. 675-688, 2019.
- IWASAKI, M.; PASZKOWSKI, J.. Epigenetic memory in plants. **The EMBO journal**, v. 33, n. 18, p. 1987-1998, 2014.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609–619, 18 dez. 2015.

KEUNEN, E. et al. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 7, p. 1242–1255, jan. 2013.

KINOSHITA, T.; SEKI, M. Epigenetic memory for stress response and adaptation in plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 11, p. 1859-1863, 2014.

KOZLOWSKI, T. I. Water supply and leaf shedding. In: **Soil water measurements, plant responses, and breeding for drought resistance**. New York: Academic Press, n. 4, p. 191-222, 1976.

LAXA, M. et al. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, p. 94, 2019.

LI, J. Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato at seedling stage. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 1, p. 82-88, 2017.

LI, T. et al. Drought stress impacts of climate change on rainfed rice in South Asia. **Climatic change**, v. 133, n. 4, p. 709-720, 2015.

LI, X.; LIU, F. Drought stress memory and drought stress tolerance in plants: biochemical and molecular basis. In: **Drought Stress Tolerance in Plants**, Springer, v. 1, p. 17-44, 2016.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, v. 1, n. 1, p. F4. 3.1-F4. 3.8, 2001.

LIMOUSIN, J. M. et al. Convergence in resource use efficiency across trees with differing hydraulic strategies in response to ecosystem precipitation manipulation. **Functional Ecology**, v. 29, n. 9, p. 1125-1136, 2015.

LISAR, S.Y.S. et al. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: Rahman I.M.M., Hasegawa H. (Eds), **Water Stress**. Croatia, p. 1–14, 2012.

LIU, B. et al. Drought stress affects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of Juglans rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 230–235, 10 maio 2019.

LOKA, D. et al. Impacts of abiotic stresses on the physiology and metabolism of cool-season grasses: A review. **Food and Energy Security**, v. 8, n. 1, p. e00152, 1 fev. 2019.

LORENZI, H. et al. Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa, p. 368, 2003.

- LUNZ, A. M. et al. *Hypsipyla grandella* em mogno (*Switenia macrophylla*): Situação atual e perspectivas. **Pesquisa Floresta Brasileira**, Colombo, n. 57, p. 45-55, 2009.
- MAHLI, Y. The productivity, metabolism and carbon cycle of tropical forest vegetation. **Journal of Ecology**, v. 100, n. 1, p. 65-75, 2012.
- MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de gestão estratégica projeções do agronegócio**. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_protegidas.php>. Acessado em 20 nov. 2019.
- MARCOS, F. C. C. et al. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water deficit. **Journal of Plant Physiology**, v. 223, p. 9–18, abr. 2018.
- MARÉCHAUX, I. et al. Drought tolerance as predicted by leaf water potential at turgor loss point varies strongly across species within an Amazonian forest. **Functional Ecology**, v. 29, n. 10, p. 1268–1277, out. 2015.
- MARTINS, S. C. et al. How do coffee trees deal with severe natural droughts? An analysis of hydraulic, diffusive and biochemical components at the leaf level. **Trees**, v. 33, n. 6, p. 1679-1693, 2019.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659–668, 1 abr. 2000.
- MENEZES-SILVA, P. E. et al. Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 15, p. 4309-4322, 2017.
- MENEZES-SILVA, P. E. et al. Different ways to die in a changing world: Consequences of climate change for tree species performance and survival through an ecophysiological perspective. **Ecology and evolution**, v. 9, n. 20, p. 11979-11999, 2019.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, Mar. 1959.
- MITTLER, R.; POULOS, T. L. Ascorbate peroxidase. In: Smirnoff N (ed) Antioxidants and reactive oxygen species in plants. **Blackwell**, Oxford, p. 87–100, 2005.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n.5, p. 867-880, 1981.
- NARDINI, A. et al. Rooting depth, water relations and non-structural carbohydrate dynamics in three woody angiosperms differentially affected by an extreme summer drought. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, n. 3, p. 618-627, 2016.
- NARDINI, A. et al. Drought Stress and the Recovery from Xylem Embolism in Woody Plants. In: Progress in **Botany**, Springer, Cham, v. 79, p. 198-203, 2017.

NEGI, S. J. et al. Chemical and pharmacological aspects of *Toona* (Meliaceae). **Research Journal of Phytochemistry**, v. 5, n. 1, p. 14-21, 2011.

