

A aplicação exógena foliar de ácido abscísico desencadeia mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em seringueira

Leaf exogenous application of abscisic acid triggers tolerance mechanisms to water stress in rubber

Hyrandir Cabral de Melo^I, Fabrício Jesus Rodrigues^{II}, Silas Ferreira Queirós^{II}, Tomás de Aquino Portes^I

Resumo

O ácido abscísico (ABA) é conhecido como o hormônio mais influente em desencadear mecanismos de tolerância a estresse em plantas, inclusive à deficiência hídrica. No entanto, o efeito da aplicação exógena como indutora de tolerância pré-estresse é pouco estudado em plantas de interesse agrônomico. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ABA sobre o desencadeamento de mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em mudas de seringueira, cultivar RRIM 600. Foram usadas soluções nas concentrações 0, 50, 100 ou 200 μM , aplicadas semanalmente nas folhas durante 12 semanas, seguidas de suspensão da rega por 13 dias. As análises foram realizadas em folhas do segundo nó, da base para o ápice, em cinco plantas por tratamento (sendo o tratamento a concentração de ABA). As plantas tinham mais de seis folhas completamente expandidas e cultivadas em vaso com capacidade de 10 L contendo latossolo vermelho-escuro. Verificou-se sua influência sobre a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm), medidas diariamente durante a suspensão da rega, e sobre trocas gasosas medidas nos dias 0, 3, 7 e 10 após a suspensão da rega. Após 120 dias do final do primeiro período de suspensão da rega e após ocorrer abscisão natural e recomposição foliar, as plantas foram novamente submetidas a um segundo período de 13 dias de suspensão da rega para verificar se haveria efeito residual da aplicação do ABA nas novas folhas não tratadas. Foi observado que a aplicação exógena de ABA induziu tolerância à deficiência hídrica, especialmente nas plantas tratadas com 100 e 200 μM e causou efeito residual de tolerância nas novas folhas não tratadas com ABA. Foi observado que a primeira suspensão da rega desencadeou mecanismos de tolerância, os quais foram observados durante o segundo período de suspensão da rega em plantas não tratadas com o hormônio. A aplicação foliar de ABA desencadeia, portanto, mecanismos que permitem maior tolerância à deficiência hídrica à qual a planta venha a ser submetida.

Palavras-chave: ABA; Estresse hídrico; Fluorescência; Fotossíntese; *Hevea brasiliensis*

Abstract

The abscisic acid (ABA) is known as the most influential hormone in triggering mechanisms of stress tolerance in plants, including water deficit. However, the effect of ABA exogenous application as a pre-stress inducing tolerance is poorly studied in plants of agronomic interest. The purpose of this research was to evaluate the effect of ABA triggering mechanisms of stress tolerance in rubber tree seedlings, cultivar RRIM 600. The concentrations used were 0, 50, 100 or 200 μM applied weekly on leaves for 12 weeks, followed by the suspension of watering for 13 days. Leaves of the second node, from the basis to the apex, were analysed, using five plants per treatment (ABA concentration), which had more than six leaves completely expanded and cultivated in vases of 10 L with dark-red latosol. It was evaluated its influence on the potential quantum efficiency of photosystem II (Fv / Fm), measured daily during the suspension of irrigation, and on gas exchanges measured on days 0, 3, 7 and 10 after the suspension of irrigation. After 120 days of the end of the first period of watering suspension and after occurring natural abscission and leaf recovery, the plants were again submitted to a second period of 13 days of water suspension to check the residual effects of the prior application of ABA on untreated leaves. It was observed that the exogenous application of ABA induced drought tolerance, particularly in plants treated with 100 and 200 μM and caused residual effect of tolerance on untreated new leaves. It was observed that the first watering suspension itself triggered tolerance mechanisms observed during the second period of water suspension on ABA untreated plants. The foliar application of ABA triggers mechanisms that improve the tolerance of the plants to the water deficit to which the plants can be submitted.

Keywords: ABA; Fluorescence; Photosynthesis; *Hevea brasiliensis*; Water deficit

^I Licenciado em Ciência Agrícola, Dr., Professor do Departamento de Botânica, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Av. Esperança, s/n, CEP 74690-900, Goiânia (GO), Brasil. hyrandir@yahoo.com.br (ORCID: 0000-0001-9546-2539) / portescastro@gmail.com (ORCID: 0000-0002-4965-0851)

^{II} Engenheiro Agrônomo, Pesquisador Autônomo, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Av. Esperança, s/n, CEP 74690-900, Goiânia (GO), Brasil. fabricaoagro1992@gmail.com (ORCID: 000-0001-9545-5945) / sillas.queiros@gmail.com (ORCID: 00000-0002-8638-0205)



Introdução

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio vegetal reconhecidamente importante no estabelecimento de mecanismos de tolerância de plantas a estresses abióticos. Dentre os mecanismos mais conhecidos está a indução do fechamento estomático (MUNEMASA *et al.*, 2015), o que, conseqüentemente leva à redução da transpiração em plantas submetidas às condições de baixa disponibilidade hídrica. Outro mecanismo é a indução do acúmulo de substâncias osmoticamente ativas em raízes (ZEEVAART; CRELMAN, 1988), promovendo a redução do seu potencial osmótico, fundamental ao processo de absorção de água, especialmente em solos com potencial hídrico muito reduzido.

