

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

MARIA EUNICE LIMA ROCHA

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM MUDAS *DE Eucalyptus*
urograndis E *Hymenaea courbaril* L. APÓS A RUSTIFICAÇÃO**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ
2022**

MARIA EUNICE LIMA ROCHA

RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM MUDAS *DE Eucalyptus urograndis* E *Hymenaea courbaril* L. APÓS A RUSTIFICAÇÃO

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Dr. Ubirajara Contro Malavasi
Coorientador (a): Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Dra. Marlene de Matos Malavasi

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ
2022**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Rocha, Maria Eunice Lima

Respostas morfofisiológicas e bioquímicas em mudas de Eucalyptus urograndis e Hymenaea courbaril L. após a rustificação. / Maria Eunice Lima Rocha; orientador Ubirajara Contro Malavasi; coorientador Cândido Ferreira de Oliveira Neto. -- Marechal Cândido Rondon, 2022.

164 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.

1. Rustificação. 2. Metil Jasmonato. 3. Flexões caulinares. 4. Ajustadores osmóticos. I. Malavasi, Ubirajara Contro, orient. II. Oliveira Neto, Cândido Ferreira de, coorient. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



MARIA EUNICE LIMA ROCHA

Respostas morfofisiológicas e bioquímicas em mudas de *Eucalyptus urograndis* e
Hymenaea courbaril após rustificação

Tese apresentada à distância, de forma síncrona e por videoconferência, conforme Resolução nº 052/2020 – CEPE, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Manejo de Culturas, APROVADA pela seguinte banca examinadora:


Orientador - Ubirajara Contro Malavasi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Élcio Silvério Klosowski

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Fabíola Villa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

José Marcio Rocha Faria

Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Robério Anastácio Ferreira

Universidade Federal de Sergipe (UFS)


Neumário Vilanova da Costa
Coordenador Especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Marechal Cândido Rondon, 26 de janeiro de 2022

À todas as mulheres que foram e continuam sendo torturadas, mortas, agredidas fisicamente e psicologicamente. As mulheres que foram desacreditadas apenas pelo fato de serem mulheres. Que tenhamos força em meio a fragilidade. Que sejamos super-heroínas reais e que possamos superar cada obstáculo e provação, acreditando que o choro pode durar uma noite, mas a alegria vem pela manhã. Em especial, a mulher mais incrível e batalhadora que eu conheço, minha mãe, a única que esteve todos os dias comigo, independente de tudo. Obrigada por cortar suas asas para que eu pudesse voar. Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao pai, filho e Espírito Santo por me guiarem quando estive em caminhos escuros e tortuosos. À Nossa Senhora pelo amparo nos dias difíceis, mesmo eu sendo falha e não merecedora.

A pessoa mais importante da minha vida, minha mãe, minha fortaleza e inspiração. Te amo todos os segundos da minha existência. Você sempre me ensinou que voar era a melhor opção, muito obrigada por cortar suas asas para que eu pudesse alçar voos altos e ilimitados.

Aos meus familiares, pelo amor e cuidado cotidiano e quando falo de família não me refiro apenas aqueles cuja consanguinidade nos aproximaram, mas aqueles que estão comigo independente dos traços genéticos. Pai (apesar das nossas divergências, o senhor trabalhou anos de sua vida, sob chuva e sol para nos dar o melhor, eu entendo que o senhor fez tudo o que estava ao seu alcance. Obrigada por isso), irmãos, Padrinho e Madrinha (vocês cuidaram de mim por tanto tempo, obrigada por tanto), tios e tias (Em especial as Tias Boneca, Marlene, Raimudinha, Deusa, Marleide) primos e primas (Wilker, Júlia Carolina, Lucélia, Sandra, Elizângela, Samara, Eliandra, Kilma, Thyago e todos aqueles que não citei, mas estão no meu coração), Barbosa's (em especial a minha amiga e irmã Lud luz própria, minha Aninha e minha mãezinha do coração, Marilda, eu amo vocês e a todos os outros membros dessa família incrível. Vocês estarão para sempre comigo) e Vanzetto's vocês foram e continuam sendo importantes e essenciais na minha vida.

Um agradecimento e lembrança especial a minhas avós, que foram e continuam sendo minha inspiração e o amor mais puro. Vovó Maria (in memoriam), Severina (in memoriam) e Eunice. Eu amo vocês.

Aos parceiros da vida e da jornada acadêmica, que me acolheram e/ou auxiliaram nesses anos laboriosos, com conselhos, conversas profundas nos bares ou em minhas atividades, vocês foram essenciais para a conclusão dessa pesquisa. A citar, Junior Milomes, Marlon Ávila, Fernanda Ludmyla, Ana Carolina, Soraia Fortado, Andressa Natacha, Isabella, Milena Medeiros, Israel, Jaqueline Barbosa, Nóelle Cordeiro, Edvan, Tauane, Olivia, Gui, Guilherme, Sidney, Rubens, Giron, Su, Gerle, vocês têm minha admiração e gratidão. E a todos os outros que contribuíram com a execução desse projeto, minha gratidão.

Ao meu contador de piadas favoritos, amigo, confidente e companheiro, o amor que a vida me trouxe. Eduardo Vanzetto, você é gentil e doce e me faz viver fora da orbita. As palavras são insignificantes para expressar minha gratidão pelos momentos vividos e por toda ajuda braçal durante a elaboração da minha tese. Além disso, obrigada pela sogra maravilhosa

que me deu de presente, Luciana Vanzetto. Você tem sido um grande alento ao meu coração com todo seu amor e carinho. Amo vocês.

Um agradecimento atípico e especial aos meus pets, os gatinhos que me salvaram de muita angustia, tristeza e da ansiedade eminente. Ao pequeno Flok, que com suas mordidas e cheirinhos no nariz me fez contemplar a beleza da simplicidade e a felicidade de cuidar de um ser vivo. Além disso, obrigada por tentar ajudar a escrever minha tese, mesmo que em letras aleatórias, desconexas e com patinhas no teclado. Ao pequeno Igie, que chegou recentemente, mas que me deu mais amor do que a maioria dos humanos que me rodeiam.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi, o qual tenho grande admiração e respeito, por todo apoio e conhecimento repassado, serei eternamente grata. Sempre estarei a disposição para ajudá-lo como puder. Aos meus coorientadores Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Prof. Dra. Marlene de Matos Malavasi pelo apoio durante a condução da pesquisa e por todas as contribuições nesse projeto.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) e seu corpo docente por todo conhecimento repassado e experiência adquirida durante esses longos anos. Em especial aos professores José Renato, Élcio, Vandeir, Neurmácio, Gilberto, Cláudio, Edmar e Fabíola que me apoiaram sempre que necessário, no uso dos laboratórios, equipamentos ou mesmo em ajudas mais singelas. Aos técnicos de laboratório e campo Neusa, Daniel, Marcelo e Flávio pelas vezes que precisei de ajuda e fui atendida. Um agradecimento especial a Leila, que sempre esteve disponível para nos salvar dos problemas cotidianos acadêmicos. Você foi o meu anjo da guarda durante esses 6 anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Um obrigada especial também as pessoas que não acreditaram em mim e nem nos meus sonhos, desistir seria a opção mais fácil, mas eu nunca gostei de opções óbvias e por isso consegui chegar aqui. Que minha alegria sirva de inspiração para as pessoas que são desacreditadas e subestimadas. Vocês podem tudo, vocês podem dominar o mundo. Eu dominei o meu mundo!

Por fim, mas não menos importante, eu gostaria de agradecer e dedicar este trabalho a mim, que trabalhei incansavelmente e ininterruptamente durante 4 longos e exaustivos anos. Tenho certeza que meus esforços serão recompensados.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta, para a realização e conclusão da minha tese, sou grata!

“Nós, mulheres, poderosas e sagradas, declaramos nesta noite santificada que nossos corpos divinos pertencem a nós mesmas. Escolheremos a quem amar e em quem confiar. Caminharemos nesta Terra com graça e respeito. Sempre teremos orgulho do nosso grande intelecto. Honraremos nossas emoções para que nossos espíritos triunfem. E se algum homem nos desmerecer, mostraremos onde fica a porta. Indestrutível é a nossa força. E livre é a nossa imaginação.”

Anne With an E

“Não existe limite para o que nós, como mulheres, podemos realizar.”

Michelle Obama

“Eu não sou livre enquanto alguma mulher não o for, mesmo quando as correntes dela forem muito diferentes das minhas.”

Audre Lorde

“Foi o tempo que dedicastes à tua rosa que fez tua rosa tão importante.”

Antoine de Saint-Exupéry

“Welcome to the real world. It sucks. You’re gonna love it.”

Monica Geller- Friends

RESUMO

ROCHA, M. E. L, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, janeiro de 2022. **Respostas morfofisiológicas e bioquímicas em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L. após a rustificação.** Orientador: Dr. Ubirajara Contro Malavasi. Coorientadores: Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Dra. Marlene de Matos Malavasi.

Na fase de produção de mudas, a rustificação pode ser implementada com a finalidade de melhorar a qualidade das mudas, a fim de aumentar a tolerância a condições externas após o plantio. A rustificação de mudas de eucalipto e jatobá pode alterar as características morfofisiológicas, como estratégia de defesa ao estresse controlado ocasionado por essas práticas, assim como, atenuar às condições de estresse, principalmente o hídrico. Assim, baseado no exposto, o objetivo da pesquisa foi quantificar as alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas a partir da rustificação química e mecânica em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* em função dos estádios de crescimento. Os experimentos foram realizados em ambiente protegido, pertencente à Unioeste, Campus Marechal Cândido Rondon (PR). No primeiro experimento, a finalidade foi a quantificação do crescimento do híbrido e da espécie, assim como a determinação dos estádios com o objetivo de empregar as os tratamentos rustificativos. O delineamento utilizado, foi o inteiramente casualizado, composto de 16 e 12 avaliações para o eucalipto e jatobá. As determinações constaram de quantificações morfométricas e taxas de crescimento. Os estádios foram escolhidos baseados no crescimento das acelerado, intermediário e lento, a citar, 70, 100 e 130 dias no caso do eucalipto e 50, 80 e 110 dias em mudas de jatobá. Ademais, no segundo e terceiro experimento, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto de três tratamentos (controle, metil jasmonato e flexões caulinares) com sete repetições de 30 mudas cada no eucalipto, enquanto que, no jatobá utilizou-se sete repetições de 16 mudas cada. As análises consistiram nos parâmetros morfométricos e fisiológicos, assim como a sobrevivência de mudas a campo. Na fase de campo, em mudas jatobá não houve diferença entre os tratamentos e estádios de crescimento ao se avaliar a sobrevivência. Finalmente, no último capítulo, as mudas rustificadas foram submetidas ao déficit hídrico a fim de quantificar os ajustadores osmóticos presentes nas células e tecidos, tal como a temperatura foliar nas duas espécies em função dos estádios de crescimento. O conteúdo de solutos foi alterado em função da condição estressante em mudas de eucalipto e jatobá e à medida que o conteúdo de água reduziu, o teor de aminoácido, prolina e glicina foram incrementados.

Palavras-chave: Metil jasmonato. Produção de mudas. Rigidez flexural. Tigmomorfogênese.

ABSTRACT

ROCHA, M. E. L, State University of Western Paraná, in January 2022. **Morphophysiological and biochemical responses in *Eucalyptus urograndis* and *Hymenaea courbaril* L. seedlings after hardening.** Advisor: Dr. Ubirajara Contro Malavasi. Co-Advisors: Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto and Dra. Marlene de Matos Malavasi.

In the seedling production phase, hardening can be implemented in order to improve seedling quality and to increase tolerance to external conditions after planting. The hardening of eucalyptus and jatoba seedlings can change the morphophysiological characteristics, as a defense strategy against the controlled stress caused by these practices, as well as attenuating the stress conditions, especially the water stress. Thus, based on the above, the objective of the research was to quantify the morphological, physiological and biochemical changes from chemical and mechanical hardening in *Eucalyptus urograndis* and *Hymenaea courbaril* seedlings as a function of growth stages. The experiments were carried out in a protected environment, belonging to Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon (PR). In the first experiment, the purpose was to quantify the growth of the hybrid and the species, as well as the determination of the stages in order to employ the hardening treatments. The design used was completely randomized, composed of 16 and 12 evaluations for eucalyptus and jatobá, respectively. The determinations consisted of morphometric quantifications and growth rates. The stages were chosen based on the accelerated, intermediate and slow growth, including, 70, 100 and 130 days in the case of eucalyptus and 50, 80 and 110 days in jatoba seedlings. Furthermore, in the second and third experiments, the experimental design used was completely randomized, consisting of three treatments (control, methyl jasmonate and stem bending) with seven replications of 30 seedlings each in eucalyptus, while in jatoba seven replications were used of 16 seedlings each. The analyzes consisted of the morphometric and physiological parameters, as well as the survival of seedlings in the field. In the field phase, in jatoba seedlings there was no difference between treatments and growth stages when evaluating survival. Finally, in the last chapter, the hardened seedlings were submitted to water deficit in order to quantify the osmotic adjusters present in the cells and tissues, such as the leaf temperature in the two species as a function of the growth stages. The solute content was altered as a function of the stressful condition in eucalyptus and jatoba seedlings and as the water content decreased, the amino acid, proline and glycine content increased.

Keywords: Methyl jasmonate. Seedling production. Stem flexibility. Thigmomorphogenesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- Figura 1- Crescimento médio em altura (A), diâmetro do coleto (B) e índice de esbeltez (C) em mudas em *Eucalyptus urograndis* 17
- Figura 2- Massa seca da parte aérea (A), massa seca da raiz (B) e índice de qualidade de Dickson (C) em mudas de *Eucalyptus urograndis* 19
- Figura 3- Área foliar (A) e índice SPAD (B) em mudas de *Eucalyptus urograndis* 20
- Figura 4- Razão da área foliar (A), taxa de crescimento absoluto (B), taxa de crescimento relativo (C) e taxa assimilatória líquida (D) em mudas de *Eucalyptus urograndis* 22
- Figura 5- Crescimento médio em altura (A), diâmetro do coleto (B) e índice de esbeltez (C) das mudas de *Hymenaea courbaril* 23
- Figura 6- Massa seca da parte aérea (A), massa seca da raiz (B) e índice de qualidade de Dickson (C) em mudas de *Hymenaea courbaril* 25
- Figura 7- Área foliar (A), índice SPAD (B) e razão de área foliar (C) em mudas de *Hymenaea courbaril* 27
- Figura 8- Taxa de crescimento absoluto (A), taxa de crescimento relativo (B) e taxa assimilatória líquida (C) em mudas de *Hymenaea courbaril* 28

CAPÍTULO II

- Figura 1- Incremento em altura em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e nos estádios de crescimento II (A) e III (B) 44
- Figura 2- Incremento em diâmetro em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A), II (B) e III (C) 46
- Figura 3- Índice de esbeltez (IE) em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e no estádio de crescimento I (A) e II (B) 47
- Figura 4- Área foliar (AF) em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e no estádio de crescimento III 48
- Figura 5- Incremento em altura em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e nos estádios I (A), II (B) e III (C) 50
- Figura 6- Incremento em diâmetro em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e nos estádios I (A), II (B) e III (C) 52
- Figura 7- Área foliar (AF) em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e nos estádios I (A), II (B) e III (C) 54

Figura 8- Massa seca aérea (MSPA) em mudas do estágio II de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos 55

Figura 9- Massa seca da raiz (MSR) em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e dos estádios II (A) e III (B) 56

CAPÍTULO III

Figura 1- Equipamento adaptado para a quantificação da rigidez flexural em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* 70

Figura 2- Teor de lignina em caules de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A), II (B) e III (C) 75

Figura 3- Teor de lignina em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento II (A) e III (B) 76

Figura 4- Concentração de compostos fenólicos em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estágio de crescimento II 77

Figura 5- Perda de eletrólitos (PE) em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e III (B) 79

Figura 6- Concentração de compostos fenólicos em folhas de mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A), II (B) e III (C) 82

Figura 7- Concentração de compostos fenólicos em raízes de mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e III (B) 83

Figura 8- Perda de eletrólitos (PE) em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e II (B) 84

Figura 9- Concentração de clorofila *a* em mudas de *Hymenaea courbaril* no estágio I em função dos métodos rustificativos 86

Figura 10- Concentração de clorofila *b* em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e III (B) 87

APÊNDICE A- Metodologias detalhadas capítulo III e IV

Figura 1- Curva padrão na determinação de compostos fenólicos em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* 139

APÊNDICE B- Variáveis climáticas obtidas em ambiente protegido e a campo

Figura 1- Temperatura do ar obtida em ambiente protegido durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* nos anos de 2018 a 2021 145

Figura 2- Umidade relativa do ar obtida em ambiente protegido durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* nos anos de 2018 a 2021 145

Figura 3- Temperatura do ar obtida a campo durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* durante o ano de 2021 146

Figura 4- Umidade relativa do ar obtida a campo durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* durante o ano de 2021 146

Figura 5- Precipitação mensal obtida a campo durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* entre os meses de fevereiro a outubro no ano de 2021 147

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1- Correlação entre Massa seca da parte aérea e diâmetro em mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> e <i>Hymenaea courbaril</i> com índice de qualidade de Dickson (IQD)	29
---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1- Médias das avaliações morfométricas em mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i>	43
Tabela 2- Médias das avaliações morfométricas iniciais e finais em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i>	43

CAPÍTULO III

Tabela 1- Rigidez flexural em caules de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento	74
--	----

CAPÍTULO IV

Tabela 1- Análise química do solo utilizado em vasos na quantificação de déficit hídrico em mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> e <i>Hymenaea courbaril</i>	102
Tabela 2- Temperatura foliar medida em três períodos (08:00, 12:00 e 18:00 hs) em mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas a suspensão hídrico por 4, 8 e 12 dias após a rustificação e em função dos estádios de crescimento	105
Tabela 3- Conteúdo relativo de água (CRA) em mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	106
Tabela 4- Concentração de aminoácidos em folhas de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	107
Tabela 5- Concentração de aminoácidos em raízes de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	109
Tabela 6- Concentração de proteínas em folhas de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	110
Tabela 7- Concentração de proteínas em raízes de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	111
Tabela 8- Concentração de prolina em folhas de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	112
Tabela 9- Concentração de prolina em raízes de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	113

Tabela 10- Concentração de glicina-betaína em folhas de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	114
Tabela 11- Concentração de glicina-betaína em raízes de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	114
Tabela 12- Temperatura foliar medida em três períodos (08:00, 12:00 e 18:00 hs) em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a suspensão hídrico por 5, 10 e 15 dias após a rustificação e em função dos estádios de crescimento	116
Tabela 13- Conteúdo relativo de água (CRA) em mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	117
Tabela 14- Concentração de aminoácidos em folhas de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	118
Tabela 15- Concentração de aminoácidos em raízes de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	119
Tabela 16- Concentração de proteínas em folhas de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	120
Tabela 17- Concentração de proteínas em raízes de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	121
Tabela 18- Concentração de prolina em folhas de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	122
Tabela 19- Concentração de glicina-betaína em folhas de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	123
Tabela 20- Concentração de glicina-betaína em raízes de mudas de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento	124

APÊNDICE A- Metodologias detalhadas capítulo III e IV

Tabela 1- Descrição da solução 1 de reação na determinação de aminoácidos solúveis totais. A tabela descreve os volumes de uma amostra com volume total de 200 µL	142
Tabela 2- Descrição da solução 2 de reação na determinação de aminoácidos. A tabela descreve os volumes de uma amostra com volume total de 250 µL	142
Tabela 3- Descrição da mistura de reação na determinação de prolina. A tabela descreve os volumes de uma amostra com volume total de 500 µL	143

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO I: DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM MUDAS DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>Eucalyptus urophylla</i> E <i>Hymenaea courbaril</i> L. PROPAGADAS EM TUBETES.....	10
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
<i>Eucalyptus urograndis</i>	16
CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
CAPÍTULO II: MODIFICAÇÕES MORFOLÓFICAS EM MUDAS DE EUCALIPTO E JATOBÁ APÓS A RUSTIFICAÇÃO QUÍMICA E MECÂNICA EM FUNÇÃO DOS ESTÁDIOS DE CRESCIMENTO	35
RESUMO.....	35
ABSTRACT.....	36
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
CAPÍTULO III: ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS INDUZIDAS PELA RUSTIFICAÇÃO EM MUDAS DE <i>Eucalyptus urograndis</i> E <i>Hymenaea courbaril</i> L. EM FUNÇÃO DOS ESTÁDIOS DE CRESCIMENTO	63
RESUMO.....	63
ABSTRACT.....	64
INTRODUÇÃO	65
MATERIAL E MÉTODOS	67
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
CAPÍTULO IV: QUANTIFICAÇÃO DE AJUSTADORES OSMÓTICOS EM MUDAS DE JATOBÁ E EUCALIPTO SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO APÓS A RUSTIFICAÇÃO	95

RESUMO.....	95
ABSTRACT.....	96
INTRODUÇÃO.....	97
MATERIAL E MÉTODOS	99
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
CONCLUSÕES	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
CONSIDERAÇÕES FINAIS	135
APÊNDICE A- Metodologias detalhadas capítulo III e IV	138
APÊNDICE B- Variáveis climáticas obtidas em ambiente protegido e a campo	145

INTRODUÇÃO GERAL

Na fase de viveiro, práticas rustificativas podem ser implementadas com a finalidade de melhorar a qualidade das mudas aumentando a tolerância a condições abióticas estressantes no pós plantio. O processo de rustificação ou aclimação consiste na fase de transição de um ambiente com características adequadas para o desenvolvimento vegetal a outro sem controle ou estressante. Diversas técnicas podem ser realizadas no manejo das mudas em ambiente protegido, entre as quais a redução dos turnos de rega e lâminas de água, a redução da adubação, assim como do regime luminoso.

Entretanto, métodos alternativos também podem ser usados com a mesma finalidade, como é o caso da aplicação de reguladores vegetais de crescimento (ácido salicílico, jasmonatos, brassinoesteróides e outros) e flexões caulinares. Essas flexões, simulam perturbações mecânicas impostas por animais, tratores, implementos agrícolas e qualquer outra interferência humana que acarretaria em danos físicos às mudas. Ao processo de rustificação mecânica dá-se o nome de tigmomorfogênese (ORO et al., 2012; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI; MALAVASI; MALAVASI, 2015; LIMA et al., 2018; CADORIN et al., 2021).

Entretanto, a idade de expedição das mudas é uma das grandes questões não respondidas no setor de produção de mudas florestais, visto que, na maioria das vezes é baseada em conhecimentos empíricos e suposições ou até mesmo adaptação de outras espécies. A propósito, a maioria dessas recomendações é baseada apenas em características morfométricas, o que pode subestimar as reais respostas das plantas às condições estressantes (COSTA; STRECK, 2018; GONZAGA et al., 2018; ATAÍDE et al., 2019).

Dessa maneira, a recomendação da melhor época de expedição de mudas pode ser baseada em padrões e tendências observadas em cada espécie, assim como modificações fisiológicas ou até mesmo bioquímicas, minimizando o risco de perdas e gastos desnecessários e maximizando a sobrevivência e rápido estabelecimento das mudas a campo.

Os vegetais apresentam em sua constituição substâncias orgânicas e inorgânicas com inúmeras funções regulatórias. Como tal, pode-se exemplificar os hormônios vegetais, produzidos naturalmente e com funções diversas, desde a promoção de crescimento e desenvolvimento, inibição de atividades primárias e secundárias, até a modificação das atividades essenciais. Com função similar existem os reguladores vegetais que podem ser produzidos sinteticamente ou naturalmente. Quando produzidos endogenamente aqueles são exigidos em maiores concentrações (FAGAN et al., 2015).

O ácido jasmônico (AJ) foi identificado primeiramente como óleo essencial em plantas de *Jasminum grandiflorum* L. (Jasmim) e *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim) na década de 60 e por apresentarem um aroma agradável é muito utilizado na indústria de perfumes (SOARES; MACHADO, 2007; WALIA et al., 2007; QIU et al., 2014).

Este composto, além de atuar na regulação das atividades metabólicas, pode realizar a sinalização contra estresses bióticos e abióticos. O processo é desencadeado, após o regulador enviar a mensagem e desencadear o processo de transdução de sinais. As respostas obtidas irão variar de acordo com as características da espécie e relação entre os hormônios vegetais, podendo ser de sinergismo ou antagonismo (DEUNER et al., 2015; PEREIRA-NETO, 2019).

Outro método rustificativo que pode ser implementado nas práticas de viveiro é a tigmomorfogênese com a imposição de flexões caulinares ou estímulos mecânicos sobre a parte aérea das plantas, com o objetivo de desencadear uma série de respostas morfológicas ou fisiológicas como conceituado por Jaffe (1973). A grande questão é que as espécies, em geral, tem externado redução no crescimento primário e aumento em diâmetro mediante tal estímulo (KERN et al., 2005; MOREL et al., 2012; VOLKWEIS et al., 2014).

A sinalização mediante o estresse mecânico pode ser mediado por hormônios vegetais, a citar ácido jasmônico, mensageiros secundários como o Ca^{2+} , óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio tais como aqueles derivados de moléculas lipídicas (CHEHAB; EICH; BRAAM, 2009). A tigmomorfogênese é uma resposta adaptativa que melhora a tolerância aos estresses mecânicos, assim como aos outros que estas plantas podem ser submetidas (TELEWSKI; JAFFE, 1986).

Outro fator que pode ser um diferencial no desenvolvimento vegetal é o estresse resultante do déficit hídrico. O déficit hídrico tem sido o principal entrave na produção agrícola, principalmente nas culturas perenes, pois estas estão mais constantemente suscetíveis as variações do meio ambiente (PIMENTA, 2019).

À falta de água é resultado da menor absorção desse solúvel em relação a transpiração, assim, à planta, que está com os estômatos abertos para realizar a captura de CO_2 e dar continuidade ao processo de formação de fotossintatos, também perde água e por isso o fluxo deve ser contínuo e a favor de um gradiente positivo. Mediante o estresse por falta de água, essa continuidade será quebrada e o processo de transporte hídrico interrompido ou mesmo cessado (BERGONCI, 2017).

Mediante o déficit hídrico, as plantas podem utilizar medidas imediatas ou prolongadas. A curto prazo, a primeira estratégia é o fechamento estomático, que contribui com redução da

transpiração, assim como a taxa fotossintética, a resposta visual é a murcha das folhas, com o objetivo de diminuir a área evapotranspiratória.

Dessa forma, o ajustamento osmótico também pode ser usado como uma alternativa rápida ao déficit hídrico, mediante a síntese de solutos compatíveis (prolina, glicina, sacarose, carboidratos e outros) haverá maior conservação de água e absorção da mesma a favor de um gradiente de concentração. A longo prazo as medidas são mais efetivas e drásticas, visto que, a intensidade do estresse está aumentando, logo, haverá redução do crescimento, desenvolvimento e consequentemente produtividade (ZHOU; LAMBRIDES; FUKAI, 2013; LAUTERI et al., 2014; DARDEAU et al., 2015).

Os resultados obtidos nos últimos anos mostram que os AS e AJ podem ser compostos promissores na redução da sensibilidade dos cultivos aos estresses abióticos, visto que em determinadas condições atenuam os efeitos adversos produzidos por distintos fatores ambientais estressantes, como o déficit hídrico. A aplicação exógena dos jasmonatos nas plantas produz efeitos como o fechamento dos estômatos em condições de estresse e aumenta a resistência das plantas a infecções por patógenos (SANCHEZ, 2008; PEREIRA-NETTO, 2019).

Devido as características edáficas e climáticas do Brasil, há muita vantagem na produção de mudas de espécies do gênero *Eucalyptus*, visto que a maioria das espécies apresentam alta produtividade, maior homogeneidade, crescimento rápido, assim como uso diverso dentro do setor florestal. Ademais, a madeira é muito apreciada, tanto no mercado interno quanto externo, além das diversas possibilidades de uso, a citar, celulose, carvão, lenha, painéis, postes, dormentes, mourões, serrados, móveis, embalagens e outros (CARVALHO, 2003; BRAZ et al., 2014).

O eucalipto pertence à ordem das Mirtales, família das Mirtáceas e gênero *Eucalyptus* e apresentam grande número de espécies, mais especificamente existem cerca de 730 espécies reconhecidas botanicamente, mas, aproximadamente, vinte espécies são comercialmente utilizadas pelo mundo (BACKES; IRGANG, 2004).

No ano de 2019, a área total de árvores plantadas no Brasil foi de 9 milhões de hectares, sendo que, desse volume, 77% foram representados pelo gênero *Eucalyptus*, especificamente, 6,97 milhões de hectares. No Estado do Paraná, no mesmo ano descrito acima foram plantadas um total de 0,27 milhões de hectares de eucalipto (IBÁ, 2020).

O *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, ou como é mais conhecido, *Eucalyptus urograndis*, objeto de estudo do trabalho em questão é um híbrido que apresenta as seguintes características: ótimo crescimento em altura herdado da primeira espécie e crescimento em

diâmetro expressivo advindo do *Eucalyptus urophylla*, além disso, este último contribui com a ótima qualidade de madeira, assim como a maior tolerância ao estresse hídrico (LONGUE JÚNIOR; COLODETTE, 2013).

Hymenaea courbaril Linnaeus var. *stilbocarpa* (Hayne) também conhecida como jatobá do sertão, jatobá e jutaí apresenta porte arbóreo e vasta distribuição no país, desde o Sul até o Nordeste brasileiro, sendo classificada como leguminosa arbórea, tropical e perenifólia. Os indivíduos pertencentes a este grupo podem ser encontrados desde a Mata Atlântica, Amazônica, Restinga, Pantanal até o Cerrado, além de serem encontradas em ambientes com restrição hídrica, como é o caso do bioma Caatinga (COSTA, SOUZA; SOUZA, 2011). Além disso, a espécie pertence à classe Magnoliopsida, ordem Fabales e família Fabaceae (CARVALHO, 2003).

O jatobá é uma espécie secundária tardia ou clímax exigente de luz na fase adulta (DURIGAN; NOGUEIRA, 1990) e quanto a região fitoecológica, estas espécies podem ser encontradas em Floresta Estacional Semidecidual, onde é caracterizada como árvore dominante (CARVALHO; OLIVEIRA-FILHO; VILELA, 1996), floresta Ombrófila Densa, na Floresta Estacional Decidual ou Submontana, no Cerradão e em algumas composições florestais localizadas no Nordeste (CARVALHO, 2003).