NITSCHKE, C. R. et al. The influence of climate and drought on urban tree growth in southeast Australia and the implications for future growth under climate change. **Landscape and Urban Planning**, v. 167, p. 275-287, 2017.

NOCTOR, G. et al. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration?. **Annals of Botany**, v. 89, n. 7, p. 841-850, 2002.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant Physiology**, v. 164, p. 1636–1648, 2014.

OLIOSI, G. et al. Microclimate and development of *Coffea canephora* cv. conilon under different shading levels promoted by Australian cedar (*Toona ciliata* M. Roem. var. australis). **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 4, p. 528, 2016.

OLIVEIRA, V. F.; SILVA, E. A. D.; CARVALHO, M. A. M. Elevated CO₂ atmosphere minimizes the effect of drought on the Cerrado species *Chrysolaena obovata*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 810, 2016.

PACHAURI, R. K. et al. **Climate Change 2014: Synthesis Report**. Geneva: Intergovernmental Panel on Climate Change, p.151, 2014. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Disponível em: <http://www.ipcc.ch/pdf/assessmentreport/ar5/syr/SYR_AR5_FINAL_full.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2016.

PANDEY, V.; SHUKLA, A. Acclimation and tolerance strategies of rice under drought stress. **Rice Science**, v. 22, n. 4, p. 147-161, 2015.

PEREIRA, L.; MAZZAFERA, P. A low cost apparatus for measuring the xylem hydraulic conductance in plants. **Bragantia**, v. 71, n. 4, p. 583-587, 2012.

PEREIRA, L. et al. Plant pneumatics: stem air flow is related to embolism—new perspectives on methods in plant hydraulics. **New Phytologist**, v. 211, n. 1, p. 357-370, 2016.

PFAUTSCH, S. et al. Climate determines vascular traits in the ecologically diverse genus *Eucalyptus*. **Ecology letters**, v. 19, n. 3, p. 240-248, 2016.

PINHEIRO, A. L.; LANI, L. L.; COUTO, L. Cultura do cedro australiano para produção de madeira serrada. Viçosa, MG: UFV. 42 p. 2003.

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.

RAMÍREZ, D. A. et al. Improving potato drought tolerance through the induction of long-term water stress memory. **Plant Science**, v. 238, p. 26-32, 2015.

RANATHUNGE, K.; SCHEREIBER, L. Water and solute permeabilities of Arabidopsis roots in relation to the amount and composition of aliphatic suberin. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 6, p. 1961-1974, 2011.

RAZA, A. et al. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants**, v. 8, n. 2, p. 34, 2019.

RODRÍGUEZ-GAMIR, J. et al. Aquaporin regulation in roots controls plant hydraulic conductance, stomatal conductance, and leaf water potential in *Pinus radiata* under water stress. **Plant Cell and Environment**, v. 42, n. 2, p. 717–729, 1 fev. 2019.

ROSADO, L. R. **Parâmetros genéticos em teste de Procedências E Progenies De *Toona Ciliata* M. Roemer Var. australis**. 2015. 68 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

ROUSSEAU, C. et al. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. **Plant Methods**, n. 9, p. 17, 2013.

RUBILAR, R. et al. Climate and water availability impacts on early growth and growth efficiency of Eucalyptus genotypes: The importance of GxE interactions. **Forest Ecology and Management**, v. 458, p. 117763, 2020.

SAADAoui, E. et al. An overview of adaptative responses to drought stress in Eucalyptus spp. **Forestry Studies**, v. 67, n. 1, p. 86-96, 2017.

SAIKI, S. T. et al. Physiological mechanisms of drought-induced tree die-off in relation to carbon, hydraulic and respiratory stress in a drought-tolerant woody plant. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2017.

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. **Drought Stress Tolerance in Plants**, Springer, Cham, v. 1, p. 1-16, 2016.

SALEKDEH, G. H. et al. Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery. **Proteomics**, n. 2, p.1131–1145, 2002.

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

SAMARINA, L. et al. In vitro Osmotic Stress Memory in *Chrysanthemum hybridum*: Structural and Physiological Responses. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 161–169, 2017.

SANTARIUS, K. A. The protective effect of sugars on chloroplast membranes during temperature and water stress and its relationship to frost, desiccation and heat resistance. **Planta**, v. 113, n. 2, p. 105-114, 1973.