O ABA também é conhecido como indutor de tolerância à deficiência hídrica em plantas e dessecação em sementes ortodoxas e em plantas ressurgentes. Está envolvido na regulação da expressão de genes que codificam proteínas relacionadas a fatores de tolerância à deficiência hídrica como as *late embryogenesis abundant proteins* (LEA proteínas), as quais são muito hidrofílicas, e que podem, por exemplo, proteger sistemas de endomembranas e macromoléculas como enzimas e lipídeos em tecidos que sofrem desidratação (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1999). Outros genes também têm expressão positivamente regulada por ABA como aqueles relacionados à síntese de açúcares de alto potencial de regulação osmótica, os quais podem inclusive participar de processos de hiper-hidricidade (IGRAM; BARTELS, 1996). Dos genes de plantas, cuja expressão é induzida por ABA, 98% são induzidos por alta salinidade e 100% são induzidos por deficiência hídrica, evidenciando a forte relação entre ABA e respostas de plantas a estes estresses (RABBANI *et al.*, 2003). O próprio estresse por deficiência hídrica atua como um sinalizador para maior biossíntese de ABA pela planta, e este que, por sua vez, tem a sua biossíntese aumentada atua como sinalizador para ampliação de respostas de tolerância das plantas à condição estressante (XIONG; ZHU, 2003).

Apesar do amplo conhecimento da ação do ABA sobre mecanismos de tolerância a estresses poucas pesquisas investigam o efeito da sua aplicação exógena sobre a fisiologia e a produção de plantas de interesse comercial (AROCA *et al.*, 2008; TRAVAGLIA *et al.*, 2010). Períodos prolongados de deficiência hídrica podem causar danos a diferentes eventos do metabolismo ou do desenvolvimento vegetal que podem depauperar a planta, especialmente mudas, causando um baixo desempenho destas nas condições de campo. Nesse sentido, o tratamento de mudas com ABA poderia torná-la mais tolerante a períodos longos de estiagem caso desenvolvam mecanismos de tolerância à deficiência hídrica estimulada pela aplicação exógena desse hormônio. A importância desta tolerância é ampliada quando se trata de regiões que sofrem períodos prolongados de estiagem e também de espécies de plantas comumente cultivadas a campo sem irrigação, como é o caso da seringueira (*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. ADR. DE JUSS.) MUELL. ARG.), espécie cujo cultivo tem se expandido em regiões do Centro-Oeste brasileiro que têm período muito prolongado de estiagem ao longo do ano. A cultivar de seringueira RRIM 600, além de ser muito cultivada pelos produtores, por ter característica de abscisão foliar sob forte deficiência hídrica, permite que se verifique se o efeito da aplicação foliar de ABA se estende às novas folhas não tratadas após a abscisão e recomposição foliar.

A avaliação da eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II tem sido amplamente utilizada como parâmetro estimativo de dano causado por estresse hídrico ao aparato fotoquímico da fotossíntese em plantas (BAKER, 2008; RAHBARIAN *et al.*, 2011; MISHRA *et al.*, 2012). Quando se associam dados de fluorescência à análise de trocas gasosas, incluindo a fotossíntese líquida, aumenta-se a precisão de estimativa de danos causados por estresse à planta, uma vez que se unem parâmetros de potencialidade e de efetividade fotossintética, pois além da eficiência fotoquímica também se estima a eficiência carboxilativa da fotossíntese (GENTY; BRIANTAIS; BAKER, 1989; ALVES *et al.*, 2016).

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da aplicação exógena de diferentes concentrações de ABA nas folhas de mudas de seringueira, cultivar RRIM 600, sobre o desencadeamento de mecanismos de tolerância à deficiência hídrica, assim como avaliar o efeito residual da aplicação do ABA após abscisão natural e restabelecimento foliar.

Material e método

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no município de Goiânia, a 16°36' S e 49°13' W, altitude de 800 m. Foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, consistindo de quatro tratamentos, com dez repetições por tratamento, sendo os tratamentos as concentrações do ABA. Foi utilizada a espécie *Hevea brasiliensis* (Wild. ex. ADR. De Juss.) Muell. Arg., seringueira, cultivar RRIM 600.

O solo utilizado como substrato foi um latossolo vermelho-escuro, cujas características químicas antes do experimento eram: pH (CaCl₂) 5,2; P disponível (Mehlich I) 2,3 mg kg⁻¹; K 50 mg kg⁻¹; Ca 5,7 cmolc kg⁻¹; Mg 0,5 cmolc kg⁻¹; capacidade de troca catiônica (CTC) 9,4 cmolc kg⁻¹ e matéria orgânica (MO) 30 g kg⁻¹. As plantas foram cultivadas em vasos com 10 Kg do substrato suplementado em cobertura com 5g/vaso, do fertilizante NPK 4-14-8, sendo esta mesma quantidade aplicada a cada dois meses.