Em *Hymenaea courbaril*, as sementes apresentam o fenômeno de dormência tegumentar, que impede a entrada e saída de água e gases, e consequentemente a não embebição, evitando o início do processo de germinação e baixa oxigenação do embrião (ALMEIDA et al., 2011). O acima descrito se torna um grande problema, pois culmina em desuniformidade na produção de mudas, além de retardar a formação de plantas jovens e alterar a rotatividade no viveiro florestal (CARVALHO, 2003).

A aplicação dos tratamentos químico e mecânico irão afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Entretanto, essa modificação é interessante ao passo que, dependendo da intensidade de aplicação e período que os tratamentos serão impostos, estes poderão promover o aumento na tolerância das mudas a campo resultando em mudas mais fortes e preparadas para o choque pós-plantio.

Nesse caso é imprescindível determinar qual tipo de estresse controlado deve ser imposto, de acordo com a espécie e ambiente a fim de evitar que o tratamento rustificativo cause ou intensifique a condição estressante, afinal, o intuito da imposição dessas práticas é aumentar a tolerância dos vegetais e não o contrário.

Assim, baseado no exposto, o objetivo da pesquisa foi quantificar as alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas a partir da rustificação química e mecânica em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* em função dos estádios de crescimento.

O trabalho atual foi dividido em capítulos que irão descrever, mais detalhadamente às modificações provenientes dos tratamentos rustificativos. O capítulo I descreve a determinação dos estádios de crescimento para a posterior submissão ao tratamento rustificativo. O capítulo II aborda o tratamento de rustificação e as alterações morfológicas resultantes. O capítulo III interpreta as análises fisiológicas resultantes da rustificação, assim como a sobrevivência de mudas expedidas a campo. E finalmente, o capítulo IV descreve as alterações bioquímicas resultantes da rustificação química e mecânica nas mudas das duas espécies descritas anteriormente após serem submetidas ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. B.; SOUZA, W. C. O.; GOMES, E. C. S.; VILLAR, F. C. R. Descrição morfológica do fruto e semente do Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). **Revista Semiárido De Visu**, Petrolina, PE, v. 1, p. 107-115, dez. 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/277172362_Descricao_morfologica_do_fruto_e_semente_do_jatoba_Hymenaea_courbaril_L>. Acesso em: 25 de jun. 2019.

ATAÍDE, G. da. M.; CASTRO, R. V. O.; DIAS, B. A. S.; CASTRO, A. F. N. M. Idade para expedição de mudas clonais de eucalipto em função de variáveis morfológicas não destrutivas. **Advances in Forestry Science**, Cuiabá, MT, v. 6, n. 4, p. 797-802, mai./dez. 2019. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/287231678.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

BACKES, P.; IRGANG, B. Eucalipto. In: _____. **Árvores cultivadas no Sul do Brasil**: Guia de identificação e interesse paisagístico das principais espécies exóticas. 1. ed. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. p. 136-154.

BERGONCI, J. I. Relações água-plantas. In: BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. **As plantas e o clima**: Princípios e aplicações. Guaíba: Agrolivros, 2017. cap. 11, p. 313-329.

BRAZ, R. L.; OLIVEIRA, J. T. da. S.; ROSADO, A. M.; VIDAURRE, G. B.; PAES, J. B. Parâmetros dendrométricos e resistência mecânica das árvores de clones de *Eucalyptus* em áreas sujeitas à ação dos ventos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 4, p. 945-956, out./dez. 2014. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cflo/a/34cW3HyRS84mYPRByjjQSJF/>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M.; DRANSKI, J. A. L.; COUTINHO, P. W. R. Morphometric changes and post-planting growth as a response to hardening on *Tabebuia roseo-alba* seedlings. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 51, n. 3, p. 539-546, jul./set. 2021. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/67358/43967>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CARVALHO, D. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. de.; VILELA, E. de. A. Flora arbustiva-arbórea de mata ripária do médio Rio Grande (Conquista, Estado de Minas Gerais). **Cerne**, Lavras, MG, v. 2, n. 2, p. 48-68, jun. 1996. Disponível em: <http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/bitstream/handle/123456789/18319/Cerne_v2_n2_p48-68_1996.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CARVALHO, P. E. R. Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*). In: _____. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2003. p. 599-607.

CHEHAB, E. W.; EICH, E.; BRAAM, J. Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechano-stimulation. **Journal of Experimental Botany**, UK, v. 60, n. 1, p. 43-56, jan. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/23669242_Thigmomorphogenesis_A_complex_plant_response_to_mechano-stimulation>. Acesso em: 17 de dez 2020.

COSTA, D. B. C.; STRECK, N. A. Duração da fase de mudas em eucalipto simulada em cenários de aumento de temperatura. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 28, n. 2, p. 1263-1270, jul./ago. 2018. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/33378/pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

COSTA, W. S.; SOUZA, A. L. de.; SOUZA, P. B. de. Jatobá–*Hymenaea courbaril* L. In: _____. **Ecologia, manejo, silvicultura e tecnologia de espécies nativas da Mata Atlântica**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011, p. 1-18.

DARDEAU, F.; BERTHIER, A.; FEINARD-DURANCEAU, M.; BRIGNOLAS, F.; LAURANS, F.; LIEUTIER, F.; SALLÉ, A. Tree genotype modulates the effects of water deficit on a plant-manipulating aphid. **Forest Ecology and Management**, NL, v. 353, n. 2, p. 118-125, jun. 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/277667935_Tree_genotype_modulates_the_effects_of_water_deficit_on_a_plant-manipulating_aphid>. Acesso em: 08 de abr. 2020.

DEUNER, C.; BORGES, C. T.; ALMEIDA, A. S.; MENEGHELLO, G. E.; TUNES, L. V. M. Ácido jasmônico como promotor de resistência em plantas. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, PE, v. 38, n. 3, p. 275-281, set./abr. 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v38n3/v38n3a01.pdf>>. Acesso em: 02 de out. 2019.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Relationship between lignin content and quality of *Pinus taeda* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 905-913, out. 2015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rarv/a/xJ7gzPZLYY5cLYHbTJ8QxWj/?lang=en#>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. *Hymenaea courbaril* L. In: _____. **Recomposição de matas ciliares**. 1. ed. São Paulo: Instituto Florestal, 1990. p. 1-14.

FAGAN, E. B.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; CHALFUN JÚNIOR, A.; DOURADO NETO, D. Jasmonatos. In: _____. **Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais**. 1. ed. São Paulo: Ed. Andrei LTDA, 2015, p. 173-182.

GONZAGA, M. I. S.; MACKOWIAK, C.; ALMEIDA, A. Q.; CARVALHO JÚNIOR, J. I. T. Sewage sludge derived biochar and its effect on the growth and morphological traits of *Eucalyptus grandis* W.Hill Ex Maiden seedlings. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 28, n. 2, p. 687-695, abr./jun. 2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cflo/a/9zQQfDHpPPjcdHKCmfBqF6S/?format=pdf&lang=en>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. IBÁ 2020. **Relatório anual 2019**. Brasília, DF, 2020. 80p.

JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to Bryoniadiocia. **Planta**, Berlin, DE, v. 114, n. 2, p. 143-156, 1973. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24458719/>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

KERN, A. K.; WERS, W. F.; TELEWSKI, W. F.; KOEHLER, L. Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and above ground biomass of hybrid poplars. **Tree Physiology**, UK, v. 25, n. 10, p. 1243-1251, mai./ago. 2005. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/7682452_Mechanical_perturbation_affects_conductivity_mechanical_properties_and_aboveground_biomass_of_hybrid_poplars>. Acesso em: 19 de out. 2021.

LAUTERI, M.; HAWORTH, M.; SERRAJ, R.; MONTEVERDI, M. C.; CENTRITTO, M. Photosynthetic diffusional constraints affect yield in drought stressed rice cultivars during flowering. **PloS ONE**, USA, v. 9, n. 10, p. 1-12, out. 2014. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0109054>>. Acesso em: 07 de abr. 2020.

LIMA, P. R.; MALAVASI, U. C.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. de M.; BORSOI, A.; ECCO, M. Estímulos químico e mecânico na rustificação de mudas de eucalipto. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 65, n. 5, p. 424-432, set/out. 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/328726153_Estimulos_quimico_e_mecanico_na_rustificacao_de_mudas_de_eucalipto>. Acesso em: 21 de fev. 2020.

LONGUE JÚNIOR, D.; COLODETTE, L. J. Importância e versatilidade da madeira de eucalipto para a indústria de base florestal. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, PR, v. 33, n. 76, p. 429-438, out./dez. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/314431199_Importancia_e_versatilidade_da_madeira_de_eucalipto_para_a_industria_de_base_florestal>. Acesso em: 18 de mai. 2019.

MOREL, P.; CRESPEL, L.; GALOPINC, G.; MOULIAD, B. Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. **Scientia Horticulturae**, NL, v. 135, n. 1, p. 59-64, fev./dez. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442381100639X>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

ORO, P.; VOLKWEIS, C. R.; NEIVERTH, W.; DEANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de M. Aplicação de regulador vegetal na aclimação de mudas de *Cariniana estrellensis*. **Cultivando o saber**, Cascavel, PR, v. 5, n. 4, p. 103-112, mai./out. 2012. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/511cc1e627012.pdf>. Acesso em: 27 de jul. 2017.

PEREIRA-NETTO, A. B. Brassinoesteroides, Jasmonatos, Ácido salicílico e poliaminas. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. cap. 14, p. 276-285.

PIMENTA, J. A. Relações hídricas. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. cap. 1, p. 1- 31.

QIU, Z.; GUO, J.; ZHU, A.; ZHANG, M. Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, USA, v. 104, n. 1, p. 104-108, jun. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24726929>>. Acesso em: 11 de jun. 2019.

SANCHEZ, F. Jasmonatos: compuestos de alto valor para la agricultura: actividad biológica y ruta biosintética del ácido jasmónico en plantas. **Revista ICIDCA**, La Habana, CU, v. 42, n. 1-3, p. 51-59, dez. 2008. Disponível em: <<http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Jasmonatoscompuestosaltovaloragricultura.%20ParteI.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

SOARES, A. M. dos. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica–Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, MA, v. 1, n. 1, p. 9-19, jan. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/283920514_Defesa_de_plantas_Sinalizacao_quimica_e_especies_reativas_de_oxigenio>. Acesso em: 22 de jul. 2019.

TELEWSKI, F.W.; M. J. JAFFE. Thigmomorphogenesis: field and laboratory studies of *Abies fraseri* in response to wind or mechanical perturbation. **Physiologia Plantarum**, UK, v. 66, n. 1, p. 211–218, fev. 1986. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.1986.tb02411.x>>. Acesso em: 08 de jun. 2021.

VOLKWEIS, C. R.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 2, p. 339-342, abr./jun. 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/14571/pdf>>. Acesso em: 08 de ago. 2017.

WALIA, H.; WILSON, C.; CONDAMINE, P.; LIU, X.; ISMAIL, A. M.; CLOSE, T. J. Large-scale expression profiling and physiological characterization of jasmonic acid-mediated adaptation of barley to salinity stress. **Plant, Cell & Environment**, UK, v. 30, n. 4, p. 410–421, abr. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17324228>>. Acesso em: 11 de jun. 2019.

ZHOU, Y.; LAMBRIDES, C. J.; FUKAI, S. Drought resistance of bermudagrass (*Cynodon* spp.) ecotypes collected from different climatic zones. **Environmental and Experimental Botany**, NL, v. 85, n. 1, p. 22-29, jan. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847212001591>>. Acesso em: 07 de abr. 2020.

CAPÍTULO I: DINÂMICA DO CRESCIMENTO EM MUDAS DE *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* E *Hymenaea courbaril* L. PROPAGADAS EM TUBETES

RESUMO

A análise de crescimento surge como uma estratégia que quantifica o desenvolvimento dos vegetais a partir das alterações morfofisiológicas, assim a partir do uso dessa ferramenta, pode ser elaborado um calendário mais preciso da aplicação das práticas em viveiro, tornando às mais eficientes. Assim, o objetivo da pesquisa foi determinar, por meio das variáveis morfofisiológicas a dinâmica de crescimento de plantas jovens de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e *Hymenaea courbaril* tal como, o estágio de crescimento no qual deve ser realizado a rustificação de mudas. O experimento foi conduzido em ambiente protegido, região do oeste do Paraná, em Marechal Cândido Rondon. Com a finalidade da quantificação do crescimento, análises foram realizadas em intervalos de 10 dias e em ambas espécies. As determinações constaram de quantificações morfométricas e taxas de crescimento. No *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, às variáveis altura e diâmetro do coleto aumentaram até os 110 e 140 dias, respectivamente. A área foliar foi decrescente após os 90 dias, principalmente pela senescência das folhas ou até mesmo o aparecimento de folhas novas, não fotossinteticamente ativas. As taxas quantificadas apresentaram tendência similar e decresceram após 90 dias. Ao se avaliar mudas de *Hymenaea courbaril* os valores foram crescentes na determinação de altura, diâmetro, massa seca radicular e aérea até os 130 dias. Os estádios foram escolhidos baseados no crescimento das plantas e na realização da aplicação dos tratamentos rustificativos, a citar, 70, 100 e 130 dias no caso do eucalipto e 50, 80 e 110 dias em mudas de jatobá, que caracterizam o crescimento acelerado, intermediário e reduzido nas espécies estudadas.

Palavras-chave: Atributos morfológicos. Espécies florestais. Pigmentos fotossintéticos. Viveiros florestais.

GROWTH DYNAMICS OF SEEDLINGS OF *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* AND *Hymenaea courbaril* L. PROPAGATED IN TUBES

ABSTRACT

A growth analysis appears as a strategy to quantify the development of plants based on morphophysiological changes, so from the use of this tool, a more precise calendar for the application of nursery practices can be developed, making them more efficient. Thus, the objective of the research was to determine, by means of the morphophysiological variables, the growth of young plants of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* and *Hymenaea courbaril*, as well as the growth stadiums for realize hardening practices. The experiment was conducted in a protected environment, in the western region of Paraná, in Marechal Cândido Rondon. For growth quantification, analyzes were performed at 10-day intervals for both species. The determinations consisted of morphometric quantifications and growth rates. The quantified rates presented similar results and decreased after 90 days. When evaluating *Hymenaea courbaril* seedlings, the values increased for height, diameter, root and aerial dry mass up to 130 days. The stadiums chosen based on plant growth, hardening practices were 70, 100 and 130 days for eucalyptus and 50, 80, and 110 days for jatoba, which characterize the accelerated, intermediate and reduced growth for the studied species.

Keywords: Morphological attributes. Forest species. Photosynthetic pigments. Forest nurseries.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a eucaliptocultura se adaptou às condições ambientais com uma produtividade média maior que nos centros de origem da espécie (SOUZA et al., 2012). O *Eucalyptus urograndis* ou “superclone” quando em condições ideais hídricas, nutricionais e climáticas apresenta excelente crescimento primário e secundário (FERNANDES; FLORÊNCIO; FARIA, 2012).

Apesar do grande potencial econômico e qualidade superior da madeira, as espécies lenhosas nativas são pouco consideradas em plantios comerciais quando comparadas às exóticas. Portanto, torna-se importante que estudos sobre aquelas sejam realizados a fim de que o uso ocorra de maneira equilibrada com espécies recomendadas. Adicionalmente, é interessante atentar aos fatores relacionados à conservação e proteção das espécies lenhosas nativas que apresentam risco de extinção (BOBATO et al., 2008; DIAS et al., 2012).

Hymenaea courbaril L. (jatobá) apresenta ampla distribuição no Brasil, principalmente pela capacidade de tolerar grande variação nas condições edafoclimáticas e por isso são adequadas na recuperação de áreas degradadas (MATHEUS et al., 2011). A espécie é pertencente à família Fabaceae e entre suas características é considerada semidecídua, secundária tardia ou clímax exigente a luz (DURIGAN; NOGUEIRA, 1990; CARVALHO, 2003).

O jatobá pode ser encontrado desde o Piauí até o Norte do Paraná, em Florestas Latifoliada Semidecídua, Cerrados, Caatinga, Florestas Equatoriais e Tropicais (COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011). Além do mais, a madeira apresenta grande valor no mercado interno e externo, podendo ser destinada à indústria de móveis, pisos, remédios, ingredientes, na alimentação humana e animal, bebidas destiladas, como verniz e combustível, porém a exploração ilegal é tão problemática que leis e regulamentos foram criados a fim de reduzir a exportação de madeira proveniente de extração ilegal em países da União Europeia, Estados Unidos e Austrália (SILVA et al., 2014).

As características morfofisiológicas das mudas podem ser moduladas por meio de práticas de viveiro que conferem maior tolerância ou rusticidade às condições do pós-plantio. Mudas de baixa qualidade resultam no replantio causando desuniformidade dos talhões (ELOY et al., 2014). Entretanto, outros fatores também podem contribuir na alteração do crescimento de mudas de espécies lenhosas (GROSSNICKLE; MACDONALD, 2018).

A tolerância ao estresse pode ser conceituada como aclimação caracterizado pelo processo de transição das mudas do viveiro a campo. Portanto, ao rustificar às mudas, o

viveirista objetivará aclimatá-las. No entanto, tais práticas são estressantes em maior ou menor grau, o que torna a rustificação mais ou menos benéfica dependendo da ontogenia ou estágio de crescimento vegetal (BARTON; BOEGE, 2017).

A análise de crescimento (AC) surge como uma ferramenta que delimita às mudanças fisiológicas e morfológicas variando em função da espécie, período de avaliação, eficiência fotossintética e das características que condicionam o crescimento das mudas. A grande vantagem da AC está relacionada ao fato de que não são exigidos equipamentos sofisticados e as análises são simples e podem ser realizadas periodicamente (BENINCASA, 2004; FALQUETO et al., 2009).

Mediante o exposto, o ensaio objetivou caracterizar estádios de crescimento em mudas de *Eucalyptus urograndis* e de *Hymenaea courbaril* L. propagadas em tubetes através da análise dinâmica do crescimento a fim de subsidiar a aplicação dos tratamentos rustificativos em viveiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, equivalente a 20% de sombreamento, localizado na região de Marechal Cândido Rondon (24° 33' 24'' S, longitude de 54° 05' 67'' W e altitude de 420 m), oeste do Estado do Paraná, no campus da Unioeste.

A classificação climatológica, segundo Köppen na região é do tipo Cfa, subtropical mesotérmico úmido (ALVARES et al., 2013) com boa distribuição de chuva em anos típicos (1600 a 1800 mm ao ano) (NITSCHKE et al., 2019). A temperatura e umidade relativa foram obtidas diariamente com o auxílio de um datalogger (Modelo KlimaLogg Smart) durante a fase experimental.

As sementes de eucalipto foram obtidas do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais e o jatobá na Rede de Sementes, Portal Amazônia. Para o *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*, procedência: Bofete, SP, o plantio está localizado em área de produção de sementes (APS), geração F3, com ano de coleta em 2018, pureza igual a 0% e lote: BO0035N01. Estas foram armazenadas na geladeira, com temperatura entre 4 e 5 °C, obtido com um termômetro de Mercúrio.

Com relação ao jatobá, o local de coleta das sementes é classificado como primário e as sementes foram obtidas de, aproximadamente 28 matrizes entre os municípios de Carlinda e Nova Guarita, Mato Grosso, em áreas de floresta plantadas e espontâneas, em dossel ou isoladas. As plantas apresentavam altura variando entre 7 e 34 metros e diâmetro de 43 a 250

cm. O tronco da maioria das espécies era reto, porém algumas apresentavam bifurcações. As árvores estavam distribuídas entre solos arenosos, argilosos, pedregoso e encharcados com as mais diversas finalidades, entre os quais, áreas de agrofloresta e pastagem na cidade de Carlinda, enquanto que, para a cidade de Nova Guarita, o uso se restringia a pomares e pastagem.

As sementes após a recepção foram armazenadas a temperatura (16 °C) e umidade (40%) em câmara de armazenamento de sementes até serem utilizadas.

As sementes de jatobá foram escarificadas no sentido contrário ao eixo embrionário, com uma lixa de ferro nº 36, a fim de quebrar a dormência tegumentar. Em seguida, as amostras foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 10% por 30 minutos e lavadas posteriormente.

As sementes foram embebidas em água por 48 horas, esses procedimentos foram realizados na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no laboratório de Tecnologia de sementes. Por fim, estas foram semeadas, uma semente por tubete com volume de 290 cm³ e mantidas na Estação de Cultivo Protegido e Controle Biológico “Professor Dr. Mário César Lopes” para a realização das avaliações. A semeadura ocorreu em 12/12/2018 e a emergência iniciou a partir do dia 20 de dezembro com as avaliações realizadas de 09/02/2019 a 30/05/2019, com intervalos de 10 dias em função da diferença na rapidez de crescimento entre as espécies.

Para a propagação do eucalipto utilizou-se tubetes de 120 cm³ com aproximadamente 5 sementes por recipiente e no mesmo local descrito acima. Duas semanas após a emergência, as plântulas foram selecionadas e desbastadas, mantendo aquelas que apresentaram maior altura e protófilos (primeira folha verdadeira após a formação do cotilédone) bem desenvolvidos. A semeadura ocorreu em 02/08/2018 com o início da emergência a partir de 6 de agosto do mesmo ano. A análise de crescimento abrangeu o período de 11/09/2018 a 08/02/2019 com intervalos de 10 dias.

Uma mistura de substratos foi utilizado nos tubetes de eucalipto e jatobá, sendo o Humusfertil® vermicomposto a base de casca de pinus, areia como substrato e vermiculita, com às respectivas garantias, condutividade elétrica de 1,5 mS cm⁻¹; densidade de 480 kg m⁻³; potencial hidrogeniônico (pH) de 6,5; umidade máxima e capacidade de retenção de (CRA) em massa/massa igual a 60%.

Durante os períodos de avaliação foi preparada uma solução para a adubação das mudas com as seguintes concentrações: 2 mL L⁻¹ de KH₂PO₄; 2 mL L⁻¹ de MgSO₄; 5 mL L⁻¹ de KNO₃; 5 mL L⁻¹ de Ca (NO₃)₂ 4H₂O; micro completa igual a 1 mL L⁻¹; e 1 mL L⁻¹ de Fe-EDTA em 1.000 mL de água destilada (HOAGLAND; ARNON, 1950). As quantidades da solução fornecidas por muda semanalmente e diluídas em 4 litros de água foram de 5 mL até os 60 dias

seguido de 10 mL até o final das quantificações (180 dias para o eucalipto e 140 para o jatobá), devido ao crescimento das mudas e da maior exigência nutricional.

A irrigação pós emergência utilizou microaspersão em cinco turnos diários de rega de 10 minutos no verão (06:45, 08:45, 12:45, 15:45 e 17:45:00hs) e em três turnos diários durante o inverno (08:45, 13:45 e 17:45hs), com lâmina de água de 4 mm, aproximadamente.

A lâmina de água foi determinada utilizando três pluviômetros distribuídos na área irrigada no ambiente protegido, onde as mudas foram produzidas, inclusive, estes foram colocados na mesma bancada onde as bandejas com as plantas estavam localizadas, com o objetivo de simular a quantidade de água que chegava ao dossel dessas mudas. Passado o período de irrigação, os três volumes foram coletados com a finalidade de obter a média das lâminas. Ainda, esse procedimento foi repetido nos demais períodos de irrigação.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 16 períodos de avaliação e 20 repetições por período, totalizando 260 mudas de eucalipto enquanto que, com o jatobá foram 12 períodos de avaliação e, 15 repetições por período, totalizando 180 mudas.

A obtenção de resultados incluiu altura das mudas, diâmetro do coleto, massa seca aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), área foliar (LI-3000A, Li-Cor®, USA) e índice SPAD (Minolta®, Chlorophyll meter RS-232).

Para a determinação da altura utilizou-se régua a partir da base do coleto até a gema apical enquanto o diâmetro foi mensurado com paquímetro digital, respeitando as recomendações para o tipo de germinação das espécies. Como o jatobá apresenta germinação epígea, a determinação do diâmetro foi realizada na inserção do cotilédone, enquanto para o eucalipto utilizou-se a base do coleto.

O índice SPAD foi quantificado em quatro folhas localizadas no terço médio nas mudas de eucalipto e terço inferior em mudas de jatobá (primeiro e segundo par de folhas), considerando sempre as mesmas folhas, com a finalidade de promover a uniformização das avaliações.

A partir daqueles parâmetros foram calculados o índice de esbeltez (RITCHIE et al., 2010) e o índice de qualidade de Dickson (DICKSON; LEAF; HOSNER, 1960). Adicionalmente, seguindo Benincasa (2004) computou-se a razão de área foliar (RAF), a taxa de crescimento absoluto (TCA), a taxa de crescimento relativo (TCR) e a taxa assimilatória líquida (TAL).

Os resultados foram testados, a fim de confirmar a existência das pressuposições estatísticas, entre as quais normalidade e homogeneidade dos dados. A primeira utilizou os

testes de Kolmogorov-Smirnov, Cramér-von Mises, Anderson-Darling, Kuiper, Watson, Lilliefors e Shapiro-Wilk, enquanto que na comprovação da homogeneidade, utilizou-se o teste de Bartlett. Mediante a significância dos dados, aqueles foram desdobrados e ajustados pelo modelo sigmoidal. Os gráficos foram construídos com auxílio do Sigma Plot 12.0 e as curvas construídas em função das médias e seus respectivos desvios padrões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eucalyptus urograndis

A altura em mudas de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* apresentou crescimento acelerado até os 110 dias, o que representa a fase de crescimento exponencial. Após aquele período, as mudas reduziram a velocidade de crescimento, com tendência a estabilização até os 180 dias (Figura 1A).

Nas mudas de eucalipto o diâmetro do coleto aumentou até os 140 dias, ilustrando que o híbrido investe primeiramente no crescimento em altura e posteriormente em diâmetro, mantendo o desenvolvimento secundário por mais tempo (Figura 1B). Ao avaliar os parâmetros de qualidade das mudas, plantas com maior diâmetro apresentam maior sobrevivência após o transplante, pois, nessas condições há maior investimento no crescimento da parte aérea e consequentemente maior equilíbrio no crescimento vegetal, assim como serve como indicativo da rusticidade das mudas (GOMES; PAIVA, 2011).

O índice de esbeltez (IE) expressa quantas vezes a altura é maior que o diâmetro e, por isso, quanto maior o valor dessa relação, menor o equilíbrio da muda (KLEIN et al., 2017). Os resultados de IE em função dos dias de avaliação em mudas de eucalipto (Figura 1C) tendem a evoluir à estabilidade (crescimento em altura desproporcional ao crescimento em diâmetro, ou mesmo, em relação ao desenvolvimentos das raízes) à medida que evoluem para fase adulta.

A redução desse índice foi observada após o ponto máximo observado, aos 90 dias (8,76 cm mm⁻¹), demonstrando que, naturalmente, este equilíbrio tende a ocorrer, pois o crescimento secundário e radicular é estimulado após determinada fase de crescimento das plantas (Figura 1C).

Alguns estudos têm destacado valores que são recomendados na quantificação de altura e diâmetro e consequentemente sua relação. Gonçalves et al. (2005) descreveram que a altura deve variar entre 20 e 35 cm e diâmetro de 5 a 10 mm, resultando em índice de esbeltez variando de 2 a 7 cm mm⁻¹ em espécies lenhosas nativas. Enquanto que Wendling e Dutra (2010) em mudas do gênero *Eucalyptus* concluíram que a altura ideal com a finalidade de expedição é

variável entre 15 e 25 cm e o diâmetro maior que 2 mm, com índice de robustez variando de 7,1 a 11,9 cm mm^{-1} .

A expedição das mudas a campo e consequentemente as práticas que antecedem esse período serão variáveis e dependentes de muitos fatores ambientais, assim como as exigências das espécies (nutricionais, hídricas, luminosa, CO_2). Entretanto, alguns estudos definem a partir dos incrementos obtidos períodos em que seria mais recomendado levar as mudas a campo. Eloy et al. (2014), por exemplo, avaliando a biomassa vegetal concluiu que o melhor período para expedir mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden seria aos 135 dias quando acondicionadas em tubetes de 90 cm^3 .

Outra afirmativa a respeito do índice de esbeltez realizada por Wink et al. (2012) destaca que a idade dos indivíduos está diretamente ligada a estabilidade das árvores (relação entre crescimento primário e secundário), pois à medida que estas crescem, o desenvolvimento se torna mais homogêneo e equilibrado, resultando em índices menores.

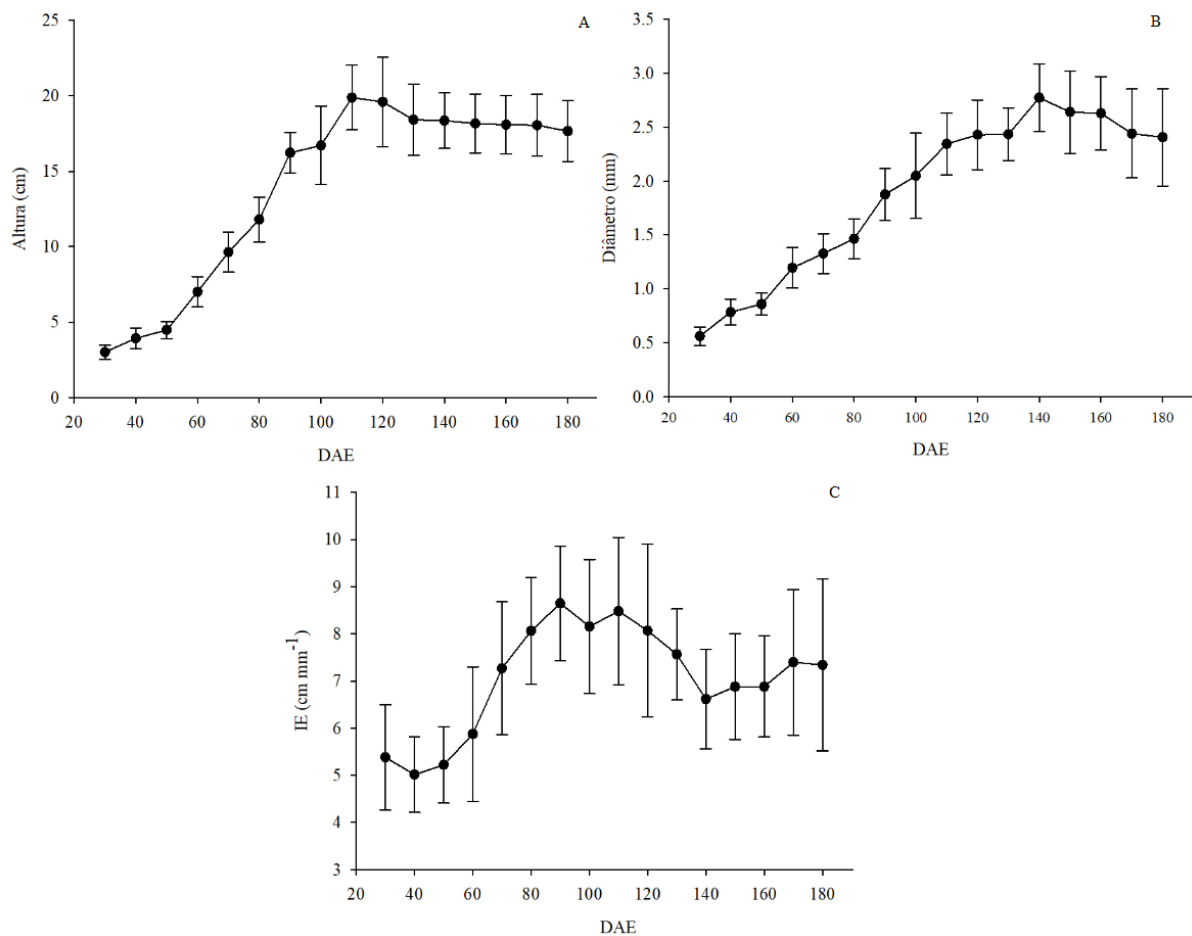


Figura 1- Crescimento médio em altura (A), diâmetro do coleto (B) e índice de esbeltez (C) em mudas em *Eucalyptus urograndis*.
Fonte: Rocha et al. (2021).