SANTOS, A. M. **Melhoramento genético do cedro australiano (*Toona ciliata* M. Roemer var. *australis*)**. 2011. 64p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) –Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

SANTOS, L. L. D, et al. **Restrições hídrica e nutricional afetam aspectos fisiológicos e crescimento de mudas de cedro-australiano (*Toona ciliata* M. Roem. var. *australis* (F. Muell.) Bahadur)**. 2016. 92f. Tese doutorado Solos e Nutrição de Plantas – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

SCHEFFER, M. et al. *B. Catastrophic shifts in ecosystems*. **Nature**, v. 413, n. 6856, p. 591, 2001.

SCHWIDER, Y. S. et al. Efeito do déficit hídrico sobre o crescimento de eucalipto em diferentes condições microclimáticas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 888-900, 2013.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.

SOUZA, G. M. et al. Soybean under water deficit: physiological and yield responses. In: Board J.E. **A Comprehensive Survey of International Soybean Research – Genetics, Physiology, Agronomy and Nitrogen Relationships**. InTech, Rijeka, Croatia, p. 273–298, 2013.

SUDACHKOVA, N. E.; MILYUTINA, I. L.; SEMENOVA, G. P. Influence of water deficit on contents of carbohydrates and nitrogenous compounds in *Pinus sylvestris* L. and *Larix sibirica* Ledeb. tissues. **Eurasian Journal of Forest Research**, v. 4, p. 1-11, 2002.

SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends in Plant Science**. v. 5, p. 537–542, 2000.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, p. 89-97, 2010.

TAKAHASHI, F.; SHINOZAKI, K. Long-distance signaling in plant stress response. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 47, p. 106-111, 2019.

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.

TARDIEU, F.; SIMONNEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modeling isohydric and anisohydric behaviours. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 419-432, 1998.

TATAGIBA, S. D. et al. Trocas gasosas e potencial da água em clones de eucalipto submetidos ao déficit hídrico. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 15, n. 3, p. 212-227, 2007.

TIAN, S. et al. Plant aquaporin AtPIP1;4 Links apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways. **Plant Physiology**, v. 171, p. 1635-1650, 2016.

TOMBESI, S. et al. Effect of water stress “memory” on plant behavior during subsequent drought stress. **Environmental and experimental botany**, v. 150, p. 106-114, 2018.

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, 1986.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 22, n. 2, p. 280-283, Feb. 1968.

VARGAS, W. A.; PONTIS, H. G.; SALERNO, G. L. New insights on sucrose metabolism: evidence for an active A/N-Inv in chloroplasts uncovers a novel component of the intracellular carbon trafficking. **Planta**, v. 227, n. 4, p. 795-807, 2008.

VIEIRA, J.; CARVALHO, A.; CAMPELO, F. Tree Growth Under Climate Change: Evidence From Xylogenesis Timings and Kinetics. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 90, 2020.

VIRLOUVET, L.; FROMM, M. Physiological and transcriptional memory in guard cells during repetitive dehydration stress. **New Phytologist**, v. 205, n. 2, p. 596-607, 2015.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. **Plant signaling & behavior**, v. 5, n. 6, p. 649-654, 2010.

WANG, S. et al. Experience of inundation or drought alters the responses of plants to subsequent water conditions. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 1, p. 176-187, 2017.

WANG, X. et al. Multiple heat priming enhances thermo-tolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 74, p. 185-192, 2014.

WESTMAN, W. E. Measuring the inertia and resilience of ecosystems. **Bioscience**, v. 28, p. 705-710, 1978.

WILTSHIRE, A. et al. The importance of population, climate change and CO₂ plant physiological forcing in determining future global water stress. **Global Environmental Change**, v. 23, n. 5, p. 1083-1097, 2013.

YADAV, A. K. et al. Wheat drought tolerance in the field is predicted by amino acid responses to glasshouse-imposed drought. **Journal of experimental botany**, v. 70, n. 18, p. 4931-4948, 2019.

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

YOUSAF, M. S. et al. Effect of Drought Stress on the Growth and Morphological Traits of *Eucalyptus camaldulensis* and *Eucalyptus citriodora*. **PSM Biological Research**, v. 3, n. 3, p. 85-91, 2018.

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