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação com cobertura plástica transparente. A radiação efetiva ao meio-dia, em dias de sol, era de 1.050 μmol.m⁻².s⁻¹, mensurada por meio de um quantômetro-fotômetro-radiômetro LI-COR, modelo LI-185, Nebraska, EUA, equipado com um sensor quântico. A temperatura e a umidade relativa do ar foram avaliadas com termo-higrômetro, com oscilação de temperatura de 29°C a 44°C e umidade relativa do ar de 35% a 60% durante o dia. Durante a noite, a temperatura mínima foi 22°C e máxima 26°C.

Após dois meses de cultivo nas condições citadas acima, as plantas tinham mais de seis folhas completamente expandidas, dando-se início ao tratamento. As plantas foram tratadas semanalmente com soluções de 0, 50, 100 ou 200 μM de ABA durante 12 semanas, ininterruptamente. A concentração 0 μM de ABA é considerado o tratamento-controle. As folhas foram borrifadas em ambas as faces até o ponto de escoamento. Durante esse período, as plantas foram regadas diariamente e o solo mantido sempre úmido para evitar estresse por deficiência hídrica.

Para avaliação dos efeitos da aplicação das soluções aquosas, as plantas foram submetidas à suspensão da rega e avaliadas diariamente quanto à eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II, Fv/Fm, utilizando-se de um fluorômetro modelo Hansatech PEA MK2 (Kings Lynn, England). Foram avaliadas folhas maduras e completamente expandidas do segundo nó, da base para o ápice da planta, de cinco plantas por tratamento, escolhidas ao acaso. As áreas das folhas a serem analisadas foram submetidas a 20 min de escuro antes da análise, por meio de grampos adaptáveis à câmara do fluorômetro. Foi utilizado pulso de luz saturante de 3.000 μmol m⁻² s⁻¹ com duração de 5 s. As análises foram realizadas entre 8:00 e 9:00h. O primeiro dia de análise, dia 0, foi o último dia anterior à suspensão da rega e o último dia de análise foi estabelecido pela evidência de forte depauperação das plantas, expressada pela abscisão total foliar de 50% das plantas do tratamento ou pela baixa razão Fv/Fm, igual ou inferior a 0,6.

Para estudos de efetividade de desempenho fotossintético, foram realizadas quatro avaliações de trocas gasosas, sendo a primeira no dia 0, e as demais 3, 7 e 10 dias após a suspensão da rega. As avaliações ocorreram no período da manhã, entre 8h e 10h, nas mesmas plantas e nas mesmas folhas em que foram analisadas a razão Fv/Fm, utilizando-se de um analisador de gases infravermelho modelo LI-COR 6400XTR (Licor®, Nebraska, EUA) com temperatura do bloco de 24°C e densidade de fluxo de fótons igual a 1.000 μmol m⁻² s⁻¹. As variáveis analisadas foram as taxas de fotossíntese líquida (*A*, em μmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática (*g_s*, mol H₂O m⁻²s⁻¹) e transpiração (*E*, mmol H₂O m⁻² s⁻¹).

Após o final do primeiro período de suspensão da rega, considerado o primeiro estresse, as plantas voltaram à condição de rega diária e não foram tratadas novamente com ABA. Após o estresse, todas as plantas sofreram abscisão natural e recomposição foliar, e após 120 dias do final do primeiro estresse, quando as plantas estavam novamente com seis ou mais folhas maduras, uma nova suspensão da rega foi imposta às plantas, no intuito de se perceber se havia efeito residual da aplicação do ABA nas folhas novas, não tratadas previamente com ABA. Foram realizadas as mesmas avaliações que tinham sido feitas durante o primeiro estresse, no entanto, agora feitas em folhas não tratadas, mantendo-se as mesmas características de posição nodal, número de repetições e dias após suspensão da rega.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e separados em classes distintas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, analisando as diferenças entre os tratamentos nos diferentes dias analisados e também de cada tratamento ao longo dos dias de suspensão da rega.

Resultados e discussão

A partir do quarto dia da primeira suspensão da rega, as plantas do tratamento-controle já tinham eficiência fotoquímica potencial (razão Fv/Fm) inferior àquelas dos demais tratamentos, mantendo-se assim até o final do experimento. Somente a partir do nono dia de suspensão da rega, as plantas tratadas com 50 μM de ABA tiveram razão Fv/Fm inferior àquelas tratadas com 100 e 200 μM de ABA, as quais não diferiram entre si durante todo o experimento (Tabela 1). Durante a segunda suspensão da rega, não ocorreu variação na razão Fv/Fm entre as plantas dos diferentes tratamentos, única exceção feita no sétimo dia, em que plantas do tratamento-controle tiveram redução da razão Fv/Fm, em relação às plantas dos demais tratamentos, o que se atribui ao baixo coeficiente de variação em relação aos dias posteriores (Tabela 1). A não variação na razão Fv/Fm, neste caso, evidencia que todas as plantas, independentemente das concentrações prévias de ABA às quais foram expostas, estavam mais tolerantes à deficiência hídrica durante a segunda suspensão da rega.