A massa seca aérea nas mudas de eucalipto (Figura 2A) apresentou acréscimos até os 160 dias após a emergência (DAE). Em contrapartida, os valores foram crescentes até os 140 DAE na MSR (Figura 2B) com estabilização posterior.

Mafia et al. (2005) com dois clones de eucalipto observaram estabilização no desenvolvimento do sistema radicular ao final do período de avaliação (aproximadamente após 72 dias), como consequência da limitação mecânica imposta pelo recipiente (50 cm³) utilizado. Os autores supramencionados concluíram que a partir da biomassa radicular o período ideal de expedição de mudas de qualidade do clone *Eucalyptus urophylla* Blake foi aos 100 DAE.

Estudos têm demonstrado que o índice de qualidade de Dickson (IQD) tem sido considerado um dos parâmetros mais assertivos na indicação da qualidade das mudas, pois relaciona a esbeltez e a distribuição da biomassa seca. A conclusão é que quanto maior os valores, melhor a sobrevivência a campo, e este último está diretamente relacionado a qualidade das mudas (GOMES; PAIVA, 2011). Seguindo o aumento nos valores do IQD em mudas de eucalipto até os 140 DAE seria recomendado a expedição e plantio de mudas a campo até essa fase (Figura 2C).

Corroborando com os resultados obtidos com o mesmo híbrido, mas propagado via estaqueamento, Silva, Simões e Silva (2012) reportaram que após 90 DAE sob efeito de 9 substratos foi calculado um IQD menor que 0,2 independente dos tratamentos aplicados.

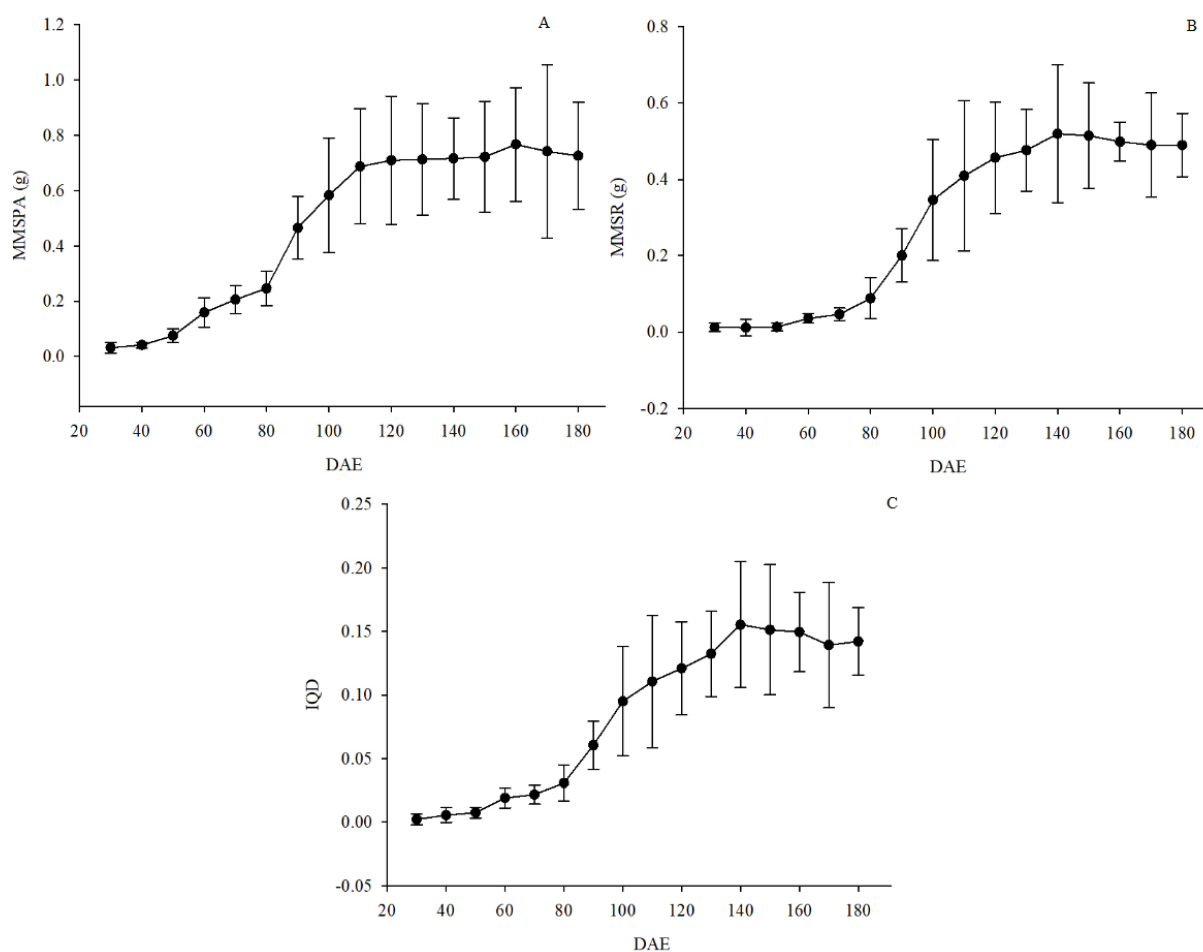


Figura 2- Massa seca da parte aérea (A), massa seca da raiz (B) e índice de qualidade de Dickson (C) em mudas de *Eucalyptus urograndis*.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Os valores da área foliar (AF) em mudas de eucalipto foram crescentes e lineares até os 90 DAE, coincidindo com as fases de desenvolvimento vegetal descritas por Peixoto e Peixoto (2004).

As mudas de eucalipto apresentaram decréscimo do índice SPAD em função dos períodos de avaliação (Figura 3B). Tal redução pode ter ocorrido, porque em determinadas fases, o eucalipto pode apresentar uma modificação na coloração como forma de proteção contra a oxidação dos pigmentos fotossintéticos com acúmulo de antocianinas. Araújo et al. (2018) associaram a mudança de coloração à rusticidade das plantas de eucalipto, concluindo que, geralmente mudas que apresentam o caule lignificado e folhas avermelhadas estão adequadamente rusticificadas.

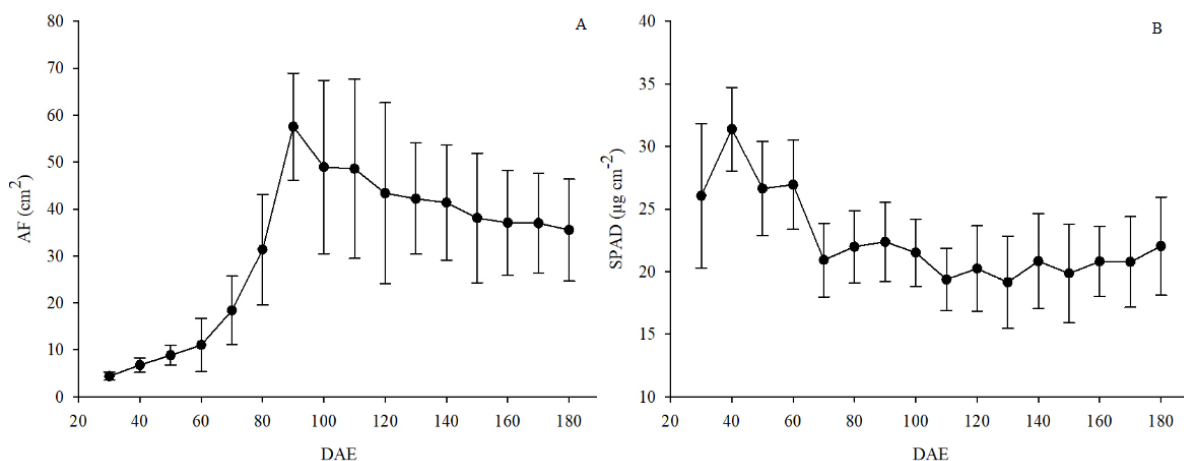


Figura 3- Área foliar (A) e índice SPAD (B) em mudas de *Eucalyptus urograndis*.
Fonte: Rocha et al. (2021).

Estudos tem destacado que, inicialmente as plantas investem no aumento d02a área foliar, com o intuito de melhorar a produção fotossintética. Entretanto, ao longo do desenvolvimento vegetativo, ocorre a maturação das folhas e, conseqüentemente, a senescência. Logo, esses fotossintatos produzidos e armazenados naquelas estruturas serão redistribuídos resultando na redução da curva. Como a área foliar está diretamente relacionada ao acúmulo de biomassa, os valores obtidos são decrescentes e variáveis, resultantes das peculiaridades de cada espécie, pois, dependendo daquelas condições a tendência das curvas de crescimento se diferenciarão de maneira significativa. Além disso, a razão de área foliar (RAF) irá reduzir em decorrência do aumento do número de folhas e, conseqüentemente, do autossombreamento (BENINCASA, 2004; PEIXOTO; PEIXOTO, 2004).

No decorrer das avaliações houve redução da RAF em mudas de eucalipto devido ao aumento no número de folhas até os 170 DAE com valores que variaram de 7,95 a 14,75 resultado do progressivo sombreamento das folhas localizadas no terço inferior. Dessa maneira, a síntese de fotoassimilados também foi reduzida (Figura 4A). Isso irá contribuir diretamente sobre o crescimento vegetal, que nas fases finais ocorre de maneira mais lenta.

A taxa de crescimento absoluto (TCA) irá prever a velocidade média do crescimento por todo período de observação e exprime a relação entre a massa seca total e o intervalo entre avaliações (BENINCASA, 2004). Assim, à medida que os parâmetros morfométricos reduzem a taxa também irá reduzir o valor de TCA, demonstrando que, fatores extrínsecos as mudas podem ser os principais limitantes no desenvolvimento das mesmas. Em mudas de eucalipto a velocidade de crescimento foi acelerada até os 90 DAE (Figura 4B).

O decréscimo desses valores coincidiu com a redução na área foliar, ou seja, da taxa de crescimento absoluto, o autossombreamento também será determinante na definição da forma

que ocorrerá o crescimento, já que a produção de fotoassimilados, em parte, será destinada ao crescimento. Resultados semelhantes foram obtidos por Lima et al. (2008) que associaram a redução na TCA ao aumento dos níveis de sombreamento em *Caesalpinia ferrea* M. demonstrando que, no caso dessa espécie a luminosidade foi um fator limitante ao crescimento.

Em mudas de eucalipto, primeiramente houve aumento na TCR e após 90 DAE apresentou decréscimo, já que, ao final do período à altura, o diâmetro do coleto e AF reduziram a velocidade de crescimento (Figura 4C). Povhl e Onoll (2008) descreveram que a TCR em plantas de *Salvia officinalis* L. tratadas com reguladores vegetais e as mudas controle se comportaram de forma similar, onde primeiramente houve acúmulo acelerado e posteriormente rápida diminuição.

Quanto aos valores da TAL, este acúmulo inicial pode estar relacionado ao aumento da biomassa seca, tal como, pelo aumento da área foliar, uma vez que a assimilação líquida está distintamente ligada à fotossíntese e como consequência seu melhor aproveitamento na produção de fotoassimilados. Até os 90 DAE, o híbrido *Eucalyptus urograndis* apresentou tendência de aumento. A partir disso e acompanhando os resultados da TCA e TCR as médias da TAL foram reduzidas devido à redução na velocidade de crescimento (Figura 4D).

Outro fator que altera a TAL é a respiração, pois essa taxa representa a relação entre o que é produzido e consumido pelo metabolismo vegetal, ou seja a eficiência na conversão da energia luminosa em matéria seca. Conforme ocorre o crescimento vegetal também ocorrerá aumento no consumo via respiração e consequentemente, a energia que seria convertida em crescimento ou que estava sendo armazenada irá ser consumida, e a velocidade de crescimento será reduzida assim como a taxa de assimilação líquida (PEIXOTO; PEIXOTO, 2004).

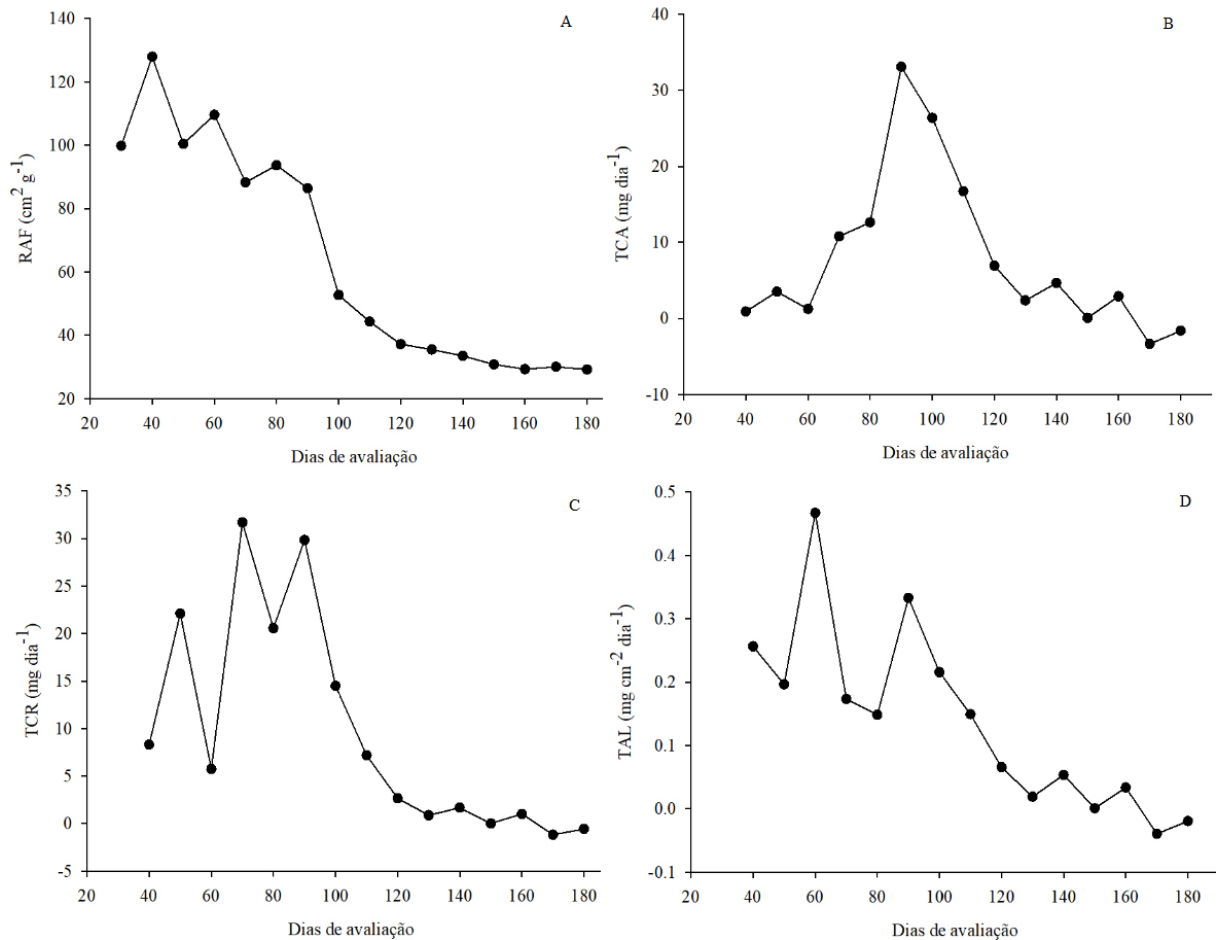


Figura 4- Razão da área foliar (A), taxa de crescimento absoluto (B), taxa de crescimento relativo (C) e taxa assimilatória líquida (D) em mudas de *Eucalyptus urograndis*.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Hymenaea courbaril

Após os 130 DAE as mudas de jatobá iniciaram a redução na velocidade de crescimento em altura. Em condições práticas, a limitação do crescimento pode resultar na expedição de mudas antecipadamente, mas isso é dependente da estratégia de crescimento da espécie (Figura 5A).

Gonzaga et al. (2016) avaliaram tubete (110 cm³) e saco plástico (15 cm de diâmetro do coleto e 20 cm de altura) na propagação de mudas de *Hymenaea courbaril* L. e reportaram que aos 210 dias as maiores médias foram calculadas em mudas acondicionadas em sacos plásticos. Isso é consequência do maior volume de substrato a ser explorado, maior disponibilidade nutricional e consequentemente, aumento da biomassa das raízes.

Ferraz e Engel (2011) recomendaram que o uso de tubetes com volume igual ou maior que 300 cm³ é pouco restritivo e favorece o crescimento em altura e diâmetro do coleto das mudas, assim como promove a antecipação no ciclo de produção.

Em mudas de jatobá, as médias mensuradas para o diâmetro apresentaram resultado semelhante ao da altura (Figura 5B) com redução aos 140 DAE. A redução pode ser inerente do ciclo natural ou estratégia de crescimento da espécie. Outra justificativa reside em determinadas situações o crescimento aéreo diminui com o objetivo de enviar reservas em benefícios de outras estruturas vegetais, principalmente a raiz, como forma de proteção contra adversidades ambientais (MENCUCCINI, 2014).

Para a mesma espécie citada anteriormente, ao se determinar os estádios de crescimento dos 30 até os 140 DAE, os valores calculados de IE variaram de 5,95 a 7,61 cm mm^{-1} . A tendência é que vegetais terrestres busquem o equilíbrio (aéreo/radicular) no crescimento, a fim de estabilizar seu desenvolvimento, o que pode ser observado nos valores obtidos após os 40 DAE, onde todas as médias foram menores que as primeiras avaliações (Figura 5C). Gonzaga et al. (2016) reportaram que o IE em jatobá variou de 5,95 a 7,16 cm mm^{-1} , valores próximos aos calculados neste ensaio.

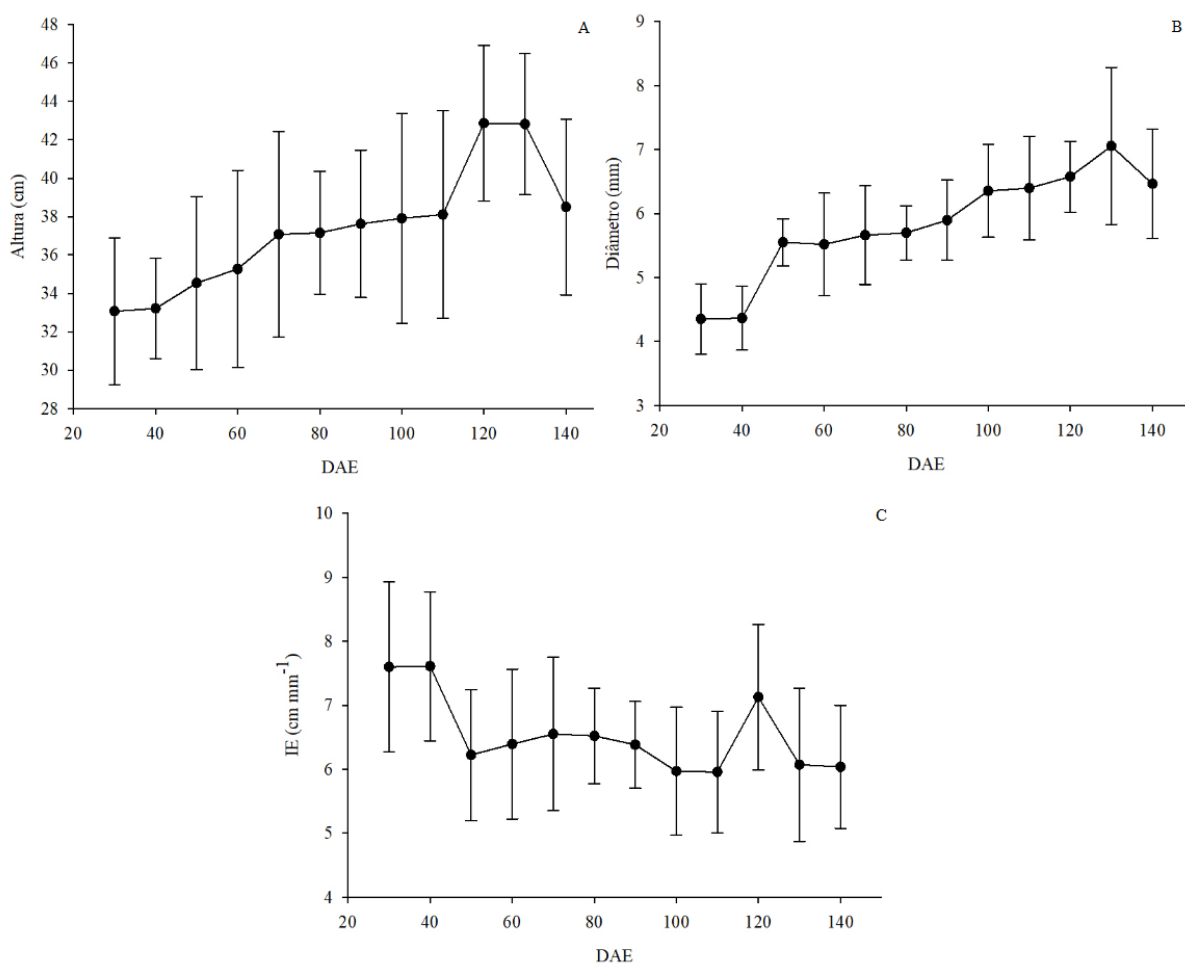


Figura 5- Crescimento médio em altura (A), diâmetro do coleto (B) e índice de esbeltez (C) das mudas de *Hymenaea courbaril*.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Os valores de MSPA em mudas de jatobá (Figura 6A) indicaram que a maior média foi obtida aos 130 DAE, reduzindo a velocidade de crescimento após aquele período. De fato, a relação entre os principais compartimentos em vegetais lenhosos terrestres (aéreo e radicular) são complexos e ainda pouco explorados em algumas espécies lenhosas, já que o estímulo fotossintético é dependente da sinalização radicular, assim como seu crescimento é dependente da produção de fotossintatos.

Logo, entender a dinâmica, assim como a relação entre tecidos aéreos e radiculares é de extrema importância e vem sanar perguntas não respondidas em relação ao metabolismo de assimilação, absorção e transformação dos principais substratos utilizados pelos vegetais (LACLAU et al., 2013).

Hymenaea courbaril pode perder as folhas em determinadas circunstâncias (semidecídua) investindo, prioritariamente em crescimento radicular e como compensação das adversidades climáticas (COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011) fato constatado no presente ensaio quando se compara a área foliar e o desenvolvimento radicular.

A partir dos 100 DAE houve redução da área foliar coincidindo com a perda das folhas, assim como com a redução do índice SPAD. Entretanto, a biomassa radicular aumentou até os períodos finais de avaliação (130 DAE), com médias semelhantes aos 140 DAE (Figura 6B). Comparando o incremento da biomassa aérea (Figura 6A) e a radicular (Figura 6B) e a diferença entre a menor e a maior média observa-se que o aumento na MSPA foi de 2,37 vezes, enquanto que, na raiz foi de 7,01 vezes aproximadamente.

Em mudas de jatobá os valores de IQD foram crescentes até os 130 DAE, coincidindo com incremento da parte aérea e do sistema radicular com valores maiores que 0,30 (Figura 6C). Entretanto, essa característica é muito variável e dependente de fatores como tratos culturais, manejo, tipo de substrato, recipiente e estágio de desenvolvimento das mudas (GOMES et al., 2013).

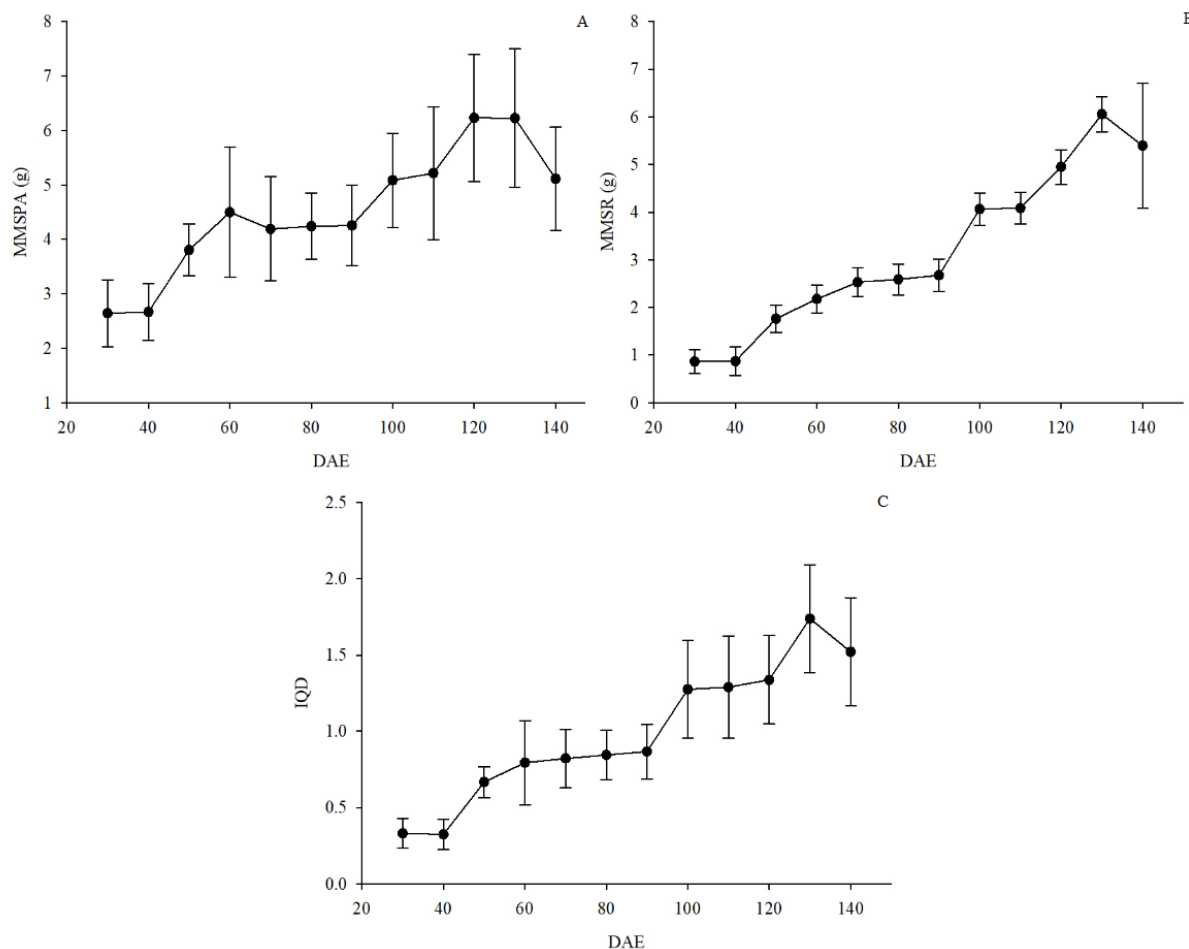


Figura 6- Massa seca da parte aérea (A), massa seca da raiz (B) e índice de qualidade de Dickson (C) em mudas de *Hymenaea courbaril*.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Em mudas de jatobá a curva de AF apresentou resposta quadrática, com crescimento até os 90 DAE (Figura 7A). A AF em mudas de *Tabebuia chrysotricha* (MART. EX DC.) SANDL., *Parapiptadenia rigida* (BENTH.) BRENNAN e *Hymenaea courbaril* L. Var. *stilbocarpa* (HAYNE) LEE ET LANG quantificadas por Ferraz e Engel (2011) externaram as maiores médias em tubetes de 300 cm³ em comparação àquelas produzidas em tubetes de 50 e 110 cm³.

Nesta pesquisa, com a evolução das avaliações, mudas de jatobá apresentaram manchas foliares, que pode ter contribuído com a redução do índice SPAD. As manchas surgiram nas margens das folhas localizadas no terço inferior, ou seja, em folhas mais velhas. Posteriormente evoluíram para necrose e manchas irregulares no limbo foliar. Com o aumento das áreas comprometidas, houve redução da área pigmentada e consequentemente redução no índice SPAD (Figura 7B).

A concentração dos pigmentos fotossintéticos é intensamente influenciada por fatores bióticos e abióticos. E no caso da espécie *Hymenaea courbaril* observou-se um aumento no

número de folhas variando de 7,86 a 14,26. Folhas novas ainda funcionam como drenos e posteriormente tornam-se produtivas (BLUMWALD; MITTLER, 2017).

Durante a senescência foliar ou sob condições estressantes que afetem às folhas mais velhas alguns constituintes celulares serão realocados. Aminoácidos, proteínas e componentes relacionados à pigmentação são degradados e transportados das folhas mais jovens até outros órgãos ligados à defesa a fim de formar e estruturar novos constituintes (HIMELBLAU; AMASINO, 2001; REYES-ARRIBAS et al., 2001). No caso do ensaio em questão, a justificativa mais aceitável é a limitação de crescimento ocasionada pelo tubete, já que ao final do ensaio, todas as mudas apresentavam manchas foliares.