Tabela 1 – Eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) em mudas de seringueira (*Hevea brasiliensis*) tratadas durante 12 semanas com aplicação foliar de ácido abscísico (ABA), em diferentes concentrações, e submetidas a 13 dias de suspensão da rega (primeira suspensão da rega), e segunda suspensão da rega após 120 dias do final da primeira suspensão da rega (segunda suspensão da rega).

Table 1 – Potential of photochemical efficiency of the photosystem II (Fv / Fm) in rubber tree seedlings (*Hevea brasiliensis*) treated for 12 weeks with foliar application of abscisic acid (ABA) at different concentrations and submitted to 13 days of water withholding (Days after the first water withholding), and second water withholding after 120 days of the end of the first water withholding (Days after the second water withholding).

[ABA]	Dias após a primeira suspensão da rega (Days after the first water withholding)													CV	
μM	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	(%)
0	0,82a ^A	0,82a ^A	0,79a ^{AB}	0,78a ^{AB}	0,63b ^{ABC}	0,49b ^{BC}	0,29b ^{CD}	0,05b ^D	0,02b ^D	0,01c ^D	0,01c ^D	-	-	-	45,54
50	0,84a ^A	0,83a ^A	0,78a ^A	0,78a ^A	0,80ab ^A	0,76a ^{AB}	0,65a ^{AB}	0,64a ^{AB}	0,64a ^{AB}	0,50b ^{BC}	0,50b ^{BC}	0,36b ^C	-	-	20,26
100	0,82a ^A	0,82a ^A	0,78a ^A	0,77a ^A	0,80ab ^A	0,81a ^A	0,63a ^A	0,68a ^A	0,68a ^A	0,70a ^A	0,78a ^A	0,80a ^A	0,76a ^A	0,64a ^A	31,7
200	0,83a ^A	0,83a ^A	0,83a ^A	0,83a ^A	0,82a ^A	0,82a ^A	0,77a ^{AB}	0,77a ^{AB}	0,77a ^{AB}	0,81a ^{AB}	0,81a ^{AB}	0,8a ^{AB}	0,71a ^{AB}	0,62a ^B	12,44
%CV	2,99	2,97	3,86	3,9	13,79	17,71	18,12	16,07	25,22	24,47	25,1	24,47	16,64	35,83	
[ABA]	Dias após a segunda suspensão da rega (Days after the second water withholding)													CV	
μM	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	(%)
0	0,81ab ^A	0,81ab ^A	0,80a ^A	0,80a ^A	0,79a ^A	0,79a ^A	0,79a ^A	0,78b ^A	0,76a ^A	0,70a ^A	0,70a ^A	0,48a ^{AB}	0,47a ^{AB}	0,31a ^B	21,54
50	0,82a ^A	0,82a ^A	0,81a ^A	0,81a ^A	0,81a ^A	0,80a ^A	0,80a ^A	0,80ab ^A	0,78a ^{AB}	0,70a ^{AB}	0,71a ^{AB}	0,49a ^{BC}	0,48a ^{BC}	0,35a ^C	16,37
100	0,81a ^A	0,81a ^A	0,81a ^A	0,81a ^A	0,82a ^A	0,81a ^A	0,82a ^A	0,81a ^A	0,80a ^A	0,81a ^A	0,80a ^A	0,64a ^A	0,64a ^A	0,52a ^A	19,15
200	0,82ab ^A	0,82ab ^A	0,82a ^A	0,82a ^A	0,82a ^A	0,82a ^A	0,82a ^A	0,81a ^A	0,81a ^A	0,82a ^A	0,81a ^A	0,80a ^A	0,79a ^A	0,47a _B	9
%CV	1,45	1,47	1,34	1,3	1,79	1,82	1,9	1,58	3,98	24,2	25,1	42,45	43,1	66,31	

Médias seguidas de letras minúsculas semelhantes, na coluna, indicam que não há diferença estatística entre tratamentos, avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro; médias seguidas de letras maiúsculas e sobrescritas semelhantes, na alínea, indicam que não há diferença estatística entre os dias de avaliação do mesmo tratamento, avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As médias são oriundas de cinco repetições.

Não foram observadas variações na razão Fv/Fm ao longo dos dias nos dois períodos de estresse nas plantas tratadas com 100 μM de ABA, e naquelas tratadas com 200 μM de ABA só foi observada queda na razão Fv/Fm no último dia de suspensão da rega (Tabela 1). Nas plantas tratadas com 50 μM de ABA, a redução na razão Fv/Fm foi observada a partir do nono dia em relação aos dias anteriores durante a primeira suspensão da rega e a partir do 11º dia durante a segunda suspensão da rega (Tabela 1), ao passo que plantas do tratamento-controle no quinto dia da primeira suspensão da rega já tinham redução da razão Fv/Fm em relação aos dias anteriores, sendo esta razão, a partir do sétimo dia, inferior àquela do quinto dia (Tabela 1). Durante a segunda suspensão da rega, plantas do tratamento-controle somente tiveram redução na razão Fv/Fm no último dia (Tabela 1). Estes resultados evidenciam que as concentrações de 100 e 200 μM de ABA foram mais eficientes em promover tolerância à deficiência hídrica do que a concentração de 50 μM , analisado o período de primeira suspensão da rega. O fato da razão Fv/Fm das plantas do tratamento-controle só ter alterado no último dia da segunda suspensão da rega evidencia que plantas não tratadas com ABA desenvolveram tolerância à deficiência hídrica durante a primeira suspensão da rega.

Durante a primeira suspensão da rega, a partir do 11º dia mais de 50% das plantas do tratamento-controle já tinham sofrido abscisão total foliar, o que também ocorreu a partir do 12º dia com as plantas do tratamento 50 μM de ABA, havendo, portanto, a necessidade de parar as avaliações. As plantas tratadas com 100 e 200 μM de ABA somente tiveram abscisão foliar após o final do período estressante, quando as avaliações já haviam sido suspensas. Durante todo o período da segunda suspensão da rega, as plantas de nenhum dos tratamentos sofreram abscisão foliar.

A taxa de fotossíntese líquida (A) das plantas no sétimo dia da primeira suspensão da rega era inferior àquela do dia 0 em todos os tratamentos estudados. No entanto, diferenças significativas entre tratamentos só foram observadas no décimo dia, quando as plantas do tratamento-controle e do tratamento 50 μM de ABA tinham A menor que aquelas tratadas com 100 e 200 μM de ABA (Tabela 2). Durante a segunda suspensão da rega, A não diferiu entre plantas dos diferentes tratamentos em nenhuma das quatro avaliações e, somente no sétimo dia, as plantas do tratamento 200 μM de ABA tiveram taxas reduzidas em relação aos dias anteriores e, no décimo dia, plantas de todos os tratamentos tiveram redução em relação aos dias anteriores (Tabela 2).

Tabela 2 – Trocas gasosas em mudas de seringueira (*Hevea brasiliensis*) tratadas durante 12 semanas com aplicação foliar de ácido abscísico (ABA), em diferentes concentrações, e submetidas à suspensão da rega (primeira suspensão da rega), e segunda suspensão da rega após 120 dias do final da primeira suspensão da rega (segunda suspensão da rega).

Table 2 – Gas exchange in rubber seedlings (*Hevea brasiliensis*) treated for 12 weeks with foliar application of abscisic acid (ABA), at different concentrations, and submitted to water withholding (Days after the first water withholding), and second water withholding after 120 days of the end of the first water withholding (Days after the second water withholding).

[ABA] μM	Dias após a primeira suspensão da rega (Days after the first water withholding)			
	0	3	7	10
Fotossíntese líquida (Net photosynthesis) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				
0	6,93 a ^A ±0,34	4,82 a ^A ±0,51	0,88 a ^B ±2,32	-1,38 bc ^B ±0,85
50	4,59 a ^A ±0,77	3,21 a ^{AB} ±0,65	2,02 a ^B ±0,97	-1,43 c ^C ±1,0
100	5,74 a ^A ±0,87	3,21 a ^{AB} ±0,92	1,30 a ^B ±0,81	1,34 ab ^B ±2,27
200	5,44 a ^A ±0,89	4,81 a ^A ±1,32	1,33 a ^B ±0,64	1,38 a ^B ±0,52
Condutância estomática (Stomatal conductance) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				
0	0,232 a ^A ±0,024	0,086 a ^B ±0,020	0,034 a ^C ±0,031	0,007 b ^C ±0,007
50	0,154 b ^A ±0,031	0,055 ab ^A ±0,032	0,028 a ^A ±0,007	0,014 b ^A ±0,012
100	0,168 b ^A ±0,031	0,038 b ^B ±0,007	0,030 a ^B ±0,008	0,047 a ^B ±0,026
200	0,108 b ^A ±0,036	0,060 ab ^B ±0,024	0,034 a ^B ±0,008	0,022 ab ^B ±0,007

Continua...

Tabela 2 – Conclusão...

Table 2 – Conclusion...