A senescência também seria uma opção, entretanto, Reich et al. (1995) relataram que 67% das espécies pertencentes a florestas tropicais possuem longevidade foliar maior que 10 meses e no caso do jatobá, as mudas se mantiveram apenas 4 meses em ambiente protegido e as folhas foram persistentes durante todo o período de avaliação, principalmente aquelas escolhidas com o objetivo de realizar a determinação do índice SPAD.

Adicionalmente, o ensaio foi conduzido em ambiente protegido com 20% de sombreamento, o que pode ter limitado o acúmulo de pigmentos em *Hymenaea courbaril*, já que, a espécie é exigente a luz durante seu desenvolvimento.

O autossombreamento é facilmente observado em mudas de jatobá, devido à conformação do seu crescimento e tamanho das folhas e de ser exigente à luz nas fases iniciais do crescimento (COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011). Assim, os valores de RAF nas mudas de jatobá também apresentaram redução ao longo das datas de avaliação (Figura 7C). Variações na relação entre a área foliar total e a massa seca total resultam da estratégia de crescimento, tanto nos aspectos morfológicos quanto nos fisiológicos (FERREIRA; GONÇALVES; FERRAZ, 2009).

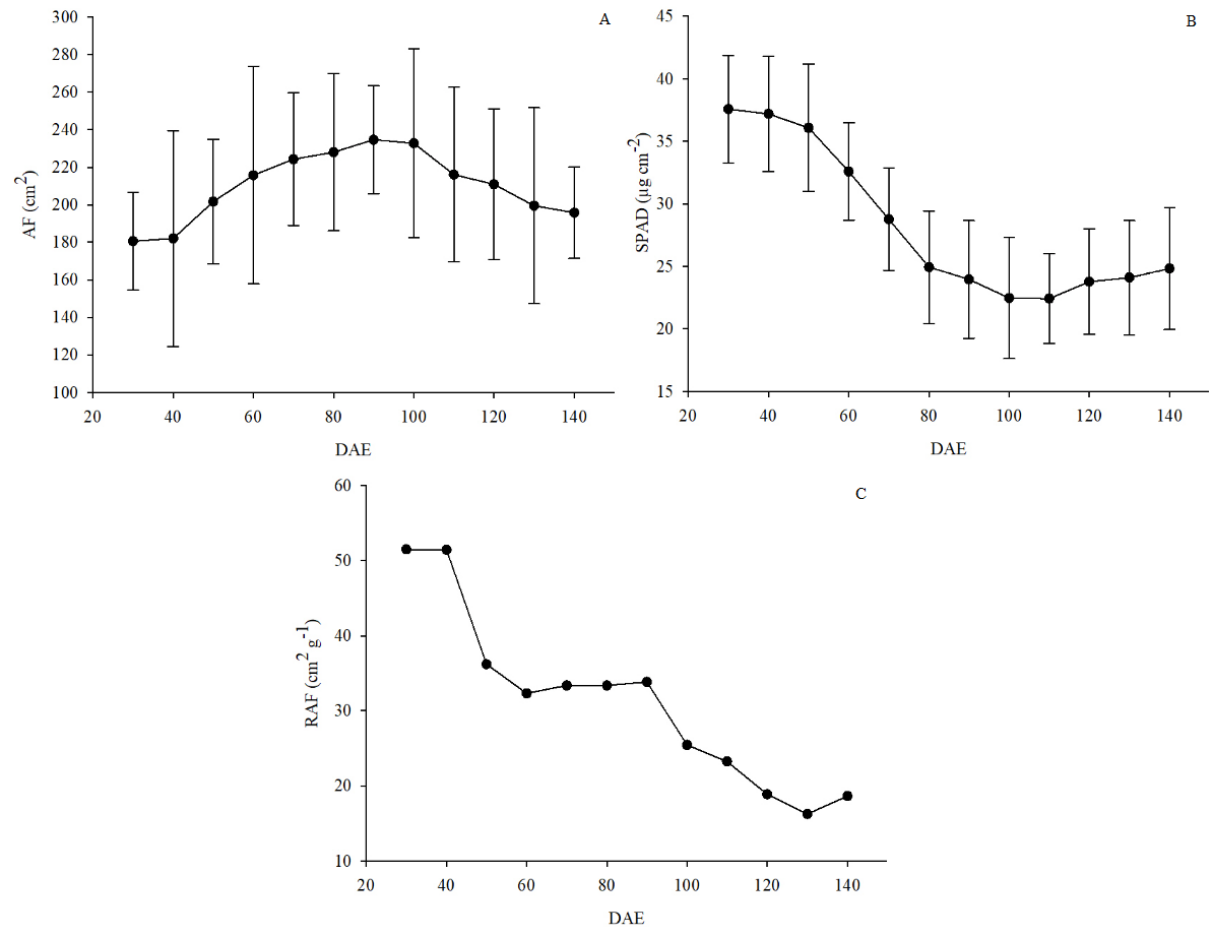


Figura 7- Área foliar (A), índice SPAD (B) e razão de área foliar (C) em mudas de *Hymenaea courbaril*. Fonte: Rocha et al. (2021).

Espécies vegetais terrestres longevas apresentam vulnerabilidade tanto à variação na temperatura como à falta de água nas fases iniciais de crescimento e quando acometidas por qualquer estresse, o crescimento será interrompido e o processo de defesa será desencadeado (HANSEN; TURNER, 2019).

Em mudas de jatobá houve maior crescimento em biomassa radicular até os períodos finais de avaliação o que resultou em maior velocidade de crescimento quantificado via TCA, já que o índice leva em consideração a biomassa produzida (Figura 8A). Segundo Carvalho (2003), o jatobá pode se desenvolver e crescer, mesmo que de forma limitada nos primeiros estádios de crescimento em lugares sombreados. Entretanto, ao atingir a maturidade reprodutiva é necessário maior incidência luminosa.

Ao se avaliar a TCR houve tendência semelhante a TCA e a principal justificativa desses aumentos na TCR são a área foliar e biomassa seca. Fica evidente, portanto, que a TCR pode ser associada a taxa fotossintética, da mesma maneira que, um alto consumo respiratório associado a uma baixa taxa fotossintética, ocasionada por qualquer distúrbio no metabolismo vegetal pode reduzir aquelas médias (Figura 8B).

Assim como as taxas anteriores, a taxa assimilatória líquida (TAL) variou em função da evolução dos dias de avaliação, o que está relacionado ao crescimento natural dos vegetais, que em condições naturais, irá alterar seu desenvolvimento de acordo com os estímulos externos. Assim, fatores extrínsecos e intrínsecos aos vegetais irão comandar a forma como cada órgão irá se desenvolver e crescer (Figura 8C).

Barbieri Júnior et al. (2007) reportaram que mudas de jatobá tratadas com $8,40 \text{ g m}^{-3}$ de fósforo e sem a inoculação de micorrizas apresentaram redução da TAL entre o período de 30 e 90 dias, e evoluíram até a estabilização, aos 120 dias, o que é uma tendência no crescimento de plantas terrestres, o equilíbrio vegetal entre o crescimento aéreo e radicular.

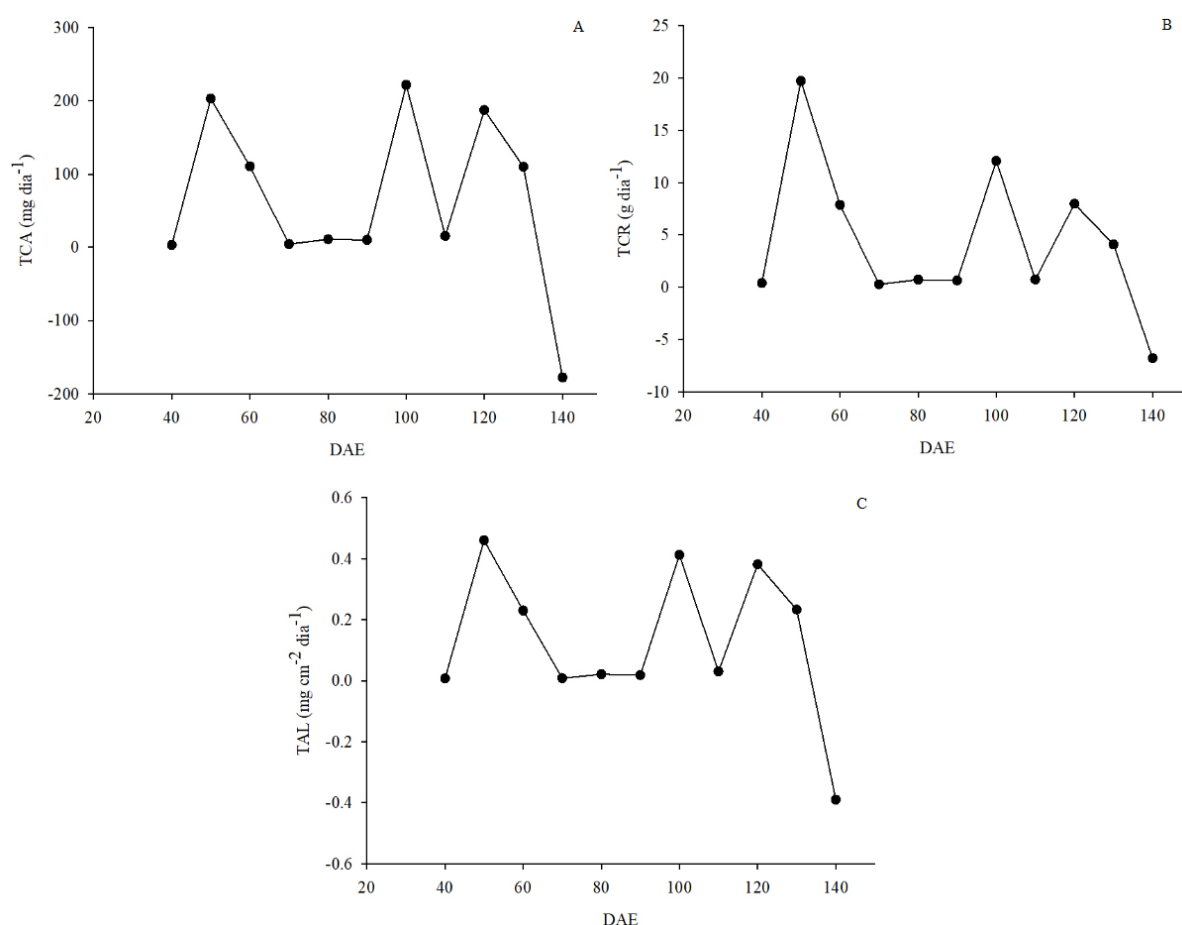


Figura 8- Taxa de crescimento absoluto (A), taxa de crescimento relativo (B) e taxa assimilatória líquida (C) em mudas de *Hymenaea courbaril*.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Em mudas de eucalipto e de jatobá as variáveis MSR e diâmetro foram aquelas que apresentaram maior correlação com o IQD (Tabela 1). Binotto, Lúcio e Lopes (2010) concluíram que a massa seca da raiz e total assim como o diâmetro se correlacionaram positivamente com o índice de qualidade de Dickson em mudas de *Eucalyptus grandis*. Quanto maior o sistema radicular, maior a absorção de água e nutrientes, resultando em maior crescimento aéreo e acúmulo de biomassa.

Em mudas de *Hymenaea courbaril*, além da MSR, outro parâmetro que teve destaque foi a correlação do índice de qualidade de Dickson e o diâmetro, neste caso, este último contribuiu positivamente para o índice na maioria dos dias de avaliação (Tabela 1).

Mudas com maior diâmetro podem apresentar maior sobrevivência a campo, pois nessas condições há maior investimento no crescimento radicular e acúmulo de reservas naquele sistema (GOMES; PAIVA, 2011). Aimi et al. (2016) avaliaram mudas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. em fase final de desenvolvimento em viveiro aos 210 DAE e observaram alta correlação (0,91) entre diâmetro e massa seca da raiz.

Tabela 1- Correlação entre Massa seca da parte aérea e diâmetro em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* com índice de qualidade de Dickson (IQD)

<i>Eucalyptus urograndis</i>								
	30	40	50	60	70	80	90	100
MSR	0,997*	0,994*	0,997*	0,919*	0,947*	0,902*	0,823*	0,943*
Diam	0,527*	0,544*	0,259*	0,839*	0,830*	0,589*	0,617*	0,712*
	110	120	130	140	150	160	170	180
MSR	0,938*	0,752*	0,844*	0,930*	0,804*	0,568*	0,636*	0,765*
Diam	0,861*	0,399*	0,391*	0,844*	0,900*	0,797*	0,846*	0,765*
<i>Hymenaea courbaril</i>								
	30	40	50	60	70	80	90	100
MSR	0,890*	0,909*	0,751*	0,911*	0,653*	0,833*	0,775*	0,836*
Diam	0,896*	0,334*	0,431*	0,802*	0,828*	0,737*	0,474*	0,668*
	110	120	130	140	-	-	-	-
MSR	0,788*	0,836*	0,519*	0,760*				
Diam	0,853*	0,280*	0,897*	0,728*				

(*) Teste t bilateral/ Nível de tomada de decisão = 0.05 (*)

Fonte: Rocha et al. (2021).

Textos acerca do conceito de muda-alvo criticam a utilização de valores generalizados na determinação da qualidade em mudas de espécies lenhosas sejam elas exóticas ou nativas. Dessa maneira, estudos detalhados com cada espécie devem ser realizados, tal como o melhor estágio de expedição e prática de rustificação nas mudas. Considerando que a rustificação pode ocasionar efeitos benéficos ou danosos, por serem estressantes.

CONCLUSÕES

A dinâmica do crescimento em mudas propagadas em tubetes indicou a possibilidade de identificar três estádios de crescimento em mudas do híbrido *Eucalyptus urograndis* aos 70, 100 e 130 DAE e em mudas de *Hymenaea courbaril* aos 50, 80 e 110 DAE quando propagadas em tubetes de 120 e 290 cm³, respectivamente. Os estádios denominados de inicial, intermediário e final refletem variações do crescimento acelerado, constante e decrescente, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIMI, S. C.; ARAÚJO, M. M.; LEÓN, E. B.; OLIVEIRA, G. G. de.; CUNHA, F. da. S. Volumen de contenedores y dosis de fertilizante de liberación controlada en el crecimiento de plantas de *Cabralea canjerana* producidas en vivero. **Bosque**, Valdivia, CL, v. 37, n. 2, p. 401-407, nov./abr. 2016. Disponível em: <<https://scielo.conicyt.cl/pdf/bosque/v37n2/art18.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de. M.; SPAROVEK, G. K Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, CH, v. 22, n. 6, p. 711-728, jan. 2013. Disponível em: <http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/Alvares_etal_2014.pdf>. Acesso em: 16 de abr. 2019.
- ARAÚJO, M. M et al. Caracterização e análise de atributos morfológicos indicadores da qualidade de mudas em viveiro florestal. In: ARAÚJO, M. M.; NAVROSKI, M. C.; SCHORN, L. A. **Produção de sementes e mudas: um enfoque na silvicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2018, cap. 16, p. 347-365.
- BARBIERI JÚNIOR, D.; BRAGA, L. F.; ROQUE, C. G.; SOUZA, M. P. Análise de crescimento de *Hymenaea courbaril* L. sob efeito da inoculação micorrízica e adubação fosfatada. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, MT, v. 5, n. 1, p. 1-15, jun./dez. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228537923_ANALISE_DE_CRESCIMENTO_DE_Hymenaea_courbaril_L_SOBOEFEITO_DAINOCULACAOMICORRIZICA_EADUBACAO_FOSFATADA1?opdsd=1>. Acesso em: 21 de jun. 2019.
- BARTON, K. E.; BOEGE, K. Future directions in the ontogeny of plant defence: understanding the evolutionary causes and consequences. **Ecology Letters**, UK, v. 20, n. 1, p. 403-411, nov. 2017. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bioscience/article/66/11/990/2754311>>. Acesso em: 19 de out. 2021.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de Crescimento de Plantas (noções básicas)**. Jaboticabal, SP: FUNEP. 2004. 42p.
- BINOTTO, A. F.; LÚCIO, A. D.; LOPES, S. J. Correlations between growth variables and the Dickson quality index in forest seedling. **Revista Cerne**, Lavras, MG, v. 16, p. 457 - 464, out. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/294476827_Correlations_between_growth_variables_and_the_Dickson_quality_index_in_forest_seedlings>. Acesso em: 09 de dez. 2020.
- BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Estresse abiótico. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 24, p. 731-759.
- BOBATO, A. C. C.; OPAZO, M. A. U.; NÓBREGA, L. H. P.; MARTINS, G. I. Métodos comparativos para recomposição de áreas de mata ciliar avaliados por análise longitudinal. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, PR, v. 30, n. 1, p. 89-95, jan./mar. 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/asagr/a/7F8zcVxPhNmV4PJp7xJhXXx/?format=pdf>>. Acesso em 19 de out. 2021.

CARVALHO, P. E. R. Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*). In: _____. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2003. p. 599-607.

COSTA, W. S.; SOUZA, A. L. de.; SOUZA, P. B. de. Jatobá–*Hymenaea courbaril* L. In: _____. **Ecologia, manejo, silvicultura e tecnologia de espécies nativas da Mata Atlântica**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011, p. 1-18.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. V. A. R. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, PR, v. 32, n. 72, p. 463-562, set./dez. 2012. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/388/pdf_20>. Acesso em: 20 de out. 2021.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, Syracuse, NY, n. 36, p. 10-13, mar. 1960. Disponível em: <<https://pubs.cif-ifc.org/doi/pdf/10.5558/tfc36010-1>>. Acesso em: 10 jan. 2021.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. Recomposição De matas ciliares. In: _____. *Hymenaea courbaril* L. 1. ed. São Paulo: Instituto Florestal, 1990. p. 1-14.

ELOY, E.; CARON, B. O.; TREVISAN, R.; BEHLING, A.; SCHMIDT, D.; SOUZA, V. Q. de. Determinação do período de permanência de mudas de *Euclyptus grandis* W. Hill ex Maiden em casa de vegetação. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, PI, v. 5, n. 1, p. 44-50, set./nov. 2014. Disponível em: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5022033>>. Acesso em: 09 de dez. 2020.

FALQUETO, A. R.; CASSOL, D.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M. de.; OLIVEIRA, A. C. de.; BACARIN, M. A. Partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 68, n. 3, p. 453-461, abr./abr. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v68n3/a02v68n3.pdf>>. Acesso em: 23 de dez. 2018.

FERNANDES, A. L. T.; FLORÊNCIO, T. M.; FARIA, M. F. Análise biométrica de florestas irrigadas de eucalipto nos cinco anos iniciais de desenvolvimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, SP, v. 16, n. 5, p. 505-513, mai. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v16n5/v16n05a06.pdf>>. Acesso em: 07 de out. 2019.

FERRAZ, A. DE. V.; ENGEL, V. L. Efeito do tamanho de tubetes na qualidade de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L. Var. *stilbocarpa* (HAYNE) LEE ET LANG.), ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (MART. EX DC.) SANDL.) e guarucaia (*Parapiptadenia rigida* (BENTH.) BRENNAN). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 413-423, jan./abr. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v35n3/a05v35n3>>. Acesso em: 29 de dez. 2018.

FERREIRA, M. J.; GONÇALVES, J. F. C.; FERRAZ, J. B. S. Photosynthetic parameters of young Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H. B.) plants subjected to fertilization in a degraded area

in Central Amazonia. **Photosynthetica**, Praga, CZ, v. 47, n. 4, p. 616–620, mar./dez, 2009. Disponível em: <<http://ps.ueb.cas.cz/pdfs/phs/2009/04/16.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. de. **Viveiros Florestais: propagação sexuada**. Viçosa: UFV, 2011. 116 p.

GOMES, D. R.; CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; GONÇALVES, E. O.; TRAZZI, P. A. Lodo de esgoto como substrato para a produção de mudas de *Tectona grandis* L. **Cerne**, Lavras, MG, v. 19, n. 1, p. 123-131, out./out. 2013. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/cerne/v19n1/15.pdf>>. Acesso em: 14 de dez. 2020.

GONÇALVES, J. L. L. M.; GONÇALVES, J. L. DE. M. SANTARELLI, E. G.; MORAES NETO, S. P. DE.; MANARA, M. P.; STAPE, J. L. Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização. In: GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2005. p. 300-350.

GONZAGA, L. M.; SILVA, S. S.; CAMPOS, S. A.; FERREIRA, R. P.; CAMPOS, A. N. R.; CUNHA, A. C. M. C. M. Evaluation of substrates and amf sporulation in the production of seedlings of native forest species. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 40, n. 2, p. 245-54, mar./abr. 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v40n2/0100-6762-rarv-40-02-0245.pdf>>. Acesso em: 21 de jun. 2019.

GROSSNICKLE, S. C.; MACDONALD, J. E. Why seedlings grow: influence of plant attributes. **New Forests**, NL, v. 49, n. 1, p. 1–34, jan. 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/319200201_Why_seedlings_grow_influence_of_plant_attributes>. Acesso em: 19 de out. 2021.

HANSEN, W. D.; TURNER, M. G. Origins of abrupt change? Postfire subalpine conifer regeneration declines nonlinearly with warming and drying. **Ecological Monographs**, Washington, USA, v. 89, n. 1, p. 1-21, ju./set. 2019. Disponível em: <<https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ecm.1340>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

HIMELBLAU, E.; AMASINO, R. M. Nutrient mobilized from leaves of *Arabidopsis thaliana* during leaf senescence. **Journal of Plant Physiology**, NL, v. 158, n. 10, p. 1317-1323, mar./mai. 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0176161704701625>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station. 1950. 347p.

KLEIN, D. R.; HESS, A. F.; KREFTA, S. M.; VIEIRA FILHO, M. D. H.; CIARNOSCKI, L. D.; COSTA, E. A. Relações morfométricas para *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em Santa Catarina. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 47, n. 4, p. 501-512, nov. 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/342870718_RELACOES_MORFOMETRICAS_PARA_Araucaria_angustifolia_Bertol_Kuntze_EM_SANTA_CATARINA>. Acesso em: 09 de dez. 2020.

LACLAU, J. P.; SILVA, E. A.; LAMBAIS, G. R.; BERNOUX, M. L. E.; MAIRE, G.; STAPE, J. L.; BOUILLET, J. P.; GONÇALVES, J. L. M.; JOURDAN, C.; NOUVELLON, Y. Dynamics of soil exploration by fine roots down to a depth of 10 m throughout the entire rotation in *Eucalyptus grandis* plantations. **Frontiers in Plant Science**, CH, v. 4, n. 243, p. 1-12, jul. 2013. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/113282/WOS000330727300001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 11 de dez. 2020.

LIMA, J. D.; SILVA, B. M. S.; MORAES, W. S.; DANTAS, A. A. V.; ALMEIDA, C. C. Efeitos da luminosidade no crescimento de mudas de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Acta Amazônica**, Manaus, AM, v. 38, n. 1, p. 5-10, out./ago. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672008000100002>. Acesso em: 04 de jan. 2021.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; SIQUEIRA, L. de.; FERREIRA, E. M.; LEITE, H. G.; CAVALLAZZI, J. R. P. Critério técnico para determinação da idade ótima de mudas de eucalipto para plantio. **Revista árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 6, p. 947-953, set./ago. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622005000600014&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 08 de dez. 2020.

MATHEUS, M. T.; AMARAL, J. A. T.; SILVA, D. G. G.; NEVES, D. M.; PIZZOL, E. C. S.; SOUSA, F. C.; SANTI, G. C.; GUARIZ, H. R.; LIMA, K. A.; HOFFMANN, R. G. Sintomas de deficiência nutricional em Jatobá. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, SP, v. 17, n. 1, p. 89-97, fev. 2011. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/QfE7LwYvsoouuxw_2013-4-29-11-39-55.pdf>. Acesso em: 21 de jun. 2019.

MENCUCCINI, M. Temporal scales for the coordination of tree carbon and water economies during droughts. **Tree Physiology**, UK, v. 34, n. 5, p. 439-442, mar./mai. 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/treephys/article/34/5/439/1689933>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

NITSCHKE, P. R.; CARAMORI, P. H.; RICCE, W. da S.; PINTO, L. F. D. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina, Instituto Agrônômico do Paraná, 2019. 216p.

PEIXOTO, C. P.; PEIXOTO, M. de. F. da. S. P. **Dinâmica do Crescimento vegetal (Princípios básicos)**. Cruz das Almas, BA: AGRUFBA, 2004. 20p.

POVHL, J. A.; ONOLL, E. O. Crescimento de plantas de *Salvia officinalis* sob ação de reguladores de crescimento vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 8, p. 2186-2190, nov. 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/28233081_Crescimento_de_plantas_de_Salvia_officinalis_sob_acao_de_reguladores_de_crescimento_vegetal>. Acesso em: 08 de jan. 2021.

REICH, P. B.; WALTERS, M. B.; KLOEPPEL, B. D.; ELLSWORTH, D. S. Different photosynthesis-nitrogen relations in deciduous hardwood and evergreen coniferous tree species. **Oecologia**, Berlin, DE, v. 104, n. 1, p. 24-30, nov./abr. 1995. Disponível em: <<https://experts.umn.edu/en/publications/different-photosynthesis-nitrogen-relations-in-deciduous-hardwood>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

REYES-ARRIBAS, T.; BARRET, J.E.; HUBER, D.J.; NELL, T.A.; CLARK, D.G. Leaf senescence in a non-yellowing cultivar of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). **Physiologia Plantarum**, UK, v. 111, n. 1, p. 540-544, jun./out. 2001. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/12035287_Leaf_senescence_in_a_non-yellowing_cultivar_of_chrysanthemum_Dendranthema_grandiflora>. Acesso em: 19 de out. 2021.

RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Assessing plant quality. In: LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. (Eds.). **The container tree nursery manual: Seedling Processing, Storage, and Outplanting**. Washington, USDA: Forest Service, 2010. cap. 2. p. 18-81.

SILVA, R. B. G.; da.; SIMÕES, D.; SILVA, M. R. da. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 16, n. 3, p. 297-302, mai./dez. 2012. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/ztF5JxvrbV9BGCvWkPjkmBD/>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

SILVA, S. M. M.; MARTINS, K.; MESQUITA, A. G. G.; WADT, L. H. D. Genetic parameters for *Hymenaea courbaril* L. conservation in Southwestern AMAZON. **Ciência florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 1, p. 87-95, jan. 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/286231554_Genetic_parameters_for_Hymenaea_courbaril_L_conservation_in_southwestern_amazon>. Acesso em: 19 de out. 2021.

SOUZA, J.T.; TREVISAN, R.; DENARDI, L.; STANGERLIN, D. M.; VIVIAN, M. A.; HASELEIN, C. R.; SANTINI, J. E. Qualidade da madeira serrada provenientes de árvores dominantes e média de *Eucalyptus grandis* submetidos a secagem. **Cerne**, Lavras, MG, v. 18, n. 1, p. 167-174, jan./mar. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-77602012000100020>. Acesso em 05 de out. 2019.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F. Produção de mudas de eucalipto por estaquia e miniestaquia. In: _____. **Produção de mudas de eucalipto**. 1. ed. Colombo: Embrapa florestas, 2010. p. 50-80.

WINK, C.; MONTEIRO, J. S.; REINERT, D. J.; LIBERALESSO, E. Parâmetros da copa e a sua relação com o diâmetro e altura das árvores de eucalipto em diferentes idades. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, SP, v. 40, n. 93, p. 57-67, mar. 2012. Disponível em: <<https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr93/cap06.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CAPÍTULO II: MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS EM MUDAS DE EUCALIPTO E JATOBÁ APÓS A RUSTIFICAÇÃO QUÍMICA E MECÂNICA EM FUNÇÃO DOS ESTÁDIOS DE CRESCIMENTO

RESUMO

A rustificação com reguladores vegetais derivados dos grupos dos salicatos e jasmonatos, tal como o uso de estímulos mecânicos ainda é muito incipiente, principalmente em espécies lenhosas nativas. Assim, o objetivo da pesquisa foi quantificar as alterações morfológicas resultantes da rustificação com metil jasmonato e flexões caulinares em mudas de *Eucalyptus urograndis* e de *Hymenaea courbaril* L. em função dos estádios de crescimento. O experimento foi conduzido no oeste do Estado do Paraná, na cidade de Marechal Cândido Rondon, em ambiente protegido. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, composto de três tratamentos (controle, metil jasmonato e flexões caulinares) com sete repetições de 30 mudas de *Eucalyptus urograndis*, enquanto que em *Hymenaea courbaril* utilizou-se sete repetições de 16 mudas. As análises foram realizadas ao início e término do período de rustificação e consistiram em incremento em altura e em diâmetro, massa seca aérea e radicular, área foliar e cálculo do índice de esbeltez. As mudas de eucalipto controle, independente dos estádios, apresentaram crescimento acelerado em altura visto que, em tese, estas não foram impostas a nenhuma restrição e ou estresse. Quanto ao diâmetro, as maiores médias foram observadas nas mudas rustificadas por meio de flexões caulinares em todos os estádios de crescimento. Nos três estádios de crescimento houve redução da altura nas mudas de *Hymenaea courbaril* do tratamento controle até aquelas tratadas com flexão caulinar, exceto no estádio III, onde a maior média neste parâmetro foi observado nas plantas tratadas quimicamente. Ao se quantificar a área foliar foi observada nas plantas tratadas com flexões caulinares e nos 3 estádios de crescimento, pois o emprego de flexões caulinares causa fricção mecânica na parte aérea e, inevitavelmente essas mudas estarão sujeitas a perder às folhas, diminuindo assim a área fotossinteticamente ativa.

Palavras-chave: Área foliar. Flexões caulinares. Incremento. Metil jasmonato.

MORPHOLOGICAL MODIFICATIONS IN EUCALYPTUS AND JATоба PLANTS AFTER CHEMICAL AND MECHANICAL HARDENING AS A FUNCTION OF GROWTH STAGES

ABSTRACT

The study with hardening with plant regulators derived from the salicylate and jasmonate groups, as well as the use of mechanical stimuli, is still very incipient, especially in native woody species. Thus, the objective of the research was to quantify the morphological alterations resulting from hardening with methyl jasmonate and stem bending in *Eucalyptus urograndis* and *Hymenaea courbaril* L. seedlings as a function of growth stages. The experiment was carried out in the west of the State of Paraná, in the city of Marechal Cândido Rondon, in a protected environment. The design used was completely randomized, composed of three treatments (control, methyl jasmonate and stem bending) with seven replications of 30 seedlings of *Eucalyptus urograndis*, while in *Hymenaea courbaril* seven replications of 16 seedlings were used. The analyzes were carried out at the beginning and end of the hardening period and consisted of increments in height and diameter, aerial and root dry mass, leaf area and calculation of the slenderness index. The eucalyptus seedlings not subjected to treatments, regardless of the stages, showed accelerated growth in height since, in theory, they were not imposed to any restriction or stress. As for the diameter, the highest averages were observed in the hardened eucalyptus seedlings by means of stem bending in all growth stages. In the three growth stages there was a reduction in height in *Hymenaea courbaril* seedlings from the control treatment to those treated with stem bending, except in stage III, where the highest average in this parameter was observed in chemically treated plants. When quantifying the leaf area, it was observed reduction in plants treated with stem bending and in the 3 growth stages, because the use of stem bending causes mechanical friction in the shoot and, inevitably, these seedlings will be subject to loss of leaves, thus reducing the photosynthetically area active.

Keywords: Leaf area. Stem flexions. Increment. Methyl jasmonate.

INTRODUÇÃO

No estabelecimento de plantios florestais com o objetivo comercial ou não, a qualidade de mudas é o fator primordial no estabelecimento dos talhões. A qualidade das mudas impactará à sobrevivência e a uniformidade dos plantios (ARAÚJO; NAVROSKI; SCHORN, 2018). Logo, técnicas e protocolos de rustificação adequados tanto em espécies lenhosas exóticas quanto em nativas, é a estratégia mais efetiva na obtenção de mudas mais aptas às condições de campo com melhor qualidade e aumento na produção em menor tempo.

A rustificação é uma prática imposta na transição das mudas da fase de viveiro a campo, com o objetivo de melhorar a tolerância às alterações climáticas, nutricionais e edáficas. A tendência é que essas práticas antecipem ou simulem condições estressantes posteriores à expedição. Dessa maneira ao ser exposta ao estresse, a muda apresentará o aparato ligado à defesa resultando em uma resposta mais rápida e eficiente, e amenizando o choque pós-plantio (RITCHIE et al., 2010; CLOSE, 2012).

Estudos têm destacado o potencial dos reguladores vegetais e dos estímulos mecânicos na rustificação de mudas de espécies lenhosas melhorando a tolerância das mesmas aos estresses abióticos (ORO et al., 2012; DRANSKI et al., 2013; GONÇALVES; SOUSA; VELINI, 2015).

O ácido jasmônico (AJ) e seus derivados jasmonatos são exemplos práticos de reguladores produzidos endogenamente pelos vegetais que podem modular inúmeras atividades fisiológicas e bioquímicas, entre os quais, a senescência, abscisão foliar, desenvolvimento embrionário, além dos mecanismos relacionados à defesa das plantas, atuando na sinalização metabólica (PIETERSE et al., 2012).

Adicionalmente, alguns estudos têm destacado a importância do grupo dos jasmonatos na sinalização contra estresses das mais diversas naturezas. Além de apresentar a função regulatória, como hormônio ou regulador vegetal, o AJ atua ainda como mensageiro secundário e essa transdução de sinais será fortemente afetada pelas concentrações presentes nas células vegetais e sua relação antagônica ou sinérgica com outros hormônios (ALMAGRO et al., 2012; BELCHÍ-NAVARRO et al., 2013).

Naturalmente, os vegetais são expostos a adversidades climáticas como o vento. Em vegetais arbóreos, principalmente nos estádios iniciais, a suscetibilidade ao estresse é maior. Dessa maneira, muitas alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e até celulares podem prejudicar esses indivíduos, resultando em redução na produtividade e qualidade da madeira (BOSCHETTI et al., 2015).

Segundo Jaffe (1973) tigmomorfogênese é o estímulo mecânico que acarreta alterações morfológicas, principalmente reduzindo o crescimento em altura e aumentando o crescimento radicular. Na natureza, esses estímulos são ocasionados pelo vento, atrito por animais, assim como das gotas de chuva. Além disso, essas respostas serão distintas em função do estágio de crescimento, espécie, e clima, visto que, organismos aclimatados à alta movimentação atmosférica irão tolerar melhor as condições estressantes ocasionadas pelo vento (TELEWSKI; PRUYN, 1998; CHEHAB; EICH; BRAAM, 2009).

O híbrido de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* foi escolhido devido suas características específicas, entre os quais, o bom crescimento, tolerância a doenças e falta de água, boa capacidade de enraizamento, além do potencial madeireiro e aceitação no mercado florestal (CARVALHO; NAHUIZ, 2001). Além disso, o híbrido é muito apreciado no mercado externo, principalmente na China, devido à qualidade da madeira e diversidade de uso, principalmente nos setores de celulose, papel e energia (GRATTAPAGLIA; KIRST, 2008).

Hymenaea courbaril L. é uma espécie lenhosa nativa encontrada desde a América do Sul, América Central até o México. No Brasil sua predominância é na região Amazônica; todavia, a espécie pode ser encontrada no Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Sudeste. Quando se avalia a dispersão de jatobá na região sul do País, o destaque é o estado do Paraná, principalmente ao norte do estado (LUCYSZYN et al., 2009; COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011).

A grande relevância comercial, no entanto, é a madeira, devido suas boas características, dentre as quais pode-se citar a resistência, durabilidade, poucas deformações no fuste e beleza. A espécie apresenta utilização variada incluindo obras hidráulicas, carroçarias, postes, e principalmente fabricação de móveis e laminados. A resina exsudada pelo caule pode ser usada na elaboração de vernizes e como impermeabilizante em embarcações (CARVALHO, 2003; COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011).

A rustificação de mudas com reguladores vegetais derivados dos grupos dos salicatos e jasmonatos, tal como o uso de estímulos mecânicos ainda é muito incipiente, principalmente em espécies lenhosas nativas, pois as alterações internas e externas nesses vegetais precisam ser detalhados e quantificadas. Por isso e de acordo com o exposto, o objetivo da pesquisa foi quantificar as alterações morfológicas resultantes da rustificação com metil jasmonato e flexões caulinares em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L. em função dos estádios de crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no oeste do Estado do Paraná, em Marechal Cândido Rondon, latitude de 24° 33' 24'' S, longitude de 54° 05' 67'' W e altitude de 420 m, *Campus* Unioeste. Pela classificação climatológica de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa, subtropical (ALVARES et al., 2013), com médias térmicas variando entre 22 e 23 °C, boa distribuição de chuvas durante o ano, caracterizado por verões quentes (NITSCHKE et al., 2019).

As medições da umidade relativa e da temperatura do ar foram obtidas diariamente com o auxílio de um datalogger (Modelo KlimaLogg Smart) durante todo experimento e os valores médios, máximos e mínimos de temperatura (°C) e umidade do ar (%) estão mencionados no apêndice deste trabalho. O objetivo das determinações é conhecer precisamente as características climáticas do ambiente e justificar possíveis alterações provenientes do meio, já que, as condições externas podem dificultar o desenvolvimento e produção de mudas de qualidade.

No ensaio foram utilizadas mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L., produzidas via semente adquiridas no Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) e da Rede de Sementes, respectivamente e conduzidas em ambiente protegido com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, equivalente a 20% de sombreamento.

As sementes de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* com procedência: Bofete, SP, o plantio estava localizada na área de produção de sementes (APS), geração F3, com ano de coleta em 2018, pureza igual a 0% e lote: BO0035N01. Estas foram armazenadas na geladeira, com temperatura entre 4 e 5 °C, obtido com um termômetro de Mercúrio.

Com relação ao jatobá, o local de coleta das sementes é classificado como primário e as sementes foram coletadas de, aproximadamente, 28 matrizes entre os municípios de Carlinda e Nova Guarita, Mato Grosso, em áreas de floresta plantadas e espontâneas, em dossel ou isoladas. As plantas apresentavam altura variando entre 7 e 34 metros e diâmetro de 43 a 250 cm. O tronco da maioria das espécies era reto, porém algumas apresentavam bifurcações. As árvores estavam distribuídas entre solos arenosos, argilosos, pedregoso e encharcados com as mais diversas finalidades, entre os quais, áreas de agrofloresta e pastagem na cidade de Carlinda, enquanto que, para a cidade de Nova Guarita, o uso se restringia a pomares e pastagem.

As sementes após a recepção foram armazenadas a temperatura (16 °C) e umidade (40%) em câmara de armazenamento de sementes até serem utilizadas.

As sementes de jatobá foram escarificadas no sentido contrário ao eixo embrionário com uma lixa de ferro nº 36, a fim de superar a dormência tegumentar e desinfestadas em hipoclorito de sódio a 10% por 30 minutos seguido de lavagem com água corrente. Após aqueles procedimentos, as sementes foram submersas em água por 48 horas, a 25 °C em câmara de germinação tipo BOD, seguindo com o semeio das sementes, uma por tubete, com volume de 290 cm³.

Em mudas de eucalipto a propagação ocorreu em tubetes de 120 cm³ semeadas com 5 sementes por recipiente, aproximadamente. Após duas semanas, as plântulas foram desbastadas, mantendo a muda central, com maior altura e protófilos (primeira folha verdadeira após a formação do cotilédono) bem formados.

O substrato comercial utilizado foi o Humusfertil® vermicomposto a base de casca de pinus, areia como fonte de substrato e vermiculita, com às respectivas garantias, condutividade elétrica de 1,5 mS cm⁻¹; densidade de 480 kg m⁻³; potencial hidrogeniônico (pH) de 6,5; umidade máxima e capacidade de retenção de (CRA) em massa/massa igual a 60%.

Até o início da rustificação, as mudas foram adubadas com solução nutritiva em água destilada contendo os nutrientes essenciais ao desenvolvimento e crescimento das plantas. As concentrações dos fertilizantes foram de: 50,2 gramas de Osmocote® (fertilizante de liberação lenta) + 50,6 gramas de ureia, diluídos, juntamente em 2 litros de água. Por fim, adicionou-se 80,4 gramas de NPK, formulação 10_15_15 em solução, essa quantidade foi diluída em 2 litros de água.

As soluções foram preparadas separadamente, mas a aplicação foi realizada simultaneamente e a cada 15 dias. A quantidade foi de 20 mL em um volume de 10 litros de água nas duas espécies estudadas. A adubação foi ajustada a partir de pré-testes e adaptada baseada em outras recomendações e para outras espécies florestais, calibrando a dosagem com espécies de cedro, eucalipto e jatobá. A adubação foi interrompida assim que os tratamentos começaram a ser aplicados.

Os tratamentos foram o controle, sem rustificação química e mecânica; rustificação química com dose de 100 µmol L⁻¹ de metil jasmonato (MeJA); e a mecânica, por meio da movimentação pendular do caule das mudas, onde o equipamento descrito abaixo foi passado, nas duas direções na parte aérea das mudas.

A aplicação dos tratamentos ocorreu semanalmente com o regulador vegetal e as flexões caulinares ocorreram diariamente por 4 semanas aos 70, 100 e 130 dias após emergência (DAE) em mudas de eucalipto (de acordo com a determinação obtida no Capítulo I), do período de

novembro de 2019 a fevereiro de 2020. Concomitantemente, em mudas de jatobá a aplicação do metil jasmonato ocorreu aos 50, 80 e 110 DAE.

A solução foi constituída de metil jasmonato na concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, água deionizada e tensoativo não iônico (Agral-Syngenta®) na proporção de 30 mL em 100 L de água, de acordo com a recomendação do fabricante. O MeJA foi aplicado com pulverizador manual entre as 18h00min e 18h30min, devido às condições climáticas mais amenas naquele horário, a citar, temperaturas mais baixas, assim como umidade relativa do ar mais alta. A quantidade aplicada foi de 100 L ha^{-1} nas duas espécies, seguindo as recomendações da tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas.

O tratamento mecânico consistiu em 20 flexões caulinares diárias, com velocidade constante de $0,10 \text{ m s}^{-1}$ durante 4 semanas e nos mesmos horários segundo a metodologia de Volkweis et al. (2014) e o modelo proposto por Jacobs e Landis (2009).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, composto de três tratamentos, sete repetições e 30 mudas cada, totalizando 630 plantas por estágio de crescimento em *Eucalyptus urograndis*, enquanto que em *Hymenaea courbaril* as quantidades consistiram em três tratamentos, sete repetições e 16 mudas, visto que as sementes apresentaram limitação no processo germinativo e baixa uniformização das mudas resultando em menor número de plantas por estágio (336 plantas por estágio).

Ao longo do experimento realizaram-se os tratos culturais de acordo com a demanda das espécies, entre os quais, limpeza dos tubetes, aplicação de solução nutritiva e a irrigação por microaspersão em 5 turnos diários de rega de 10 minutos no verão nos horários de 06:45hs, 09:45hs, 12:45hs, 15:45hs e 17:45hs e em 3 turnos diários de 10 minutos durante o inverno às 09:00hs, 13:00hs e 17:00hs.

Às mudas de jatobá durante a germinação, foram alocados em tubetes e em local não irrigado e a irrigação ocorreu duas vezes ao dia, diminuindo o número de regas com o objetivo de evitar o apodrecimento das sementes.

A lâmina de água obtida foi igual a 4 mm, aproximadamente e determinada utilizando três pluviômetros distribuídos na área irrigada no ambiente protegido, onde as mudas foram produzidas. Os pluviômetros foram colocados na mesma bancada onde as bandejas com as mudas estavam localizadas, com o objetivo de simular a quantidade de água que chegava ao dossel dessas mudas. Passado o período de irrigação, os três volumes foram coletados a fim de obter a média da lâmina e esse procedimento foi repetido nos demais períodos que ocorreu a irrigação.

As análises foram realizadas ao início e término do período de rustificação e consistiram no cálculo dos incrementos em altura (IA) e em diâmetro (ID), massa seca aérea (MSPA) e radicular (MSR), área foliar (AF) e cálculo do índice de esbeltez (IE) de acordo com Ritchie et al. (2010).

Para a determinação da altura utilizou-se régua a partir da base do coleto até a gema apical enquanto o diâmetro foi mensurado com paquímetro digital, respeitando as recomendações para o tipo de germinação das espécies. Como o jatobá apresenta germinação epígea, a determinação do diâmetro foi realizada na inserção do cotilédone, enquanto para o eucalipto utilizou-se a base do coleto.

A área foliar e biomassa vegetal foram mensuradas antes e após a imposição dos tratamentos em 63 plantas, respeitando o delineamento imposto primeiramente, constituído de 3 tratamentos, 7 repetições com 3 plantas cada. A AF foi determinada diretamente a partir do medidor portátil modelo LI-3000^a (Li-Cor, USA). Posteriormente as mudas foram separadas em parte aérea e sistema radicular, prosseguindo com a quantificação da biomassa seca em estufa de circulação de ar a 65 °C, por 48 horas.

Os resultados obtidos foram testados a fim de confirmar a existência das pressuposições estatísticas, entre as quais, normalidade e homogeneidade dos dados. A primeira utilizou os testes de Kolmogorov-Smirnov, Cramér-von Mises, Anderson-Darling, Kuiper, Watson, Lilliefors, Shapiro-Wilk, enquanto que, a fim de comprovar se as classes foram homogêneas entre si, utilizou-se o teste de Bartlett. Mediante a confirmação, seguiu-se com a análise de variância e por fim, confirmada a significância, estes foram desdobrados e testados pelo teste de comparação de médias e nos estádios de crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eucalyptus urograndis

A fim de quantificar os incrementos entre os parâmetros avaliados e referenciar o ponto de partida do crescimento das mudas utilizou-se as médias obtidas no início do experimento e antes da aplicação dos tratamentos e ao final em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1- Médias das avaliações morfométricas em mudas de *Eucalyptus urograndis*

Estádio I								
	Ainicial	Afinal	Dinicial	Dfinal	AFinicial	MSPAinicial	MSRinicial	NFinicial
Controle	13,6	19,1	1,6	2,5	26,96	0,430	0,312	13,7
MeJA	14,1	18,4	1,6	2,3	24,04	0,407	0,428	13,9
Flexões	14,7	19,2	1,6	2,8	28,03	0,447	0,400	14,5
Estádio II								
	Ainicial	Afinal	Dinicial	Dfinal	AFinicial	MSPAinicial	MSRinicial	NFinicial
Controle	23,6	29,2	2,3	2,9	41,50	0,914	0,941	16,4
MeJA	26,6	31,8	2,3	2,9	55,53	0,968	0,696	16,5
Flexões	23,7	27,3	2,2	3,4	58,33	0,945	0,866	15,8
Estádio III								
	Ainicial	Afinal	Dinicial	Dfinal	AFinicial	MSPAinicial	MSRinicial	NFinicial
Controle	30,4	34,5	3,1	3,6	84,01	1,585	0,755	17,3
MeJA	30,6	34,3	3,0	3,6	95,56	1,659	0,781	18,1
Flexões	30,7	33,1	3,1	3,7	90,01	1,597	1,034	17,9

Altura inicial (Ainicial), Altura final (Afinal), Diâmetro inicial (Dinicial), Diâmetro final (Dfinal), Área foliar (AFinicial), Massa seca da parte aérea (MSPAinicial), Massa seca da raiz (MSRinicial) e Número de folhas (NFinicial).

Fonte: Rocha et al. (2021).

Tabela 2- Médias das avaliações morfométricas iniciais e finais em mudas de *Hymenaea courbaril*

Estádio I								
	Ainicial	Afinal	Dinicial	Dfinal	AFinicial	MSPAinicial	MSRinicial	NFinicial
Controle	29,9	36,1	4,2	4,7	175,61	2,516	1,166	8,2
MeJA	32,7	36,9	4,3	4,8	196,98	2,709	1,126	8,2
Flexões	30,1	31,8	4,1	4,5	183,08	2,626	0,974	7,6
Estádio II								
	Ainicial	Afinal	Dinicial	Dfinal	AFinicial	MSPAinicial	MSRinicial	NFinicial
Controle	35,0	39,8	4,7	5,3	180,34	3,332	1,436	9,6
MeJA	33,9	37,1	4,6	5,1	215,18	3,351	1,306	9,8
Flexões	31,1	33,2	4,6	4,8	149,76	2,598	1,275	8,9
Estádio III								
	Ainicial	Afinal	Dinicial	Dfinal	AFinicial	MSPAinicial	MSRinicial	NFinicial
Controle	31,4	36,0	4,7	4,9	182,13	3,381	2,144	9,9
MeJA	29,1	34,8	4,4	4,9	181,68	3,359	2,024	9,3
Flexões	32,2	33,9	4,5	4,9	161,99	3,070	2,224	10,6

Fonte: Rocha et al. (2021).

Ao se avaliar a altura em mudas de *Eucalyptus urograndis* em resposta aos tratamentos aplicados, não houve diferença ($P>0,05$) nas mudas do estágio I (70 DAE) cujos valores foram iguais a 5,38; 4,35; e 4,52 cm no tratamento controle, metil jasmonato e flexões caulinares. No estágio II, ou seja, as mudas submetidas aos tratamentos aos 100 DAE, a menor média foi observada em mudas submetidas as flexões caulinares. Nos tratamentos controle e aplicação de jasmonato as mudas apresentaram crescimento semelhante e por isso não diferiram ($P>0,05$) ao se avaliar o crescimento primário (Figura 1A) o mesmo ocorrendo com aquelas do estágio III (130 DAE).

Resultados semelhantes a rustificação mecânica foram observados por Lima et al. (2018) com mudas do híbrido *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (Cl 1528). Além disso, os autores acima citados concluíram que os tratamentos utilizados na pesquisa (aplicação de metil jasmonato e flexões caulinares) não foram exclusivos pois apresentaram respostas distintas, e que dependendo do objetivo e condições do plantio um pode ser mais indicado que o outro.

As mudas controle (Figura 1) apresentaram crescimento acelerado com médias de 5,60 e 4,03 cm naquelas pertencentes ao estágio II e III, respectivamente. Quando aplicado ao crescimento vegetal, o conceito de “trade-off” (SCHIELSTL et al., 2014) resulta no investimento de um processo às custas de outro e isso pode causar grandes impactos no crescimento e consequentemente na reprodução das plantas pois em situações adversas, os vegetais deixam de crescer para se defender.

No caso do estímulo mecânico, a tendência é que o crescimento em altura seja reduzido, (Figura 1) decorrente do estresse provocado por essa prática que ativa o sistema defensivo. No caso de estresse, os vegetais precisam interromper o crescimento, com a finalidade de alocar energia ao sistema de defesa e só retornam com as divisões celulares após a recuperação parcial ou completa da planta (TELEWSKI; PRUYN, 1998; COLEMAN et al., 2008; RAMOS et al., 2012). Diferente do estresse mecânico, a aplicação de metil jasmonato resulta em sintomas morfológicos mais sutis.

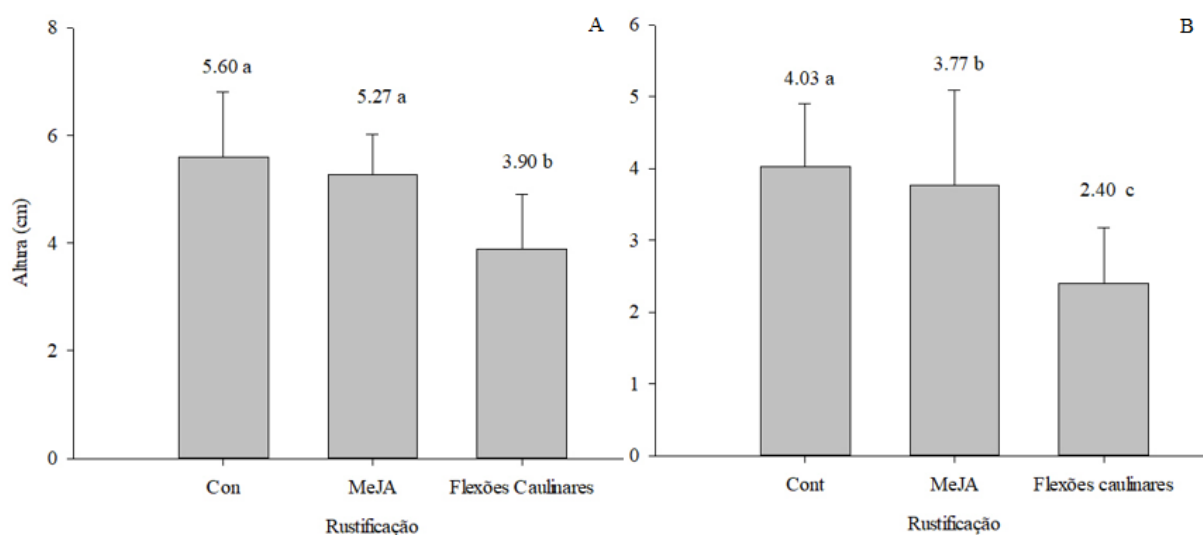


Figura 1- Incremento em altura em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e nos estádios de crescimento II (A) e III (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Quanto ao diâmetro, as maiores médias foram observadas nas mudas de *Eucalyptus urograndis* rustificadas por meio de flexões caulinares em todos os estádios de crescimento

(Figura 2). Esse processo rustificativo caracteriza-se por reduzir o crescimento em altura e favorecer o crescimento em diâmetro, o que é benéfico quando se estuda o estabelecimento de mudas a campo. Plantas jovens mais equilibradas entre o crescimento primário e secundário tendem a apresentar maior qualidade e sobrevivência após o plantio (KERN et al., 2005; CHEHAB; EICH; BRAAM, 2009; DRANSKI et al., 2013; ROBINSON et al., 2013; CADORIN et al., 2015).

Ademais, Binotto, Lúcio, Lopes (2010) concluíram que o volume radicular está diretamente relacionado ao diâmetro; logo, quanto maior o incremento diametral mais fotossintatos serão direcionados ao crescimento radicular e desenvolvimento daqueles órgãos.

Por outro lado, no estágio I (70 DAE) a menor média ao se avaliar o diâmetro foi observada com a aplicação de metil jasmonato. Este resultado pode ser justificado, em tese, pela quantidade de MeJA aplicada não ter sido suficiente em ocasionar um estresse significativo nas mudas com 70 dias de idade e por isso, o incremento não foi tão expressivo quanto nos demais tratamentos (Figura 2A). Uma justificativa a tal reação é o fato de que, tecidos jovens são mais responsivos ao estímulo mecânico e por isso os resultados desse estresse podem ser mais intensos (BIDDINGTON, 1986).

Cadorin et al. (2015) tratando mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud com metil jasmonato e flexões caulinares observaram que o tratamento controle apresentou maior crescimento em altura e menor incremento em diâmetro e, conseqüentemente o índice de esbeltez aumentou significativamente. No entanto, mudas tratadas mecanicamente por oito semanas apresentaram respostas inversas, externando o menor índice de esbeltez ($4,14 \text{ cm mm}^{-1}$).

Ao avaliar as mudas pertencentes ao estágio III (130 DAE) constatou-se que às médias do diâmetro foram aumentando à medida que os tratamentos foram impostos. O maior valor foi observado nas mudas estimuladas mecanicamente (Figura 2C). Claramente, esses resultados serão distintos em função dos estádios de crescimento, visto que, em cada fase a planta terá prioridades de alocação de energia distintas e por isso será afetada em maior ou menor intensidade pelos estresses.

Dessa maneira, apesar do diâmetro ter sido incrementado de maneira menos significativa no estágio I quando se compara aos outros tratamentos, nos estádios II e III esse crescimento foi menor ao se comparar as médias (0,69; 0,67; e 0,54 mm) das mudas tratadas com metil jasmonato (Figura 2). Sendo assim, quanto mais jovens as mudas, maior será o crescimento, tanto em altura quanto em diâmetro, o que foi definido no capítulo I desta pesquisa por meio da análise de crescimento.

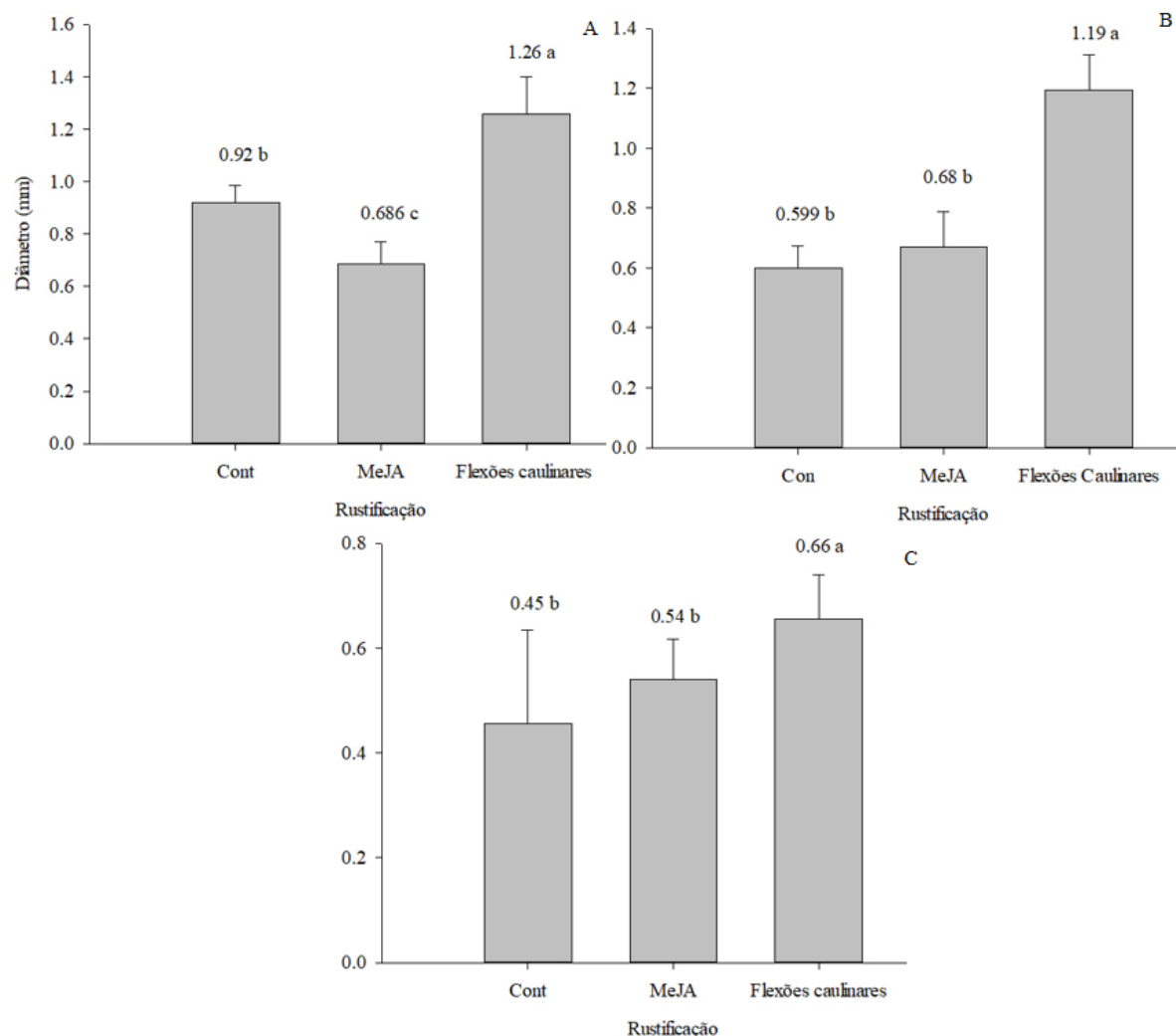


Figura 2- Incremento em diâmetro em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A), II (B) e III (C).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.
Fonte: Rocha et al. (2021).

O índice de esbeltez está ligado a estabilidade dos vegetais arbóreos, descrevendo que, quanto maior o valor, maior a instabilidade das plantas, favorecendo a quebra do fuste e baixa sobrevivência quando expedidas a campo (KLEIN et al., 2017). Costa et al. (2009) reportaram que os valores na espécie *Bertholletia excelsa* H. B. K. foram menores que 1, classificando-as como instáveis regulares.