[ABA] μM	Dias após a primeira suspensão da rega (Days after the first water withholding)			
	0	3	7	10
	Transpiração (Transpiration) (mmol H₂O m⁻² s⁻¹)			
0	4,132 a ^A ±0,389	1,728 a ^B ±0,318	1,192 a ^{AB} ±0,961	0,260 b ^B ±0,244
50	1,940 b ^A ±0,081	1,180 ab ^{AB} ±0,614	1,134 a ^{AB} ±0,292	0,406 b ^B ±0,327
100	1,912 b ^A ±0,067	0,856 b ^B ±0,167	1,322 a ^{AB} ±0,429	1,280 a ^{AB} ±0,638
200	2,084 b ^A ±0,122	1,200 ab ^B ±0,427	0,918 a ^B ±0,368	0,770 ab ^B ±0,210
	Dias após a segunda suspensão da rega (Days after the second water withholding)			
[ABA] μM	Dias após a segunda suspensão da rega (Days after the second water withholding)			
	0	3	7	10
	Fotossíntese líquida (Net photosynthesis) (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹)			
0	4,09 a ^A ±0,37	3,89 a ^A ±0,69	1,88 a ^A ±2,16	-0,99 a ^B ±0,51
50	4,32 a ^A ±0,78	4,06 a ^A ±1,25	3,94 a ^A ±1,04	-0,78 a ^B ±0,27
100	4,40 a ^{AB} ±0,61	5,05 a ^A ±1,04	2,82 a ^{AB} ±1,66	1,10 a ^B ±1,94
200	3,87 a ^{AB} ±0,21	5,64 a ^A ±0,09	2,56 a ^B ±1,21	-0,06 a ^C ±0,28
	Condutância estomática (Stomatal conductance) (mol H₂O m⁻² s⁻¹)			
0	0,160 a ^A ±0,037	0,147 a ^{AB} ±0,033	0,055 a ^{BC} ±0,058	0,006 a ^C ±0,003
50	0,155 a ^A ±0,035	0,140 a ^A ±0,032	0,110 a ^A ±0,050	0,008 a ^B ±0,001
100	0,232 a ^A ±0,034	0,157 a ^A ±0,040	0,060 a ^B ±0,039	0,029 a ^B ±0,027
200	0,210 a ^A ±0,012	0,132 a ^{AB} ±0,083	0,060 a ^{BC} ±0,057	0,008 a ^C ±0,003
	Transpiração (Transpiration) (mmol H₂O m⁻² s⁻¹)			
0	2,410 b ^{AB} ±0,362	3,225 a ^A ±0,431	1,447 a ^{AB} ±1,37	0,207 a ^B ±0,059
50	2,640 b ^{AB} ±0,400	3,275 a ^A ±0,625	3,045 a ^A ±1,175	0,260 a ^B ±0,040
100	3,470 a ^{AB} ±0,354	3,602 a ^A ±0,673	1,840 a ^{AB} ±1,038	0,927 a ^B ±0,813
200	3,170 ab ^A ±0,151	2,567 a ^A ±1,242	1,492 a ^A ±1,176	0,260 a ^A ±0,107

Médias seguidas de letras minúsculas semelhantes, na coluna, indicam que não há diferença estatística entre tratamentos, avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro; médias seguidas de letras maiúsculas e sobrescritas semelhantes, na alinea, indicam que não há diferença estatística entre os dias de avaliação do mesmo tratamento, avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As médias são oriundas de cinco repetições e os números após as letras indicam o desvio padrão.

As taxas de condutância estomática (g_s) e transpiração (E) em todas as plantas tratadas com ABA, independentemente da concentração, no dia 0 da primeira suspensão da rega, foram menores em relação às plantas do tratamento-controle. No sétimo dia, não houve variação destes parâmetros entre tratamentos, mas no décimo dia observou-se que plantas tratadas com 100 e 200 μM de ABA tinham taxas mais elevadas de g_s e E em relação às demais (Tabela 2). Durante a segunda suspensão da rega, não foi observada variação em g_s em nenhum dos dias avaliados entre plantas dos diferentes tratamentos, embora E tenha sido maior nas plantas tratadas com 100 e 200 μM de ABA, efeito observado apenas no dia 0. Avaliando-se g_s ao longo dos dias observou-se que plantas do tratamento-controle, 100 ou 200 μM de ABA já tinham redução de suas taxas no sétimo dia, enquanto a E somente teve queda significativa no décimo dia, exceção feita às plantas do tratamento 200 μM de ABA, nas quais não foi observado diferença entre dias (Tabela 2).

O ácido abscísico é o hormônio mais conhecido envolvido com o desencadeamento de múltiplos mecanismos de tolerância a diferentes estresses em plantas regulando a expressão de muitos genes que participam do estabelecimento destes mecanismos (CHANDLER; ROBERTSON, 1994; RABBANI *et al.*, 2003). O próprio estresse, em si, desencadeia uma maior biossíntese de ABA pela planta, que por sua vez, atua como indutor da expressão de genes envolvidos com tolerância a estresses (XIONG; ZHU, 2003). Desta forma, é esperado que a primeira suspensão da rega nas plantas de seringueira tenha promovido uma maior síntese natural de ABA por estas, e cujo efeito residual tenha desencadeado maior tolerância das plantas à deficiência hídrica, uma vez que as plantas não tratadas com ABA somente tiveram redução da razão Fv/Fm no último dia da segunda suspensão da rega em relação aos dias anteriores, enquanto que, na primeira suspensão da rega, essa redução já ocorreu a partir do quinto dia. Esta hipótese de que plantas não tratadas com ABA tenham produzido mais ABA durante a primeira suspensão da rega, suportada pela pesquisa de Xiong e Zhu (2003), também ganha sustento quando se percebe que durante a segunda suspensão da rega não ocorreu abscisão foliar das plantas do tratamento-controle e nem daquelas tratadas com 50 μM de ABA, tal qual havia ocorrido durante a primeira suspensão da rega. A evidência que o ABA estava inibindo ou retardando a abscisão foliar já estava presente no fato de que as plantas tratadas com 100 e 200 μM de ABA não tiveram abscisão foliar durante a primeira suspensão da rega. Esse resultado está de acordo com o observado por Gómez-Cadenas *et al.* (2003) em que o ABA promoveu redução da abscisão foliar em plantas de citros sob estresse salino.