No estágio III (130 DAE), as mudas não externaram diferenças ($P < 0,05$) com médias iguais a 9,59; 9,62; e 8,83 cm mm^{-1} em plantas controle, MeJA e flexões caulinares, respectivamente. Em mudas pertencentes aos estádios I e II, a rustificação mecânica resultou nas menores médias e por conseguinte em mudas mais equilibradas entre altura e diâmetro (Figura 3A).

Wendling e Dutra (2010) estudando mudas do gênero *Eucalyptus* recomendaram que a altura deve variar entre 15 e 25 cm, diâmetro maior que 2 mm e índice de robustez entre 7,1 a 11,9 cm mm^{-1} , caracterizando uma muda adequada e apta a expedição a campo. Segundo as recomendações descritas acima e no estágio I, as mudas tratadas com flexões caulinares não estariam nos padrões pré-estabelecidos.

Ainda, nos padrões do experimento, estas ainda não estariam aptas a serem levadas ao campo e por isso, de acordo com esta análise, não seria ideal rustificar mecanicamente mudas de eucalipto tão jovens e em fase inicial de formação. Entretanto, cabe destacar que, apesar de existirem estudos que predefinem esses valores, existem muitas especificidades relacionadas tanto a espécie quanto ao local que estas estão se desenvolvendo.

Mudas de eucalipto do estágio II (100 DAE) seguiram os mesmos padrões descritos acima, onde as rustificadas mecanicamente apresentaram uma redução de aproximadamente 24,79 % em comparação as mudas tratadas com metil jasmonato (Figura 3B).

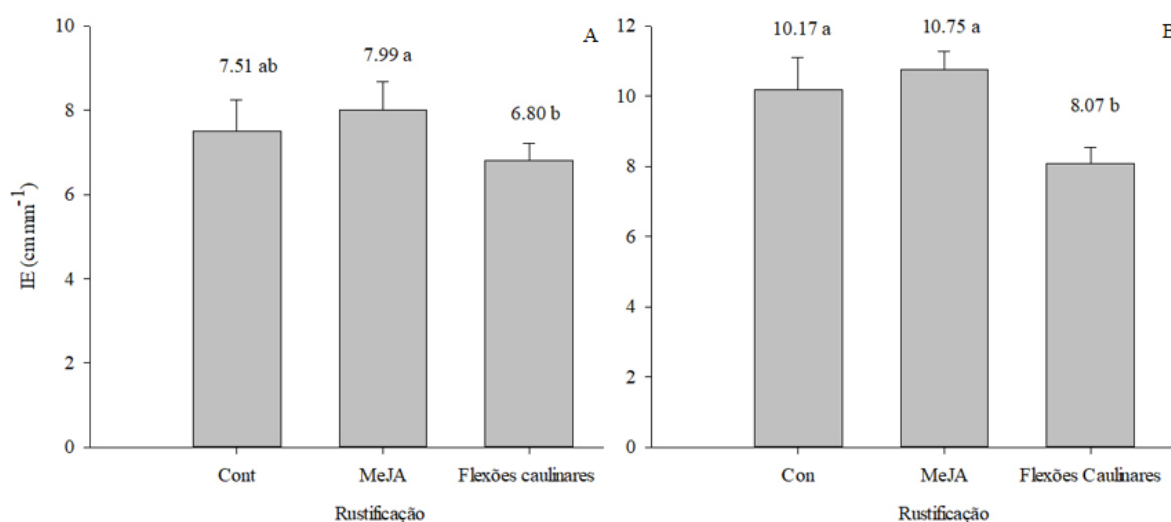


Figura 3- Índice de esbeltez (IE) em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e no estágio de crescimento I (A) e II (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Com relação a variável área foliar, não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre as mudas dos estádios I e II. Os valores foram de 41,01 (controle); 39,85 (MeJA); e 43,52 cm^2 (Flexões caulinares) nas do estágio I e 72,59; 75,48; 77,71 cm^2 nas do estágio II de *Eucalyptus urograndis* respectivamente. Nas do estágio III, a maior área foliar foi igual a 108,46 cm^2 mensurados nas mudas que receberam o tratamento com regulador vegetal (Figura 4).

Segundo Pereira-Netto (2019) a ação de reguladores vegetais pode proporcionar a rustificação das mudas através da modulação da senescência e abscisão foliar, embriogênese e

respostas defensivas dos vegetais, como forma de sinalização contra estresses bióticos e abióticos.

As flexões caulinares induziram a uma redução da área foliar, como consequência da fricção mecânica resultando na queda de folhas. Lima et al. (2018) obtiveram resultados que corroboram com os obtidos nesta pesquisa onde o processo de flexão caulinar resultou em desfolha em mudas de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (Cl 1528).

Adicionalmente, Telewski e Jaffe (1986) associaram a redução da biomassa aérea à maior perda de folhas e consequente redução da área foliar, pois, com a aplicação da rustificação mecânica em plantas de *Abies fraseri* (Pursh) Poir. as folhas e por conseguinte a massa seca aérea serão as maiores prejudicadas, já que estão sofrendo o efeito direto desta prática.

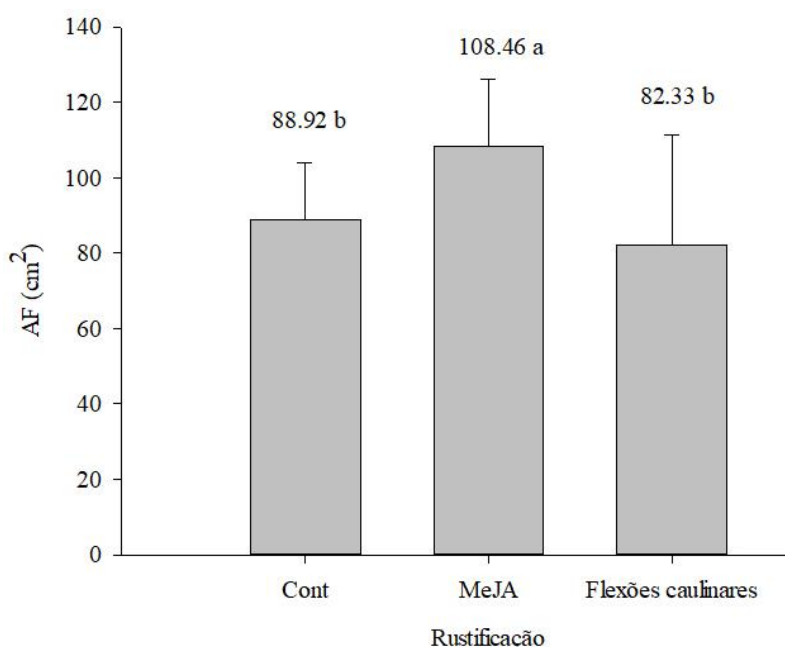


Figura 4- Área foliar (AF) em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e no estágio de crescimento III.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

As massas seca da parte aérea e radicular não diferiram ($P > 0,05$) em função dos tratamentos em mudas dos três estádios de crescimento em mudas de *Eucalyptus urograndis*. Os valores obtidos de MSPA foram 0,82; 0,71; e 0,84 g no estágio I (70 DAE), 1,56; 1,65; e 1,57 g no estágio II (100 DAE) e 1,96; 2,05; e 1,98 g no estágio III (130 DAE). Os valores da variável MSR foram 0,83; 0,95; e 0,95 g no estágio I enquanto que no estágio II os valores foram 0,69; 0,65; e 0,75 g e no estágio III 1,12; 1,39; e 1,23 g em resposta aos tratamentos controle, metil jasmonato e flexões caulinares, respectivamente.

Volkweis et al. (2014) reportaram que a MSPA não apresentou diferença ($P > 0,05$) em mudas de *Maytenus ilicifolia* [(Schrad.) Planch.] com altura menor que 15 cm e as médias ficaram próximas de 0,841 g tal como na pesquisa em questão (Tabela 1). Entretanto, mudas maiores do que 15 cm apresentaram incremento no mesmo parâmetro avaliado com a aplicação de 20 flexões caulinares.

Dranski et al. (2013) estudando mudas de *Pachystroma longifolium* (Ness) I. M. Johnst. observaram diferenças estatísticas ao avaliar a biomassa da raiz e aérea entre os tratamentos com a aplicação de ethephon na dose de 350 mg L⁻¹ a qual resultou em ganho de 45% da biomassa radicular enquanto que o tratamento de 600 mg L⁻¹ do mesmo produto resultou numa redução de 28% na parte aérea.

Hymenaea courbaril

O crescimento em altura seguiu a mesma tendência nos estádios I e II, onde o incremento foi decrescente do tratamento 1 (controle) até o tratamento 3 (flexões caulinares) em mudas de *Hymenaea courbaril*. Mudas não expostas aos estresses químico ou mecânico apresentaram crescimento rápido, conforme Figuras 5A e 5B.

As menores médias em ambos os estádios e espécie citada acima foram observadas em mudas submetidas a 20 flexões caulinares durante 1 mês. Em comparação às mudas controle, houve uma redução de 70,85 e 71,61 % nas dos estádios I e II, respectivamente (Figura 5).

A aplicação de metil jasmonato apresenta relação sinérgica com o etileno, induzindo sua produção. O inconveniente é que o etileno faz parte do grupo dos hormônios inibidores, ou seja, o seu aumento pode resultar em redução do crescimento por afetar negativamente a ação das auxinas ou mesmo pela reorganização de derivados da celulose, podendo desencadear uma redução do crescimento primário e um espessamento do caule, resultando em aumento do diâmetro. A redução da altura foi evidenciada em plantas mais jovens, assim como o diâmetro foi maior em mudas rustificadas quimicamente em comparação aquelas submetidas às flexões no caule (FAN et al., 1998).

Em mudas de jatobá pertencentes ao estágio III (110 DAE), a dose de 100 µmol L⁻¹ estimulou o crescimento em altura, superando o tratamento controle. Neste caso, as mudas com 110 dias não externaram sintomas de estresse pela aplicação do metil jasmonato e por isso não reduziram seu crescimento, pelo contrário foram estimuladas (Figura 5C). Cabe destacar que o metil jasmonato tem ação sinalizadora e regulatória e por isso pode afetar as características morfofisiológicas das plantas, comprometendo ou estimulando o seu crescimento (PEREIRA-NETTO, 2019).

Com a aplicação de jasmonato, Cadorin et al. (2015) obtiveram resultados distintos e observaram redução de 42% na altura em mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud tratadas por 4 e 8 semanas em comparação às mudas controle. Cabe destacar que, a imposição dos tratamentos no trabalho daqueles autores ocorreu quando as mudas atingiram 15 cm de altura e diâmetro igual ou maior que 3,22 mm.

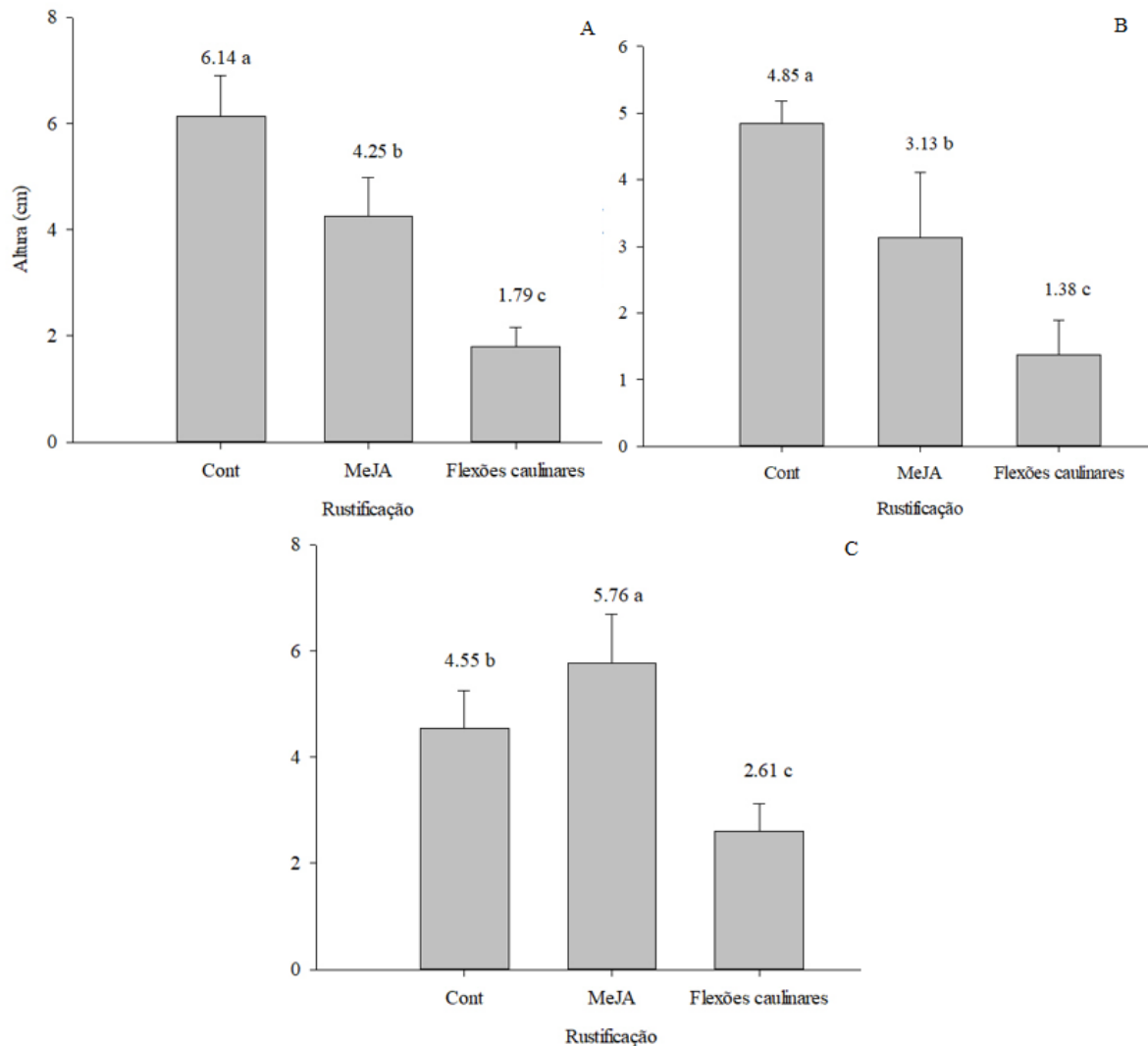


Figura 5- Incremento em altura em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e nos estádios I (A), II (B) e III (C).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Nas mudas de jatobá com 50 (Estádio I) e 80 (Estádio II) DAE o crescimento secundário foi inverso. O diâmetro foi reduzido na proporção que as mudas foram impostas ao estresse mecânico, por meio de flexões caulinares. Ademais, essa redução foi evidenciada tanto no tratamento mecânico quanto no químico. Dessa maneira é interessante ressaltar que as plantas serão afetadas de maneira peculiar, sendo influenciadas por características internas e externas.

O jatobá é uma espécie nativa da região Amazônica, com crescimento lento. E os resultados obtidos com mudas novas nos diversos estádios indicaram uma intensificação do estresse pelos tratamentos impostos tanto com a aplicação de MeJA como com as flexões caulinares (Figura 6A e 6B).

Resultados contrários aos obtidos na pesquisa foram observados por Kern et al. (2005) que trabalhou com 7 híbridos de *Populus trichocarpa* (Torr. & A. Gray) e *Populus deltoides* (Bartr. ex Marsh) e 20 flexões caulinares diárias por 80 dias, nestes observaram redução da altura e biomassa aérea e aumento do diâmetro.

A redução do diâmetro observada em mudas de jatobá dos três estádios de crescimento pode ser justificada pela ação do etileno, visto que, este hormônio interage, antagonicamente com auxina e promove a redução do crescimento, além disso, pode atuar no espessamento das regiões caulinares por meio da reorganização de microtubulos e microfibrilas de celulose invertendo a posição do crescimento transversal ao longitudinal, ou seja, ao mesmo tempo que haverá o encurtamento do caule, ocorrerá o aumento da espessura do mesmo (COLLI; PURGATTO, 2019).

Adicionalmente, é importante destacar que, apesar dessa redução ser resultado dos estímulos rustificativos, em condições normais, a interação do etileno com auxina ocorrerá de forma temporária e à planta retoma seu crescimento normal o que irá culminar no desenvolvimento dessas plantas após o plantio a campo (COLLI; PURGATTO, 2019).

Entretanto, é importante destacar que a resposta das plantas não é uma regra e por isso terá particularidades em função dos estádios de crescimento das mudas, suscetibilidade e tolerância a estresses, regulação dos diversos hormônios envolvidos no crescimento e desenvolvimento, suas interações (sinérgicas ou antagônicas) com os demais hormônios, tal como o clima e condições edáficas.

No estágio III, as mudas de *Hymenaea courbaril* apresentaram aumento do diâmetro à medida que foram rustificadas com o metil jasmonato e com flexões caulinares ao comparar com o tratamento controle. Ao comparar mudas do tratamento controle com aquelas submetidas a aplicação de metil jasmonato houve um aumento de 85,56% no diâmetro, enquanto que, entre mudas do tratamento controle e as submetidas as flexões caulinares houve um acréscimo de 48,14 %, conforme Figura 6C.

Resultados semelhantes foram obtidos por Volkweis et al. (2014) em mudas de *Maytenus ilicifolia* [(Schrad.) Planch.] tratadas através das flexões caulinares nas frequências de 0, 5, 10, 20 e 40 onde a altura reduziu e o diâmetro aumentou.

Mudas estimuladas mecanicamente apresentam redução no crescimento primário compensado pelo aumento em diâmetro (KERN et al., 2005; MOREL et al., 2012; DRANSKI et al., 2013; VOLKWEIS et al., 2014; CADORIN et al., 2015). Isso ocorre pelo mecanismo de compensação vegetal. Esse mecanismo em situações estressantes, interrompe o crescimento em altura e investe em estratégias que irão melhorar a sobrevivência das plantas. Tais estratégias incluem o aumento da área de exploração das raízes e o aumento de substâncias relacionadas a defesa vegetal, além da produção de compostos envolvidos na estruturação das plantas que atuam na reorganização da celulose presente nas células e acúmulo na parede celular, tal como pela síntese de lignina, resultando em espessamento da região caulinar e radicular (VANHOLME et al., 2010; BLUMWALD; MITTLER, 2017).

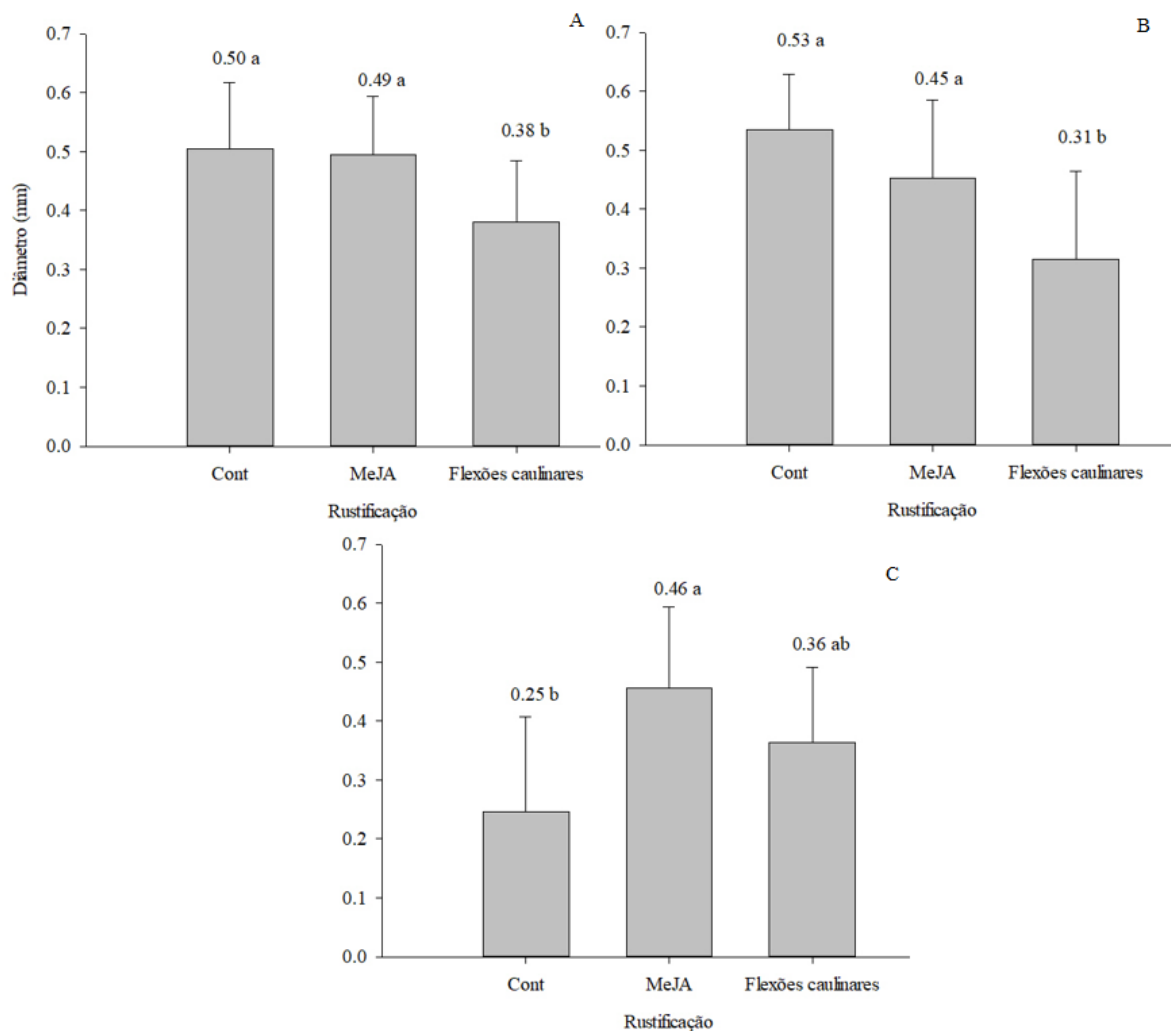


Figura 6- Incremento em diâmetro em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e nos estádios I (A), II (B) e III (C).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

O índice de esbeltez (h/d) expressa o equilíbrio entre crescimento primário e secundário e ao se avaliar não externou diferença ($P>0,05$) em mudas de *Hymenaea courbaril* oriundas dos três estádios de crescimento em resposta aos tratamentos rustificativos, com médias iguais a 7,72; 7,70; 7,06 cm mm^{-1} em mudas com 50 DAE, 7,58; 7,33; e 6,95 cm mm^{-1} em mudas com 80 DAE e 7,27; 7,12; e 6,89 cm mm^{-1} em mudas com 10 DAE, respectivamente.

A área foliar (AF) foi reduzida com o tratamentos mecânico em todos os estádios de crescimento em mudas de *Hymenaea courbaril* (Figura 7). Tal resultado pode refletir o efeito da fricção do equipamento diretamente sobre às folhas o qual iniciaria o processo de abscisão foliar devido a intensidade do estresse e constância na imposição do tratamento, que ocorreu diariamente. O impacto da redução da área foliar é a redução da área fotossinteticamente ativa, que culminará em menor produtividade. Entretanto, isso poderá interferir na rusticidade das mudas, contribuindo na maior sobrevivência a campo.

Em todos os estádios avaliados, as mudas não rustificadas apresentaram as maiores médias e no estágio I e II, o tratamento químico não diferiu destas ($p>0,05$) para a determinação da área foliar. Diferente do resultado mencionado anteriormente, Cadorin et al. (2021) relataram aumento da área foliar à medida que aplicação de jasmonato foi realizada e a maior média foi observada com aplicação do ácido por 8 semanas (63,94 cm^2) sem, no entanto, diferir do tratamento controle.

No estágio III, houve redução do tratamento controle em relação as mudas tratadas com metil jasmonato, coincidindo com a redução da clorofila *a* e *b* nos mesmos tratamentos e estágio (Capítulo III). Pesquisas desenvolvidas anteriormente com metil jasmonato tem resultado em abscisão foliar e redução dos pigmentos clorofilianos externados por meio de clorose (SEMBDNER; PARTHIER, 1993).

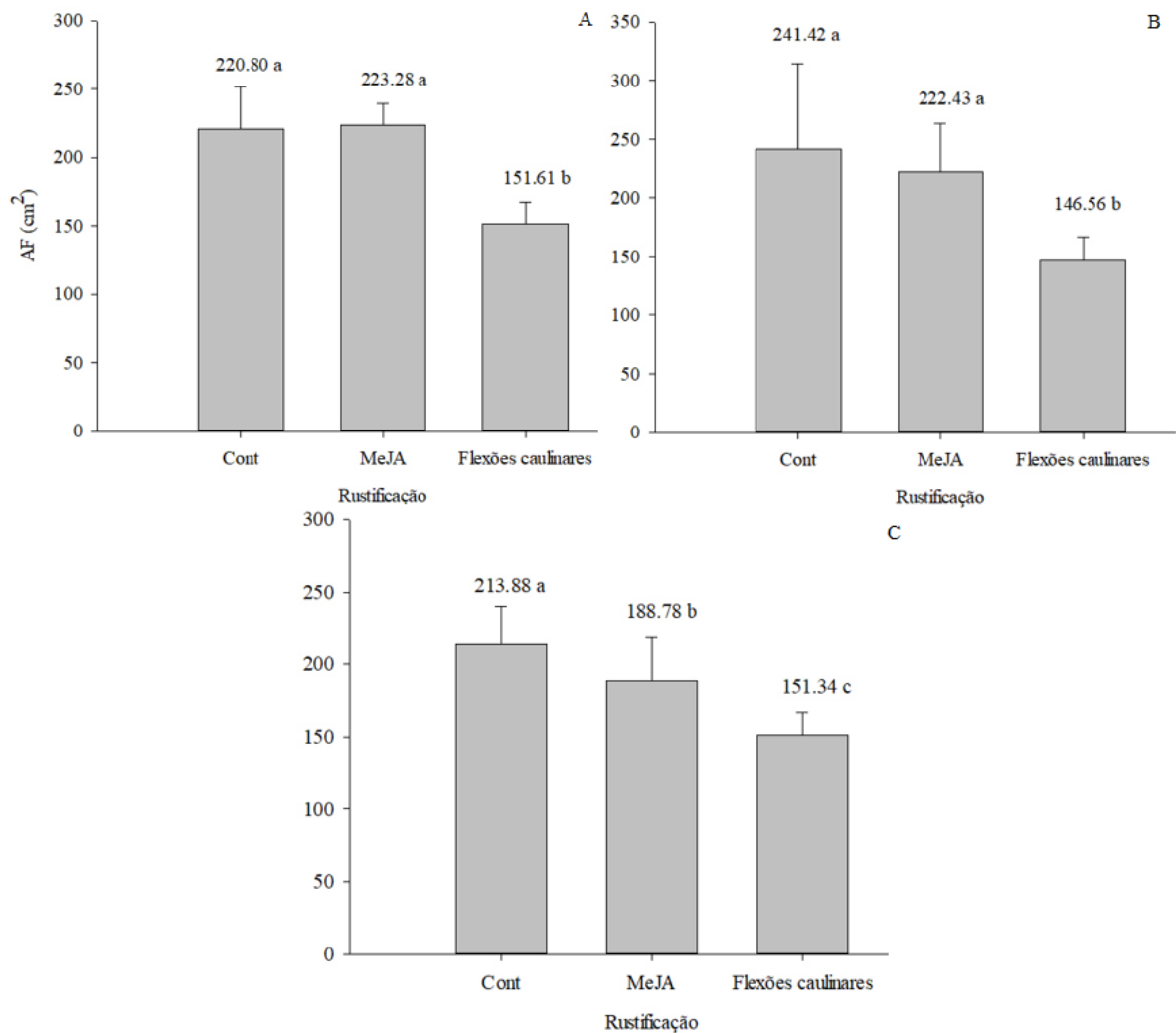


Figura 7- Área foliar (AF) em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e nos estádios I (A), II (B) e III (C).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Em mudas de *Hymenaea courbaril*, apenas no estágio II, os tratamentos externaram diferenças ($P > 0,05$) em função dos tratamentos rustificativos e as médias foram reduzidas na aplicação do método mecânico para determinação da massa seca da parte aérea. Esse resultado coincidiu com a redução do número de folhas, assim como a redução na área fotossinteticamente ativa (Figura 8). Quanto menor a produção fotossintética, menor será a conversão em biomassa e, em situação de estresse imposto, que neste caso, foi o método mecânico é previsível (MAJEROWICZ, 2019).

Kern et al. (2005) avaliando híbridos de *Populus trichocarpa* (Torr. & A. Gray) e *Populus deltoides* (Bartr. ex Marsh) submetidos a 20 flexões caulinares diárias observaram redução da altura e da massa seca aérea ao comparar com as mudas não rustificadas. Volkweis

et al. (2014) reportaram diferenças nos efeitos da frequência de flexões caulinares por 30 dias em função da altura da muda.

Apesar de poucos estudos levarem em consideração a determinação da biomassa vegetal aérea, este parâmetro foi mencionado por Gomes e Paiva (2011) como um ótimo indicador de rusticidade das mudas, assim como pode ser correlacionado com a sobrevivência das mesmas a campo.

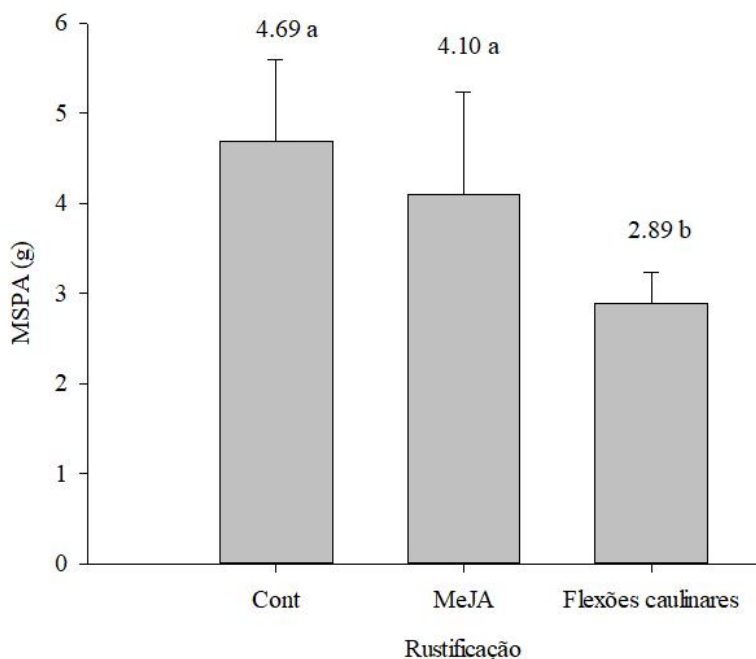


Figura 8- Massa seca aérea (MSPA) em mudas do estágio II de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A massa seca da raiz não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos em mudas com 50 DAE cujos valores variaram de 2,8 a 2,4 g. Mudas categorizadas no estágio II (80 DAE) que receberam MeJA apresentaram a maior média. Esses resultados advêm da translocação de reservas e fotoassimilados das folhas até as raízes, pois à medida que a biomassa aérea foi reduzida a radicular aumentou demonstrando que, em situações onde a muda passe por desequilíbrio hormonal, o crescimento será redirecionado para os tecidos radiculares, como estratégia de evitar perdas nos produtos da fotossíntese.

Oro et al. (2012) com mudas de *Cariniana estrellensis* [(Raddi) Kuntze] tratadas com doses progressivas de ethephon de 0, 100, 200 e 300 mg (i.a) L^{-1} ao avaliar a MSPA obtiveram a maior média em mudas controle. De maneira geral, mudas tratadas com ethephon podem estimular a queda de folhas, dessa maneira, os resultados obtidos já eram esperados. Com a MSR não houve diferença entre os tratamentos e aqueles autores justificaram que, segundo

Colli e Purgatto (2019) a inibição de crescimento em raízes e caule ocorreu de maneira mais rápida e por isso essas variações muitas vezes não são detectadas e o crescimento é rapidamente restabelecido.

Pelos resultados grafados nas figuras 9A e 9B, a aplicação de flexões no caule foi muito estressante em mudas de *Hymenaea courbaril*, já que, tanto a biomassa aérea quanto a radicular foram reduzidas, reforçando a hipótese de que, enquanto a planta se defende contra situações extremas, o crescimento é paralisado.

Em mudas do estágio II os decréscimos acima mencionados foram menos significativos, justificado pela idade das mudas ao iniciar o processo rustificativo. Nesta pesquisa e nestas espécies avaliadas, plantas jovens foram mais drasticamente afetadas quando expostas a estresses físicos. Em mudas do estágio III (Figura 9B) os maiores incrementos foram computados em mudas não submetidas a perturbação mecânica ou química.

Cadorin et al. (2015) realizando os tratamentos rustificativos (controle, flexões caulinares às 4 e 8 semanas e a aplicação de jasmonato no mesmo período citado anteriormente), observaram uma redução de aproximadamente 22% na MSPA do primeiro ao último tratamento; em contrapartida, a MSR não externou diferença estatística em função dos tratamentos com valores que variaram de 1,81 a 1,53 g.

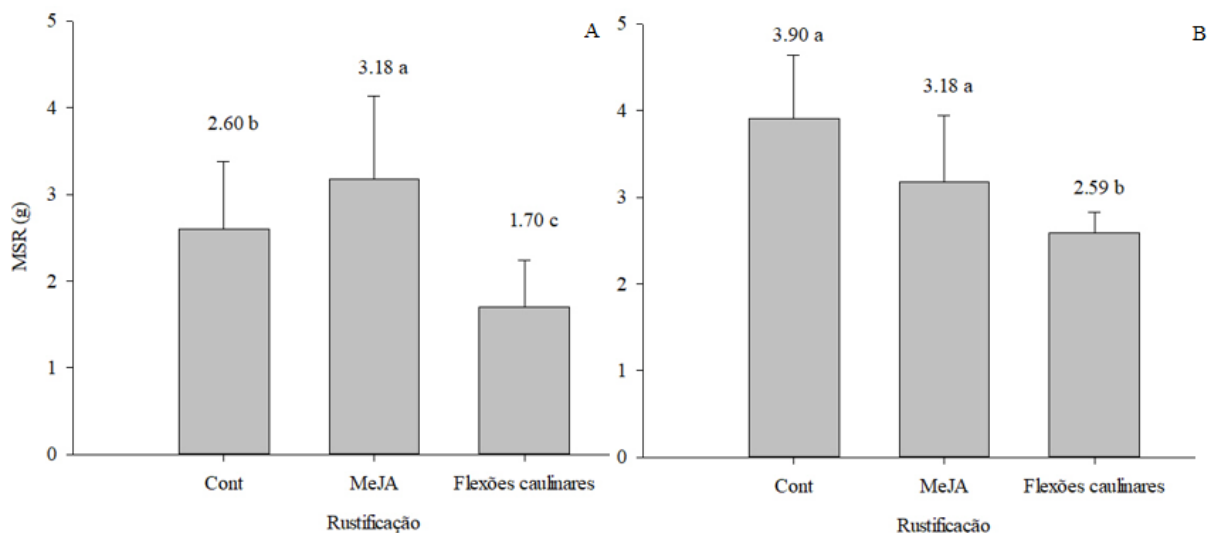


Figura 9- Massa seca da raiz (MSR) em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e dos estádios II (A) e III (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Os tratamentos mecânico e químico podem ser recomendados com o intuito de promover a rustificação de mudas na fase de viveiro e promover essa transição a campo, pois

resultam em respostas e alterações morfométricas distintas e interessantes quando se avalia os parâmetros de qualidade das mudas.

O método rustificativo mecânico é mais laborioso enquanto a aplicação de reguladores vegetais surge como uma possibilidade de moldar os parâmetros de qualidade, assim como, reduzir as atividades realizadas no manejo de mudas florestais. Apesar das vantagens, o método químico pode ser limitante quanto a sua aquisição, visto que seu preço não é acessível a todos os consumidores. Ainda, desvendar padrões de qualidade e suas correlações com a sobrevivência das mudas a campo continua sendo um grande desafio. Por isso novas pesquisas precisam ser realizadas objetivando tornar as mudas qualificadas para cada local através do princípio de “muda alvo”.

CONCLUSÕES

A flexão caulinar pode ser recomendada como técnica rustificativa quando se avalia os parâmetros morfométricos em mudas de *Eucalyptus urograndis*, em razão de resultar na produção de mudas mais equilibradas em função do índice esbeltez. O estágio III seria o mais indicado, baseado nos parâmetros morfométricos avaliados e maior respostas das mudas nesse período de imposição dos tratamentos.

Em mudas de *Hymenaea courbaril* todos os parâmetros morfométricos avaliados sofreram redução após a imposição das flexões caulinares. Por exemplo, à variável altura externou decréscimos iguais a 70,85 e 71,55% em mudas dos estádios I e II do tratamento controle às mudas rustificadas mecanicamente. Nesse caso, o estágio de desenvolvimento que externou resultados mais satisfatórios foi o II e por isso, seria o mais indicado ao se avaliar a aplicação da rustificação. O tratamento químico poderia ser utilizado para fins de rustificação nesta espécie, visto que, foi eficiente em modular positivamente características de qualidade avaliadas neste capítulo, a citar, incremento da biomassa radicular e aérea, assim como na área foliar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMAGRO, L.; BRU, R.; PUGIN, A.; PEDREÑO, M. A. Early signaling network in tobacco cells elicited with methyl jasmonate and cyclodextrins. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, IN, v. 51, p. 1-9, fev. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0981942811002890>>. Acesso em: 21 de fev. 2020.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de. M.; SPAROVEK, G. K Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, CH, v. 22, n. 6, p. 711-728, jan. 2013. Disponível em: <http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/Alvares_et al_2014.pdf>. Acesso em: 16 de abr. 2019.
- ARAÚJO, M. M.; NAVROSKI, M. C.; SCHORN, L. A. Caracterização e análise de atributos morfológicos indicadores da qualidade de mudas em viveiro florestal. In: ARAÚJO, M. M. et al. **Produção de sementes e mudas: um enfoque na silvicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2018, cap. 16, p. 347-365.
- BELCHÍ-NAVARRO, S.; ALMAGRO, L.; LIJAVETZKY, D.; BRU, R.; PEDREÑO, M. A. Enhanced extracellular production of transresveratrol in *Vitis vinifera* suspension cultured cells by using cyclodextrins and methyljasmonate. **Plant Cell Reports**, Berlin, DE, v. 31, n. 1, p. 81-89, jan. 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00299-011-1141-8>>. Acesso em: 21 de fev. 2020.
- BOSCHETTI, W. T. N.; PAES, J. B.; OLIVEIRA, J. T. da. S.; DUDECKI, L. Características anatômicas para produção de celulose do lenho de reação de árvores inclinadas de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Cruz das Almas, BA, v. 50, n. 6, p.459-467, jun. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2015000600459>. Acesso em: 06 de out. 2019.
- BIDDINGTON, N. L. The effects of mechanically- induced stress in plants: a review. **Plant Growth Regulation**, CH, v. 4, n. 1, p. 103-123, out. 1986. Disponível: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00025193>>. Acesso em: 13 de set. 2021.
- BINOTTO, A. F.; LÚCIO, A. D.; LOPES, S. J. Correlations between growth variables and the Dickson quality index in forest seedling. **Revista Cerne**, Lavras, MG, v. 16, p. 457-464, out. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/294476827_Correlations_between_growth_variables_and_the_Dickson_quality_index_in_forest_seedlings>. Acesso em: 09 de dez. 2020.
- BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Estresse abiótico. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 24, p.731-759.
- CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; COUTINHO, P. W. R.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. de. M. Metil jasmonato e flexões caulinares na rustificação e crescimento inicial de mudas de *Cordia trichotoma*. **Cerne**, Lavras, MG, v. 21, n. 4, p. 657-664, mai./dez. 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cerne/v21n4/2317-6342-cerne-21-04-00657.pdf>>. Acesso em: 09 de jun. 2017.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M.; DRANSKI, J. A. L.; COUTINHO, P. W. R. Morphometric changes and post-planting growth as a response to hardening on *Tabebuia roseo-alba* seedlings. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 51, n. 3, p. 539-546, jul/set 2021. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/67358/43967>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CARVALHO, A. M.; NAHUIZ, M. A. R. Valorização da madeira do híbrido *Eucalyptus grandis* x *urophylla* através da produção conjunta de madeira serrada em pequenas dimensões, celulose e lenha. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, SP, v. 59, n. 1, p. 61-76, jun. 2001. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr91/cap04.pdf>>. Acesso em: 23 de jan. 2018.

CARVALHO, P. E. R. Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*). In: _____. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2003. p. 599-607.

CHEHAB, E. W.; EICH, E.; BRAAM, J. Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechano-stimulation. **Journal of Experimental Botany**, UK, v. 60, n. 1, p. 43-56, jan. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/23669242_Thigmomorphogenesis_A_complex_plant_response_to_mechano-stimulation>. Acesso em: 17 de dez 2020.

CLOSE, D. C. A review of ecophysiologically-based seedling specifications for temperate Australian eucalypt plantations. **New Forests**, NL, v. 43, n. 5-6, p. 739-753, abr. 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11056-012-9321-0>>. Acesso em: 21 de dez. 2020.

COLEMAN, H. D.; SAMUELS, A. L.; GUY, R. D.; MANSFIELD, S. D. Perturbed lignification impacts tree growth in hybrid poplar - A function of sink strength, vascular integrity, and photosynthetic assimilation. **Plant Physiology**, USA, v. 148, n. 3, p. 1229-1237, nov. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2577275/>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

COLLI, S.; PURGATTO, E. Etileno. In: KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. Cap. 13, p. 253-274.

COSTA, J. R.; CASTRO, A. B. C.; WANDELLI, E. V.; CORAL, S. C. T.; SOUZA, S. A. G. Aspectos silviculturais da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) em sistemas agroflorestais na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, Manaus, AM, v. 39, n. 4, p. 843-850, ago./mar. 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/aa/v39n4/v39n4a13.pdf>>. Acesso em: 15 de mar. 2021.

COSTA, W. S.; SOUZA, A. L. de.; SOUZA, P. B. de. Jatobá–*Hymenaea courbaril* L. In: _____. **Ecologia, manejo, silvicultura e tecnologia de espécies nativas da Mata Atlântica**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011, p. 1-18.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M.; JACOBS, D. F. Effect of ethephon on hardening of *Pachystroma longifolium* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 37, n. 3, p. 401-407, mai./jun. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622013000300003>. Acesso em: 20 de jan. 2018.

FAN, X; MATHEIS, J. P; FELLMAN, J. K. A role for jasmonates in climacteric fruit ripening. **Planta**, DE, v. 204, n. 1, p. 444-449, mar. 1998. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/23385188>>. Acesso em: 13 de set. 2021.

GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. de. **Viveiros Florestais**: propagação sexuada. Viçosa: UFV, 2011. 116 p.

GONÇALVES, K. S.; SOUSA, A. P.; VELINI, E. D. S. Aplicação de reguladores vegetais e de fosfito de potássio em mudas de eucalipto submetidas à deficiência hídrica. **Irriga**, Botucatu, SP, v. 20, n. 2, p. 273-285, abr./jun. 2015. Disponível em: <<http://irriga.fca.unesp.br/index.php/irriga/article/view/989>>. Acesso em: 04 de abr. 2018.

GRATTAPAGLIA, D.; KIRST, M. Eucalyptus applied genomics: from gene sequences to breeding tools. **New Phytologist**, UK, v. 179, n. 1, p. 911-929, ago. 2008. Disponível em: <<https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2008.02503.x>>. Acesso em: 07 de out. 2019.

JACOBS, D.F.; LANDIS, T.D. Hardening. In: DUMROESE, R.K.; LUNA, T.; LANDIS, T.D. (Eds.). **Nursery manual for native plants**: Guide for tribal nurseries. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. cap 12, p. 217-228.

JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to Bryonia dioica. **Planta**, DE, v. 114, n. 2, p. 143-156, mar./jul, 1973. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00387472>>. Acesso em: 17 de dez. 2020.

KERN, A.K.; WERS, W.F.; TELEWSKI, W.F.; KOEHLER, L. Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and aboveground biomass of hybrid poplars. **Tree Physiology**, UK, v. 25, n. 10, p. 1243-1251, nov. 2005. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/7682452_Mechanical_perturbation_affects_conductivity_mechanical_properties_and_aboveground_biomass_of_hybrid_poplars>. Acesso em: 18 de dez. 2020.

KLEIN, D. R.; HESS, A. F.; KREFTA, S. M.; VIEIRA FILHO, M. D. H.; CIARNOSCKI, L. D.; COSTA, E. A. Relações morfométricas para *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em Santa Catarina. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 47, n. 4, p. 501-512, dez./out. 2017. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/49667>>. Acesso: 13 de set. 2021.

LIMA, P. R.; MALAVASI, U. C.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. de M.; BORSOI, A.; ECCO, M. Estímulos químico e mecânico na rustificação de mudas de eucalipto. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 65, n. 5, p. 424-432, set/out, 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/328726153_Estimulos_quimico_e_mecanico_na_rustificacao_de_mudas_de_eucalipto>. Acesso em: 21 de fev. 2020.

LUCYSZYN, N.; LUBAMBO, A. F.; MATOS, K. F.; MARVILLA, I.; SOUZA, C. F.; SIERAKOWSKI, M. R. Specific modification of xyloglucan from *Hymenaea courbaril* seeds. **Material Science and Engineering C**, NE, v. 29, n. 1, p. 552-558, mar. 2009. Disponível em: <<https://www.scimagojr.com/journalsearch.php?q=17813&tip=sid>>. Acesso em: 20 de out. 2021.

MAJEROWICZ, N. Fotossíntese. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. cap. 5, p. 253-274.

MOREL, P.; CRESPEL, L.; GALOPINC, G.; MOULIAD, B. Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. **Scientia Horticulturae**, NL, v. 135, n. 1, p. 59-64, fev./dez. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442381100639X>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

NITSCHKE, P. R.; CARAMORI, P. H.; RICCE, W. da S.; PINTO, L. F. D. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina, Instituto Agrônomo do Paraná, 2019. 216p.

ORO, P.; VOLKWEIS, C. R.; NEIVERTH, W.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de M. Aplicação de regulador vegetal na aclimação de mudas de *Cariniana estrellensis*. **Cultivando o saber**, Cascavel, PR, v. 5, n. 4, p. 103-112, mai./out. 2012. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/511cc1e627012.pdf>. Acesso em: 27 de jul. 2017.

PEREIRA-NETTO, A. B. Brassinoesteroides, Jasmonatos, Ácido salicílico e poliaminas. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. cap. 14, p. 276-285.

PIETERSE, C. M.; VAN DER DOES, D.; ZAMIOUDIS, C.; LEON-REYES, A.; VAN WEES, S. C. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, USA, v. 28, p. 489-521, mai. 2012. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>>. Acesso em: 30 de jul. 2019.

RAMOS, P.; LE PROVOST, G.; GANTZ, C.; PLOMION, C.; HERRERA, H. Transcriptional analysis of differentially expressed genes in response to stem inclination in young seedlings of pine. **Plant Biology**, DE, v. 14, n. 6, p. 923-933, mai. 2012. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1438-8677.2012.00572.x>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Assessing plant quality. In: LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. (Eds.). **The container tree nursery manual: Seedling Processing, Storage, and Outplanting**. Washington, USDA: Forest Service, 2010. cap. 2 p. 18-81.

ROBINSON, S.; BURIAN, A.; COUTURIER, E.; LANDREIN, B.; LOUVEAUX, M.; NEUMANN, E. D.; PEAUCELLE, A.; WEBER, A.; NAKAYAMA, N. Mechanical control of morphogenesis at the shoot apex. **Journal of Experimental Botany**, UK, v. 64, n. 1, p. 4729-4744, nov./ago. 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jxb/article/64/15/4729/461186>>. Acesso em: 13 de set. 2021.

SCHIESTL, F. P.; HEATHER, K.; BIGLER, L.; COZZOLINO, S.; DESURMONT, G. A. Herbivory and floral signaling: phenotypic plasticity and tradeoffs between reproduction and indirect defense. **New Phytologist**, UK, v. 203, n. 1, p. 257-266, jul./mar. 2014. Disponível em:

<<https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/nph.12783>>. Acesso em: 21 de fev. 2020.

SEMBDNER, G.; PARTHIER, B. The Biochemistry and the Physiological and Molecular Actions of Jasmonates. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular**, USA, v. 44, n. 1, p. 569-589, jun. 1993. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.pp.44.060193.003033>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

TELEWSKI, F. W.; JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: field and laboratory studies of *Abies fraseri* in response to wind or mechanical perturbation. **Physiologia Plantarum**, UK, v. 66, n. 1, p. 211-218, fev. 1986. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.1986.tb02411.x>>. Acesso em: 08 de jun. 2021.

TELEWSKI, F. W.; PRUYN, M. Thigmomorphogenesis: a dose response to flexing in *Ulmus americana* seedlings. **Tree Physiology**, UK, v. 18, n. 1, p. 65-68, jan./nov. 1998. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/10844015_Thigmomorphogenesis_A_dose_response_to_flexing_in_Ulmus_america_seedlings/link/53f4db540cf2fcea66eac72/download>. Acesso em: 08 de jun. 2021.

VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. “Lignin biosynthesis and structure,” **Plant Physiology**, USA, v. 153, n. 3, p. 895-905, jul. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/44601945_Lignin_Biosynthesis_and_Structure/link/0912f50c5f87751d8d000000/download>. Acesso em: 19 de out. 2021.

VOLKWEIS, C. R.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 2, p. 339-342, abr./jun. 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/14571/pdf>>. Acesso em: 08 de ago. 2017.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F. Produção de mudas de eucalipto por estaquia e miniestaquia. In:_____. **Produção de mudas de eucalipto**. 1. ed. Colombo: Embrapa florestas, 2010. p. 50-80.

CAPÍTULO III: ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS INDUZIDAS PELA RUSTIFICAÇÃO EM MUDAS DE *Eucalyptus urograndis* E *Hymenaea courbaril* L. EM FUNÇÃO DOS ESTÁDIOS DE CRESCIMENTO

RESUMO

Como as plantas são submetidas a inúmeros estresses, a rustificação surge como uma estratégia interessante a fim de melhorar a qualidade das mudas nos viveiros florestais, melhorando a sobrevivência a campo. Assim, o objetivo da pesquisa foi evidenciar alterações fisiológicas nas plantas, tal como a sobrevivência das mesmas a campo resultante da aplicação de metil jasmonato e flexões caulinares em função dos estádios de crescimento em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril*. O experimento foi conduzido em Marechal Cândido Rondon, no oeste do Estado do Paraná no Campus da Unioeste. Neste ensaio foram utilizadas mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L. e os tratamentos foram constituídos de aplicações semanais de metil jasmonato e imposição diária de flexões caulinares, além, do tratamento controle. Após a imposição dos tratamentos, foi realizada a quantificação da rigidez flexural, lignina nos caules e raízes, compostos fenólicos nas folhas e raízes, perda de eletrólitos nas raízes e pigmentos clorofilianos. Em mudas de *Eucalyptus urograndis* com 100DAE e nas 3 distâncias de arraste após a quantificação da rigidez flexural, as maiores médias foram observadas em mudas submetidas aos tratamentos químico e mecânico coincidindo com o aumento do teor de lignina no caule. Nas raízes da mesma espécie, a quantificação da perda de eletrólitos variou, substancialmente em função dos estádios de crescimento, visto que, no estágio I, as médias diminuíram com a aplicação dos tratamentos de rustificação, enquanto que, na fase final de crescimento, o MeJA aplicado resultou em incrementos de 40,97% em relação as mudas controle. Em mudas de *Hymenaea courbaril* os compostos fenólicos quantificados nas folhas foram aumentados com a aplicação dos dois tratamentos em mudas pertencentes ao estágio I. Tanto para o híbrido, quanto para a espécie, as mudas a partir do estágio II seriam as mais recomendadas, por estarem mais preparadas fisiologicamente para completar seu desenvolvimento em ambiente protegido e melhor tolerância nas condições de campo. Ainda, na fase de campo, as plantas foram submetidas a muitos estresses, que culminaram na perda total das plantas pertencentes ao estágio I em mudas de eucalipto.

Palavras-chave: Crescimento. Lignina. Metil jasmonato. Rigidez flexural. Rustificação.

CHAPTER III: PHYSIOLOGICAL CHANGES INDUCED BY HARDENING IN SEEDLINGS OF *Eucalyptus urograndis* AND *Hymenaea courbaril* L. DUE TO THE GROWTH STAGE

ABSTRACT

Plants are subjected to numerous stresses, hardening appears as an interesting strategy in order to improve the quality of seedlings in forest nurseries, improving survival in the field. Thus, the objective of the research was to evidence physiological changes in plants and their survival in the field resulting from the application of methyl jasmonate and stem bending as a function of the growth stages in *Eucalyptus urograndis* and *Hymenaea courbaril* seedlings. The experiment was conducted in Marechal Cândido Rondon, in the west of the State of Paraná on the Unioeste Campus. In this trial, *Eucalyptus urograndis* and *Hymenaea courbaril* L. seedlings were used and the treatments consisted of weekly applications of methyl jasmonate and daily imposition of stem bending, in addition to the control treatment. After the imposition of treatments, quantification of stem flexibility, lignin in stems and roots, phenolic compounds in leaves and roots, loss of electrolytes in roots and chlorophyll pigments were performed. In *Eucalyptus urograndis* seedlings with 100DAE and in the 3 drag distances after the quantification of the stem flexibility, the highest averages were observed in seedlings submitted to chemical and mechanical treatments, coinciding with the increase in the lignin content in the stem. In the roots of the same species, the quantification of electrolyte loss varied substantially as a function of the growth stages, since, in stage I, the averages decreased with the application of hardening treatments, while, in the final stage of growth, the MeJA applied resulted in increments of 40.97% in relation to the control seedlings. In seedlings of *Hymenaea courbaril*, the phenolic compounds quantified in the leaves were increased with the application of the two treatments in seedlings belonging to stage I. For both the hybrid and the species, seedlings from stage II onwards would be the most recommended, as they are more physiologically prepared to complete their development in a protected environment and better tolerance in field conditions. Still, in the field phase, the plants were submitted to many stresses, which culminated in the total loss of plants belonging to stage I in eucalyptus seedlings.

Keywords: Growth. Physiologically. Lignin. Stem flexibility. Hardening.

INTRODUÇÃO

Frequentemente os vegetais terrestres são expostos a inúmeros estresses desde a germinação até as fases finais de desenvolvimento. Com a finalidade de atenuar tais estresses existem protocolos que objetivam atenuar as adversidades encontradas nos estádios iniciais de crescimento. Esses protocolos de manejo podem ser intrínsecos aos vegetais, como o processo de sinalização ativado via sistema defensivo por meio de enzimas e/ou proteínas ou extrínseco provenientes da interferência humana.

O processo de rustificação em mudas tem sido uma ótima opção no sentido de aclimatar plantas jovens às condições do ambiente, sem, no entanto prejudicar drasticamente seu crescimento e desenvolvimento. Esses processos ou práticas podem ser introduzidos nas rotinas dos viveiros, alterando os parâmetros morfométricos e assim, modulando as características desejáveis para cada sítio de plantio das mudas. São diversas as técnicas que podem ser adotadas, entre as quais, a suspensão de adubação ou frequência do regime hídrico, alteração da luminosidade além da aplicação de reguladores vegetais e de estímulos mecânicos por meio de flexões caulinares (JACOBS; LANDIS, 2009; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI; MALAVASI; MALAVASI, 2015; CADORIN et al., 2021).

Os fitohormônios são pequenas moléculas ligadas a ativação, regulação, sinalização e inibição do metabolismo vegetal, exigidos em pequenas concentrações. No entanto, em determinadas condições, principalmente mediante o ataque de patógenos ou qualquer perturbação física aqueles teores aumentam dependendo da espécie, condições edáficas e climáticas, além de variar com a interação com outros organismos (FAGAN, 2015).

O grupo dos jasmonatos atuam na regulação, defesa e sinalização nos vegetais e são derivados a partir do ácido 12-oxo-fitodienoico, pela via do ácido linolênico e sintetizados nos peroxissomos. Várias são as substâncias derivadas desses compostos e podem ser nomeados como reguladores de desenvolvimento, no caso do ácido jasmônico, os principais compostos na forma volátil são o metil jasmonato e o cis-jasmonato, que são os principais sinalizadores, podendo ser transferidos rapidamente entre as células e estruturas vegetais (WASTERACK; HAUSE, 2013; TAMAOKI et al., 2013).

Os reguladores vegetais são similares dos fitohormônios, com diferença que, são produzidos sinteticamente e exigidos em concentrações maiores que os anteriores (PEREIRA-NETTO, 2019).

Outra técnica é a rustificação mecânica, ou tigmomorfogênese, que segundo Jaffe (1973), nada mais é que um estímulo mecânico que promove alterações nos vegetais e simulam condições estressantes a campo.

O híbrido *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*, desenvolvido e melhorado no Brasil, abrange características que favorecem o desenvolvimento na maioria das regiões brasileiras, incluindo rápido crescimento e boa tolerância a pragas, doenças e fatores abióticos. Para mais, essas árvores apresentam maior massa específica, aproximadamente, $0,56 \text{ g cm}^{-3}$, além de apresentar incremento volumétrico significativo (KAZMIERCZAK; HILIG; IWAKIRI, 2017).

De forma geral, os trabalhos desenvolvidos com espécies lenhosas de interesse florestal estão relacionados com espécies exóticas, de rápido crescimento e de interesse econômico no mercado, principalmente as pertencentes aos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*. Por isso, as espécies lenhosas nativas, com aptidão madeireira ou não, deixam de ser levadas em consideração pela falta de informações ecológicas, silviculturais e biométricas. Assim, estudos detalhando às características gerais, tais como as exigências e adaptabilidade daquelas espécies devem ser detalhados.

Hymenaea courbaril, por exemplo, é nativa da floresta Amazônica, com madeira muito dura, é utilizada na construção civil e fabricação de móveis, pela sua alta sobrevivência, com alto potencial produtivo e tolerância às condições ambientais atípicas (CARVALHO, 2003; COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011).

Como é conhecida popularmente, o jatobá apresenta-se adaptando desde ambientes úmidos até aqueles com deficiência hídrica. Quanto à presença da espécie em plantios mistos, sua densidade é baixa, com uma árvore por hectare, aproximadamente, tornando-a rara e muito valiosa, e consequentemente muito explorada, pois, mais de 90% das árvores apresentam diâmetro a altura do peito (DAP) superior a 50 cm (DIAS; LUZIA; JORGE, 2013; CALDERÓN-PERALTA et al., 2017).

Ainda, o processo de expedição das mudas a campo é importante, pois irá confirmar se as práticas realizadas na fase dos viveiros florestais foram eficientes e melhoraram a sobrevivência das mesmas (ARAÚJO; NAVROSKI; SCHORN, 2018).

As plantas submetidas a rustificação química e mecânica irão alterar suas características fisiológicas ou morfométricas, pois aqueles tratamentos nada mais são do que perturbações controladas impostas com o objetivo de melhorar a tolerância vegetal, simulando condições estressantes a campo. Assim, de acordo com o exposto, o objetivo da pesquisa foi evidenciar alterações fisiológicas, tal como o aparato defensivo dessas plantas resultante da aplicação de

metil jasmonato e flexões caulinares em função dos estádios de crescimento em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril*. Ademais, foi quantificado o crescimento das mudas a campo, aos 150 e 180 dias respectivamente e a sobrevivência influenciada pela aplicação da rustificação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no oeste do Estado do Paraná, Marechal Cândido Rondon, latitude de 24° 33' 24'' S, longitude de 54° 05' 67'' W e altitude de 420 m, Unioeste. Pela classificação climatológica do IAPAR e Köppen, o clima da região é do tipo Cfa, subtropical (ALVARES et al., 2013), com médias térmicas variando entre 22 e 23 °C, boa distribuição de chuvas durante o ano, caracterizado por verões quentes (NITSCHKE et al., 2019).

As medições da umidade relativa e da temperatura do ar foram obtidas diariamente com o auxílio de um datalogger (Modelo KlimaLogg Smart) durante todo experimento e os valores médios, máximos e mínimos de temperatura (°C) e umidade do ar (%) estão mencionados no apêndice deste trabalho. O intuito de realizar tais determinações é conhecer precisamente as características climáticas do ambiente e justificar possíveis alterações provenientes do meio, já que, as condições externas podem dificultar o desenvolvimento e produção de mudas de qualidade.

Neste ensaio foram utilizadas mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L., produzidas via semente adquiridas no Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) e da Rede de Sementes, respectivamente e conduzidas em ambiente protegido com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, equivalente a 20% de sombreamento.