Outro resultado marcante nesse trabalho que evidencia maior tolerância das plantas de seringueira à deficiência hídrica durante a segunda suspensão da rega, provavelmente em função da maior síntese natural de ABA durante a primeira suspensão da rega, é o fato que a eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm) das plantas do tratamento-controle durante a segunda suspensão da rega só ter caído bruscamente (0,48) no 11º dia, enquanto que este nível (0,49) foi atingido já no quinto dia durante a primeira suspensão da rega. Percebe-se que, em ambos os períodos de suspensão da rega, as plantas tratadas com aplicação exógena de ABA, em todas as concentrações, não tiveram decréscimo da razão Fv/Fm nesta magnitude até o décimo dia, o que reafirma o efeito do ABA retardando danos ao aparato fotoquímico das plantas. O efeito do ABA protegendo o fotossistema II contra danos causados por deficiência hídrica também foi observado por Beckett, Csintalan e Tuba (2000) em *Atrichum undulatum*. Um fator expressivo que pode ser apontado como causador de dano ao fotossistema II é o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) que se forma durante o estresse. Isto ocorre especialmente devido ao aumento da resistência estomática que dificulta o influxo de CO₂ ao ciclo de Calvin-Benson durante a fotossíntese, dificultando, portanto, a canalização de energia que seria utilizada à síntese de carboidratos, sobrecarregando o sistema com pigmentos superexcitados que podem passar energia para o oxigênio e dar origem às EROs (MCKERSIE; LESHAM, 1994). No entanto, o ABA atua como um elicitador da síntese de vários componentes que atuam na proteção contra as EROs, como o aumento da atividade do ciclo das xantofilas (BECKETT; CSINTALAN; TUBA, 2000) e também da atividade de enzimas antioxidantes que atuam no combate às EROS como a catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase (AGARWAL *et al.*, 2005).

Percebe-se uma relação direta da eficiência quântica potencial do fotossistema II à efetividade carboxílica da fotossíntese quando se analisa a fotossíntese líquida (*A*) no sétimo dia durante a primeira suspensão da rega, em que a diminuição da razão Fv/Fm em plantas do tratamento-controle, em relação aos dias anteriores, resultou em decréscimo na *A* em relação às avaliações anteriores. Este resultado é um indicativo de um dano estrutural, expressado pela reduzida razão Fv/Fm, afetando a capacidade de carboxilação, como discutido por Herppich e Peckmann (1997). Esta proposição é reafirmada ao se observar a alta taxa fotossintética do terceiro dia, mesmo com reduzida condutância estomática (*g_s*) em relação ao dia 0, o que indica, neste caso, que a resistência carboxilativa é preponderante à difusão gasosa estomática. Para todos os tratamentos observou-se alta *A* e reduzida *g_s* no terceiro dia durante a primeira suspensão da rega. O fato de *A* ter sido menor somente nas plantas do tratamento-controle

e aquelas tratadas com 50 μM de ABA, em relação àquelas tratadas com 100 e 200 μM de ABA, no décimo dia, e somente durante a primeira suspensão da rega, reafirma a discussão previamente realizada sobre o efeito do ABA induzindo mecanismos de tolerância estrutural à deficiência hídrica.

Um dos efeitos mais conhecidos do ABA na promoção de tolerância de plantas à deficiência hídrica é sobre a indução do fechamento estomático (MUNEMASA *et al.*, 2015; XIE *et al.*, 2016). Este efeito foi evidente nas plantas do dia 0 na primeira suspensão da rega, em que apenas aquelas do tratamento-controle tiveram maior g_s e E em relação a todas as outras que foram tratadas com ABA. Este efeito não se manteve nas avaliações posteriores provavelmente pela própria suspensão da rega provocar uma maior síntese natural de ABA pelas plantas (XIONG; ZHU, 2003).

O fato que no décimo dia dos dois períodos de suspensão da rega a razão F_v/F_m não ser significativamente diferente daquelas dos dias anteriores, nas plantas tratadas com 100 e 200 μM de ABA e também em plantas de todos os tratamentos durante a segunda suspensão da rega, mas neste dia A ser inferior às primeiras avaliações denota que o decréscimo em g_s foi decisivo na promoção do decréscimo de A , tal qual observado para *Vitis vinifera* (DRY; LOVEYS, 1999).

Com base no conjunto de dados e nas discussões já realizadas é possível inferir que no terceiro dia após a primeira suspensão da rega as taxas de A permanecem altas, mesmo havendo uma redução de g_s , indicando alta eficiência carboxilativa, mas o decréscimo de A especialmente no décimo dia indica limitação de A por baixa taxa de g_s , já que no décimo dia g_s se manteve indiferente ao terceiro dia em todas as plantas tratadas com ABA.

Uma vez que ocorreu rápido decréscimo da razão F_v/F_m apenas das plantas do tratamento-controle, ao longo dos dias da primeira suspensão da rega, infere-se que a aplicação exógena de ABA estimulou a expressão de genes relacionados à tolerância à deficiência hídrica. De acordo com Rabbani *et al.* (2003) dos genes cuja expressão é induzida por ABA 100% são induzidos por deficiência hídrica, o que por sua vez evidencia que o tratamento com ABA em seringueira pode promover maior tolerância à condição de deficiência hídrica, assim como a própria deficiência hídrica pode promover maior tolerância da planta a estresses posteriores, uma vez que a redução na razão F_v/F_m das plantas do tratamento-controle durante a segunda suspensão da rega só ocorreu, no mesmo patamar (abaixo de 0,60), seis dias depois em relação à primeira suspensão da rega, evidenciando, portanto, um prolongamento da integridade estrutural do fotossistema II promovido por fatores desencadeados durante a primeira suspensão da rega.

A não variação da razão F_v/F_m entre plantas dos diferentes tratamentos no segundo período de suspensão da rega a partir do 11º dia provavelmente tenha sido influenciada pelo aumento do coeficiente de variação com o avançar dos dias de suspensão da rega, uma vez que se notou que as plantas tratadas com 100 e 200 μM de ABA detinham valores da razão F_v/F_m até 40% maiores em relação às plantas dos tratamentos-controle e de 50 μM de ABA, o que é um indicativo de que as concentrações de 100 e 200 μM de ABA favoreceram tolerância à deficiência hídrica para além da tolerância adquirida somente em função da submissão ao primeiro estresse.

Conclusão

O tratamento de seringueira com aplicação exógena foliar de ABA induz maior tolerância de plantas à deficiência hídrica.

De acordo com os dados de eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m), há efeito residual da aplicação exógena foliar de ABA quanto à tolerância à deficiência hídrica mesmo após a abscisão natural das folhas.

Mesmo que não haja aplicação exógena de ABA, a submissão das plantas de seringueira, nas condições testadas, a um período de suspensão da rega pode desencadear mecanismos de tolerância à deficiência hídrica a estresse posterior.

Referências

- AGARWAL, S. *et al.* Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. **Plant Science**, Limerick, v. 169, p. 559-570, 2005.
- ALVES, F. R. R. *et al.* Physiological and biochemical responses of photomorphogenic tomato mutants (cv. micro-tom) under water withholding. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S.l.], v. 38, p. 155-168, 2016.
- AROCA, R. *et al.* Plant responses to drought stress and exogenous ABA application are modulated differently by mycorrhization in tomato and an ABA-deficient mutant (sitiens). **Microbial Ecology**, New York, v. 56, n. 4, p. 704-719, 2008.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BECKETT, R. P.; CSINTALAN, Z.; TUBA, Z. ABA treatment increases both the desiccation tolerance of photosynthesis, and nonphotochemical quenching in the moss *Atrichum undulatum*. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 151, p. 65-71, 2000.
- CHANDLER, P. M., ROBERTSON, M. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, [S.l.], v. 45, p. 113-141, 1994.
- DRY, P. R.; LOVEYS, B. R. Grapevine shoot growth and stomatal conductance are reduced when part of the root system is dried. **Vitis**, Siebeldingen, v. 38, n.4, p. 151-156, 1999.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 990, p. 87-92, 1989.
- GÓMEZ-CADENAS, A. *et al.* Abscisic acid reduces leaf abscission and increases salt tolerance in citrus plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 21, p. 234-240, 2003.
- HERPPICH, W. B.; PECKMANN, K. Responses of gas exchange, photosynthesis, nocturnal acid accumulation and water relations of *Aptenia cordifolia* to short-term drought and rewatering. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 150, p. 467-474, 1997.
- IGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, [S.l.], v. 47, p. 377-403, 1996.
- MCKERSIE, B. D.; LESHEM, Y. Y. **Stress and stress coping in cultivated plants**. Dordrecht: Academic Publishers, 1994. 256 p.
- MISHRA, K. B. *et al.* Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. **Plant Science**, Limerick, v. 182, p. 79-86, 2012.
- MUNEMASA, S. *et al.* Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture. **Current Opinion in Plant Biology**, [S.l.], v. 28, p. 154-162, 2015.
- RABBANI, M. A. *et al.* Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cdna microarray and rna gel-blot analyses. **Plant Physiology**, Washington, v. 133 p. 1755-1767, 2003.
- RAHBARIAN, R. *et al.* Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, Krakow, v. 53, n. 1, p. 47-56, 2011.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Molecular responses to drought stress. In: SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. (Ed.). **Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants**. Austin: Landes Company, 1999. 170 p.

TRAVAGLIA, C. *et al.* Exogenous ABA increases yield in field-grown wheat with moderate water restriction. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 29, p. 366-374, 2010.

XIE, Y. *et al.* *Arabidopsis* hyl1-modulated stomatal movement: an integrative hub is functionally associated with ABI4 in dehydration-induced ABA responsiveness. **Plant Physiology**, Washington, v. 170, p. 1699-1713, 2016.

XIONG, L.; ZHU, J. K. Regulation of abscisic acid biosynthesis. **Plant Physiology**, Washington, v. 133, p. 29-36, 2003.

ZEEVAART, J. A. D.; CREELMAN, R. A. Metabolism and physiology of abscisic acid. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, [S.l.], v. 39, p. 439-473, 1988.