As sementes de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* com procedência: Bofete, SP, o plantio estava localizado na área de produção de sementes (APS), geração F3, com ano de coleta em 2018, pureza igual a 0% e lote: BO0035N01. Estas foram armazenadas na geladeira, com temperatura entre 4 e 5 °C, obtido com um termômetro de Mercúrio.

Com relação ao jatobá, o local de coleta das sementes é classificado como primário, as sementes foram colhidas de, aproximadamente, 28 matrizes entre os municípios de Carlinda e Nova Guarita, Mato Grosso, em áreas de floresta plantadas e espontâneas, em dossel ou isoladas. As plantas apresentavam altura variando entre 7 e 34 metros e diâmetro de 43 a 250 cm. O tronco da maioria das espécies era reto, porém algumas apresentavam bifurcações. As árvores estavam distribuídas entre solos arenosos, argilosos, pedregoso e encharcados com as mais diversas finalidades, entre os quais, áreas de agrofloresta e pastagem na cidade de

Carlinda, enquanto que, para a cidade de Nova Guarita, o uso se restringia a pomares e pastagem.

As sementes após a recepção foram armazenadas a temperatura (16 °C) e umidade (40%) em câmara de armazenamento de sementes até serem utilizadas.

As sementes de jatobá foram escarificadas no sentido contrário ao eixo embrionário com uma lixa de ferro n° 36, a fim de superar a dormência tegumentar e desinfestadas em hipoclorito de sódio a 10% por 30 minutos seguido de lavagem com água corrente. Após aqueles procedimentos, as sementes foram submersas em água por 48 horas, a 25 °C em câmara de germinação tipo BOD, seguindo com o semeio das sementes, uma por tubete, com volume de 290 cm³.

Com o eucalipto a propagação ocorreu em tubetes de 120 cm³ semeadas com 5 sementes por recipiente, aproximadamente. Após duas semanas, as plântulas foram desbastadas, mantendo a muda central, com maior altura e protófilos (primeira folha verdadeira após a formação do cotilédone) bem formados.

O substrato comercial utilizado foi o Humusfertil® vermicomposto a base de casca de pinus, areia como fonte de substrato e vermiculita, com às respectivas garantias, condutividade elétrica de 1,5 mS cm⁻¹; densidade de 480 kg m⁻³; potencial hidrogeniônico (pH) de 6,5; umidade máxima e capacidade de retenção de (CRA) em massa/massa igual a 60%.

Até o início da rustificação, as mudas foram adubadas com solução nutritiva em água destilada contendo os nutrientes essenciais ao desenvolvimento e crescimento das plantas. As concentrações dos fertilizantes foram de: 50,2 gramas de Osmocote® (fertilizante de liberação lenta) + 50,6 gramas de ureia, diluídos, juntamente em 2 litros de água. Por fim, adicionou-se 80,4 gramas de NPK, formulação 10_15_15 em solução, essa quantidade foi diluída em 2 litros de água.

As soluções foram preparadas separadamente, mas a aplicação foi realizada simultaneamente e a cada 15 dias. A quantidade foi de 20 mL em um volume de 10 litros de água nas duas espécies estudadas. A adubação foi ajustada a partir de pré-testes e adaptada baseada em outras recomendações e para outras espécies florestais, calibrando a dosagem com espécies de cedro, eucalipto e jatobá. A adubação foi interrompida assim que os tratamentos começaram a ser aplicados.

Os tratamentos foram o controle (sem rustificação), rustificação química (100 µmol L⁻¹ de metil jasmonato) e a rustificação mecânica (por meio da movimentação pendular do caule das mudas). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, composto de três tratamentos, sete repetições (30 mudas cada), totalizando 630 plantas por estágio de

crescimento em *Eucalyptus urograndis*. Enquanto que, em *Hymenaea courbaril* o delineamento consistiu de três tratamentos, sete repetições e 16 mudas, visto que, as sementes apresentaram limitação no processo germinativo e uniformização das mudas e por isso, o número de plantas por estádio foi menor (336 plantas por estádio).

A aplicação dos tratamentos ocorreu semanalmente com o regulador vegetal e as flexões caulinares ocorreram diariamente, por 4 semanas aos 70, 100 e 130 dias após emergência (DAE) em mudas de eucalipto, no período de novembro de 2019 a fevereiro de 2020. Concomitantemente, em mudas de jatobá a aplicação de metil jasmonato ocorreu aos 50, 80 e 110 DAE.

A solução foi constituída de metil jasmonato na concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, água deionizada e tensoativo não iônico (Agral-Syngenta®) na proporção de 30 mL em 100 L de água, de acordo com a recomendação do fabricante. Este produto foi usado a fim de aumentar o espectro de absorção da solução aplicada sobre a folha, tal como, atuar sob a tensão superficial das gotas, maximizando o aproveitamento do produto.

A solução foi aplicada com pulverizador manual entre as 18h00min e 18h30min. A quantidade aplicada foi de 100 L ha^{-1} nas duas espécies, seguindo as recomendações da tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas.

O tratamento mecânico consistiu em 20 flexões caulinares diárias com velocidade constante de $0,10 \text{ m s}^{-1}$, durante 4 semanas nos mesmos horários segundo a metodologia de Volkweis et al. (2014) e o modelo proposto por Jacobs e Landis (2009).

Ao longo do experimento realizaram-se os tratos culturais de acordo com a demanda das espécies, entre os quais, limpeza dos tubetes, aplicação de solução nutritiva e a irrigação por microaspersão em 5 turnos diários de rega de 10 minutos no verão nos horários de 06:45hs, 09:45hs, 12:45hs, 15:45hs e 17:45hs e em 3 turnos diários de 10 minutos durante o inverno às 09:00hs, 13:00hs e 17:00hs. Às mudas de jatobá durante a germinação, foram alocados em tubetes e em local não irrigado e a irrigação ocorreu duas vezes ao dia, diminuindo o número de regas com o objetivo de evitar o apodrecimento das sementes.

A lâmina de água obtida foi igual a 4 mm, aproximadamente e determinada utilizando três pluviômetros distribuídos na área irrigada no ambiente protegido, onde as mudas foram produzidas, inclusive, estes foram colocados na mesma bancada onde as bandejas com as plantas estavam localizadas, com o objetivo de simular a quantidade de água que chegava ao dossel dessas mudas. Passado o período de irrigação, os três volumes foram coletados a fim de obter as médias da lâmina e esse procedimento foi repetido nos demais períodos que ocorreu a irrigação.

Após a imposição dos tratamentos, foi realizada a quantificação da rigidez flexural (LIMA et al., 2020), lignina nos caules e raízes (VAN SOEST, 1994), compostos fenólicos (CF) nas folhas e raízes (GEORGÉ et al., 2005), perda de eletrólitos nas raízes (WILNER, 1995) e pigmentos clorofilianos. As metodologias detalhadas podem ser encontradas no apêndice deste trabalho.

A determinação do parâmetro rigidez flexural em caules foi realizado em 63 mudas de eucalipto e 42 plantas de jatobá por estágio que foram aleatoriamente selecionadas respeitando os tratamento e repetições impostos inicialmente. Nesta análise utilizou-se um equipamento adaptado conforme Lima et al. (2020). A partir da mensuração do massa e distância os dados foram ajustados de acordo com a fórmula e expressos na unidade de Newton (N cm^{-1}). A Figura 1 detalha a moldagem realizada com os equipamentos.



Figura 1- Equipamento adaptado para a quantificação da rigidez flexural em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril*

Fonte: Rocha et al. (2021).

Os pigmentos clorofilianos foram determinados pelos métodos bioquímico e não destrutivo, sendo que o último é quantificado como índice SPAD e obtido por meio da leitura realizada com o equipamento clorofilômetro Minolta ® Chlorophyll meter RS-232 em 4 folhas localizadas no terço superior do híbrido e no terço inferior na espécie nativa. Os valores foram expressos em unidade SPAD ($\mu\text{g cm}^{-2}$).

O método bioquímico e destrutivo utilizado seguiu a metodologia de Arnon (1949), adaptada seguindo o método proposto por Barbieri et al. (2010) com a supressão das fases de trituração e centrifugação. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol m}^{-2}$ e antes de serem analisados, os dados foram convertidos, a fim de retirar os efeitos externos relacionados a concentração dos pigmentos, entre os quais, volume total obtido inicialmente no momento da extração, a área foliar extraída e a massa molar das clorofilas *a* e *b*.

Após o período de rustificação, parte das mudas foi destinada ao plantio a campo, a fim de quantificar a sobrevivência e o crescimento. O local definitivo do experimento onde foi implantado apresentava as coordenadas de 24.532116 S e 54.025485 W. As mudas foram agrupadas em três blocos respeitando os tratamentos impostos anteriormente.

O esquema experimental foi agrupamentos como delineamento de blocos ao acaso, constituído de 3 tratamentos (controle, metil jasmonato e flexões caulinares), 3 blocos e 3 repetições, totalizando 27 mudas por estágio de crescimento no eucalipto. Com as mudas de jatobá cada bloco foi composto por 7 plantas dispostas entre os tratamentos descritos acima, totalizando 21 mudas por estágio de crescimento. As avaliações foram realizadas a cada 15 dias, com o intuito de descrever o crescimento e relacionar com a sobrevivência a campo.

Entre os parâmetros morfométricos pode-se mencionar a altura e diâmetro. Ainda, em plantas jovens de jatobá foi observado a persistência das folhas durante toda a avaliação, já que, é característica da espécie perder as folhas, dependendo das condições ambientais e níveis de estresse.

Além disso, os dados climáticos foram obtidos a partir da estação meteorológica localizada no mesmo lugar onde a pesquisa foi desenvolvida por meio do acesso do histórico dos dados no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) descritos no Apêndice B deste trabalho.

As mudas de eucalipto e jatobá foram levadas a campo de acordo com o termino da fase de rustificação. A duração da pesquisa a campo ocorreu de 28 de fevereiro de 2021 até 31 de outubro do mesmo ano. Às mudas de eucalipto foram avaliadas por um período de 150 dias, enquanto que, as de jatobá por até os 180 dias, diferença essa justificada pela diferença no crescimento das mudas. Enquanto o eucalipto tem crescimento rápido e em 150 dias foi

evidenciar diferenças no crescimento, o jatobá tem crescimento lento e, devido as condições estressantes que enfrentou naquele período (geada e déficit hídrico) acabaram perdendo as folhas e assim, as análises foram postergadas.

As covas para plantio apresentavam, aproximadamente 27 cm de diâmetro e 60 cm de profundidade, ajustados de acordo com o tamanho das mudas nas duas espécies. O espaçamento utilizado entre as mudas foi de 1 m entrelinhas e 1 m entre mudas. Estas foram colocadas nas covas e não foram forçadas a se ajustar, visto que, o objetivo era não comprometer o ápice radicular. O solo da região do plantio é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Distroférico típico, com textura muito argilosa (SANTOS et al., 2013).

Ademais, os tratos culturais ao longo do experimento envolveram a capina manual de plantas espontâneas de acordo com o crescimento daquelas; a irrigação iniciada após o plantio ocorreu até os 20 dias, a cada 3 dias, nas mudas das duas espécies e em todos os estádios com a finalidade fazer a transição da fase do viveiro ao ambiente definitivo. A quantidade de água por planta foi de 2 litros na área da projeção da copa.

Além desses, foi necessário fazer o controle de formigas, alternando entre os métodos mecânico e químico. No primeiro caso, foram utilizadas caixas de leite na confecção de cones, que foram colocados envolvendo os caules e dificultando o acesso das formigas até as folhas. Estes foram ajustados, à medida que as plantas estavam crescendo, com a finalidade de evitar o anelamento.

O método químico usado contou com variedades de iscas comerciais, distribuídas na área, semanalmente, sobre as entrelinhas do experimento e nunca sobre os trilhos das formigas, ou menos nas suas galerias. Também, a fim de controlar aqueles insetos foram usados inseticidas em pó depositados diretamente nos olheiros. Por fim, as mudas expedidas a campo não foram adubadas, pois o objetivo era que, as condições ambientais fossem extremas, a fim de quantificar as respostas em meio as adversidades.

Os resultados obtidos foram testados para confirmar a existência das pressuposições estatísticas, entre as quais, normalidade e homogeneidade dos dados. A primeira utilizou os testes de Kolmogorov-Smirnov, Cramér-von Mises, Anderson-Darling, Kuiper, Watson, Lilliefors, Shapiro-Wilk, enquanto que, a fim de comprovar se as classes foram homogêneas entre si, utilizou-se o teste de Bartlett. Mediante a confirmação, seguiu-se com a análise de variância e por fim, confirmada a significância, estes foram desdobrados e testados pelo teste de comparação de médias e nos estádios de crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eucalyptus urograndis

Com mudas de 100 DAE, nas 3 distâncias de arraste, as maiores médias da rigidez flexural foram observadas naquelas submetidas aos tratamentos rustificativos testados (Tabela 1). A flexão caulinar ou tigmomorfogênese, por ser um estímulo mecânico, irá afetar as substâncias ligadas à parte estrutural da parede celular dos caules e até mesmo das raízes, devido a diferenciação celular e anatômica. Substâncias ligadas à parte estrutural das plantas (lignina) poderão ser sintetizadas, aumentando a rigidez do caule e consequentemente aumentando a força que deveria ser aplicada para que a flexibilidade dessas mudas fossem corrompidas.

Ademais, os reguladores vegetais de crescimento, em especial o grupo dos jasmonatos também podem ser responsáveis por essas respostas mencionadas anteriormente, visto que, alguns estudos tem comprovado sua eficácia contra estresse abióticos (SANCHEZ, 2008; MARTIN et al., 2010; MARDANI et al., 2012). O eucalipto ainda, apresenta caules mais flexíveis, porém não menos resistentes e por isso que, na proporção que as mudas avançam em idade também aumenta a resistência ao movimento de curvatura do caule.

Lima et al. (2020) observaram resposta semelhante ao trabalho em questão, onde os maiores valores na determinação da rigidez flexural resultaram dos tratamentos com $8,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido jasmônico (dose máxima) e nas mudas onde foi aplicado 20 flexões caulinares diárias (menor frequência), com médias iguais a $0,2885$ e $0,3005 \text{ N cm}^{-1}$ nas três distâncias de arraste respectivamente em plantas com 60 dias no clone de eucalipto 1528.

Ainda no caso de mudas do estágio II, percebeu-se que, após serem tracionadas a 3 cm esses valores começavam a diminuir em comparação a distância de 2 cm (Tabela 1), demonstrando que, ao passo que os caules foram flexionados, devido ao aumento da tensão, precisariam aplicar mais força para voltar a horizontal e acabavam perdendo a resistência. A tendência se outras distâncias fossem aplicadas repetidamente seria que esses valores reduzissem ainda mais.

Além do mais, é interessante destacar que, segundo Rankenberg et al. (2021) plantas mais jovens apresentam maior plasticidade quando comparado à plantas em estádios de crescimento avançados. Apesar disso, há outras estratégias a fim de compensar tal fato. Como por exemplo, a aquisição de defesas químicas e mecânicas no aparato da planta, a presença de cutículas mais rígidas, a presença de compostos que atenuem a ação dos estresses como a maior pigmentação proveniente da clorofila, assim como a presença de antocianinas, lignificação dos tecidos aéreos e radiculares. Adicionalmente outras estratégias existem como o transporte de

nutrientes e subprodutos da fotossíntese até os tecidos de armazenamento, principalmente as raízes ou caules.

Tabela 1- Rigidez flexural em caules de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II			Estádio III		
	1 cm	2 cm	3 cm	1 cm	2 cm	3 cm	1 cm	2 cm	3 cm
Cont				0.1842 b	0.2262 b	0.2291 b	0.3726	0.6199	0.5099
MeJA		***		0.3432 a	0.4462 a	0.3691 a	0.3046	0.5357	0.4451
Flexões				0.3103 a	0.4210 a	0.3299 a	0.3937	0.5590	0.5218
Fcal				9.45 **	11.86 **	4.64 *	1.67 ns	0.25 ns	0.78 ns
Dms		***		0.0986	0.1261	0.1212	0.1299	0.7478	0.1691
CV (%)				25.87	25.37	28.7	26.66	40.16	25.17

*** caules pouco rígidos, não foi possível realizar a análise de rigidez flexural/ ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)/ * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 < p < .05$)/ ns não significativo ($p > .05$).

Fonte: Rocha et al. (2021).

A lignificação é uma resposta da planta aos estresses de maneira geral, e algumas espécies apresentam a capacidade de formar lignina, a partir da via dos fenilpropanóides. Além disso, a lignina é um componente estrutural que promove maior sustentação, elasticidade e rigidez ao caule e as raízes. À presença dessa substância contribuiu com a evolução das plantas, tal como a transição das plantas do ambiente aquático ao terrestre (JUNG, 2004; BOERJAN; RALPH; BAUCHER, 2003; MONTEIRO; PEREIRA; ABREU, 2012).

Na quantificação de lignina nos tecidos aéreos em mudas de eucalipto com 70 DAE percebeu-se que ambos tratamentos rustificativos aumentaram o conteúdo da macromolécula em questão, reforçando que, à planta é um organismo muito sensível a estímulos, sejam estes ocasionado por perturbações mecânicas ou químicas (Figura 2A).

Oliveira, Abreu e Pereira (2009) trataram mudas de *Eucalyptus urophylla* com ácido jasmônico nas concentrações de 1 e 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ as quais resultaram em alterações no teor de lignina. As mudas controle apresentaram média igual a 26,43 % enquanto as mudas rustificadas resultaram em valores iguais a 41,56%.

Oliveira, Abreu e Pereira (2009) e Sanches (2008) justificariam o resultado como efeito da ativação da via de precursores (fenilpropanóide) ligados a síntese daquela macromolécula pelo regulador vegetal aplicado, sinalizando essa rota e estimulando a síntese dos compostos fenólicos gerais e específicos, como é o caso na molécula de lignina.

As mudas pertencentes aos estádios II e III apresentaram as maiores concentrações de lignina em plantas submetidas a flexões caulinares, com aumento de 32,4 e 29,2 % quando comparadas ao tratamento controle (Figura 2B e 2C). O processo de lignificação é muito mais

intenso em plantas mais velhas (RANKENBERG et al., 2021) visto que além de ser uma estratégia de defesa é um processo natural de desenvolvimento dos vegetais lignificados. Por isso, seria previsível que nas fases mais avançadas, os valores de lignina seriam maiores. Ainda, é importante mencionar que essa transição de fases de crescimento em algumas plantas pode ser mais sutil do que em outras, principalmente em espécies com crescimento lento e isso também influenciará nas respostas ao estresse.

No entanto, Braz et al. (2014) estudando o superclone (*Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*) em um período máximo de 35 meses demonstrou redução nas concentrações de lignina insolúvel, com valores próximos de 31,33% à medida que evoluiu a idade das plantas, na região classificada como clima tropical quente subsumido (Aw).

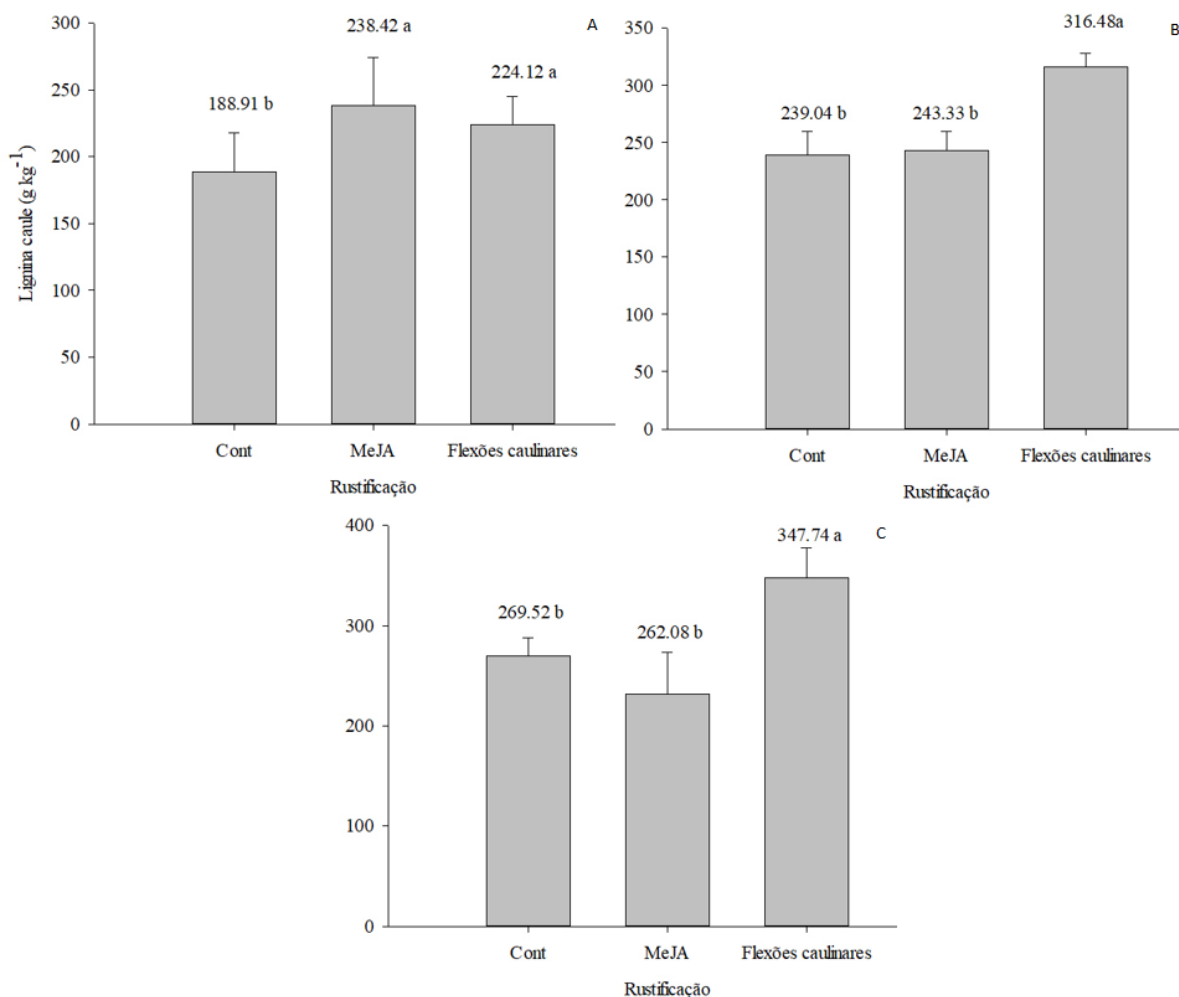


Figura 2- Teor de lignina em caules de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A), II (B) e III (C).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Via de regra, vegetais mais jovens são menos lignificados, porém quando submetidos a perturbações, independente da origem, passam a produzir substâncias secundárias ligadas a

defesa induzida, como é o caso da lignina. A questão é que, apesar da planta apresentar um sistema de sinalização muito eficiente, cada parte reagirá de forma peculiar ao estresse ou condição atípica que serão impostas. No caso da lignina, caules e raízes irão se diferenciar e aumentar, distintamente e independentemente, pois, aqueles órgãos poderão ser afetados mais drasticamente dependendo do tipo de estresse. Porém, será dependente dos tipos de tratamento e as condições ambientais que são cultivadas (NOVAES et al., 2010).

No caso das mudas de *Eucalyptus urograndis* as concentrações nos caules e raízes não foram tão discrepantes, apesar de que, no estágio II, as raízes apresentaram maiores valores quando comparados aos caules na mesma fase de desenvolvimento (Figura 3A). Apesar disso, os dois estádios (II e III) onde houve diferença ($P < 0,05$) se comportaram similarmente nos dois órgãos, com aumento do teor de lignina em mudas tratadas com flexões no caule (Figura 3A e 3B). Dranski, Malavasi e Malavasi (2015) informaram que, após imposição de perturbações mecânicas na parte aérea em mudas de *Pinus taeda* houve aumento de 32 % na concentração de lignina nas raízes.

Evidências que corroboram com os resultados encontrados no presente trabalho são descritas por Aoyama et al. (2001) e Seifert e Blaukopf (2010) que argumentaram que a lignina pode ser aumentada se estímulos mecânicos forem empregados em mudas de angiospermas, alterando outras estruturas ligadas a parede celular, sua composição e conformação. A lignina tem função já reconhecida na integridade da parede celular, assim como no transporte de água no contínuo solo-planta-atmosfera.

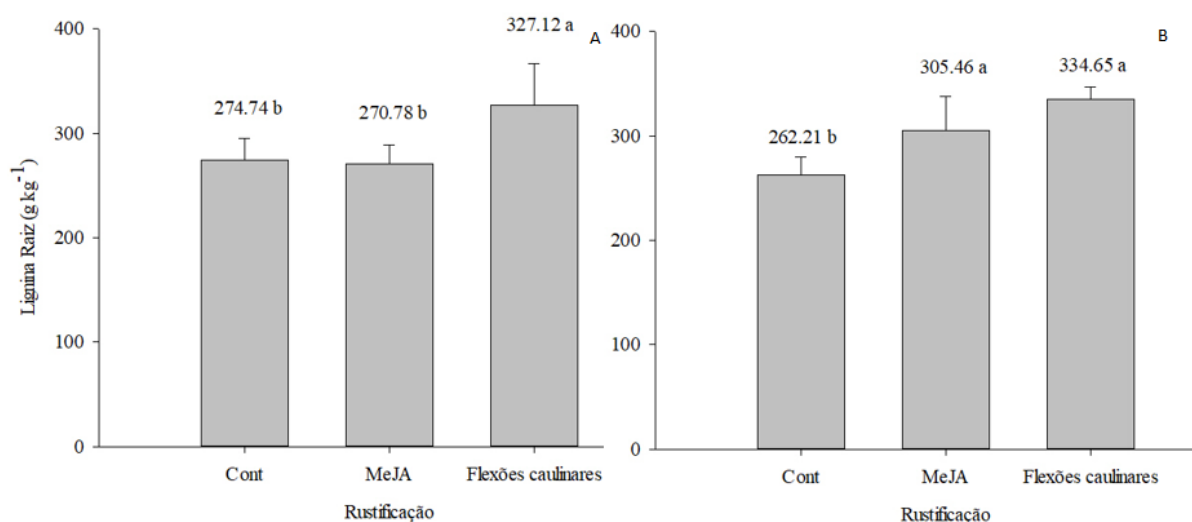


Figura 3- Teor de lignina em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento II (A) e III (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A concentração de compostos fenólicos (CF) em folhas e raízes das mudas de *Eucalyptus urograndis* pertencentes aos estádios I e III não diferiram significativamente ($P>0,05$) entre os tratamentos impostos. Ademais, o teor de CF nas folhas da mesma espécie e no estádio II também não diferiu ($P>0,05$) em função da aplicação dos tratamentos rustificativos e das mudas controle.

Quantificando, no entanto, o teor de compostos fenólicos nas raízes em mudas de eucalipto do estádio II percebeu-se um aumento relevante do tratamento controle em comparação as mudas flexionadas mecanicamente, demonstrando que, nesta fase de crescimento, o processo de sinalização via produção de CF foi significativo e, neste caso, sob esse tratamento, o sistema de defesa das mudas de eucalipto foram acionadas.

O aumento nas concentrações dessa substância foi de 90,11% (Figura 4). Tendo em vista tal acontecimento, o aumento nas concentrações de CF servem de alerta e sinalização em situações de estresse. Ainda, as concentrações desses compostos costumam ser muito sensíveis a variações ambientais e por isso, sua alteração pode ser consequência da imposição dos tratamentos, assim como, de quaisquer variações no ambiente em que as plantas estão sendo cultivadas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; NCUBE et al., 2012).

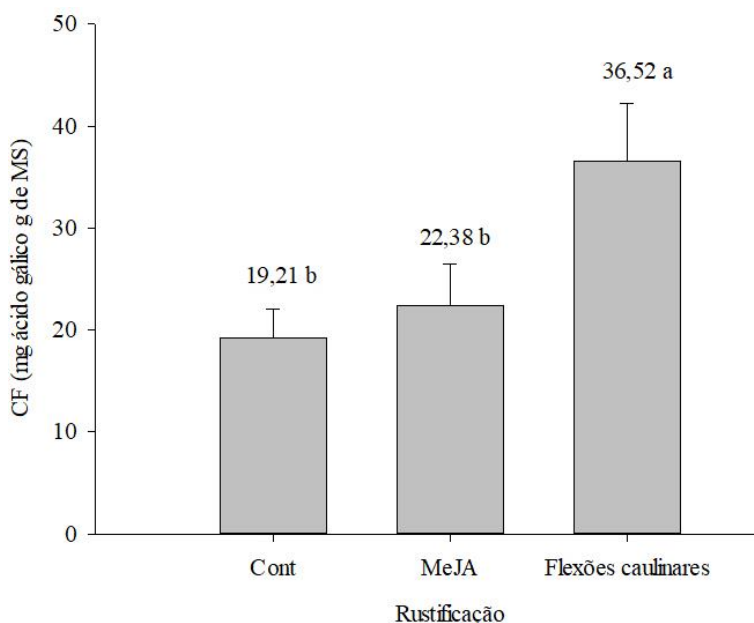


Figura 4- Concentração de compostos fenólicos em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádio de crescimento II.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

O transporte de água via membranas é livre. Entretanto, os íons precisam de proteínas carreadoras (canais ou bombas iônicas) a fim de serem transportados do meio extracelular até

o intra. Assim, os eletrólitos tendem a permanecer nas células se às plantas não são expostas a condições que sejam configuradas como estresses. No entanto, em meio a adversidades, as membranas podem perder sua seletividade, resultando em extravasamento do conteúdo celular e, conseqüentemente de íons.

Esse dano a membrana plasmática pode ser reversível ou não; no primeiro caso, haverá apenas modificação da membrana, sem, no entanto, levar a desintegração, enquanto que, no segundo caso, dependendo da intensidade, a membrana pode ser rompida e resultar na morte das células. Por isso, mediante a avaliação da perda de eletrólitos, pode-se inferir a condição da planta e como determinado tratamento estará estimulando a mesma (SANTARÉM, 2017). Dessa maneira, quanto maior os valores, maior o estresse ocasionado pelos tratamentos. Apesar disso, essa condição pode ser uma estratégia dos vegetais com o objetivo de tolerar a condição adversa (BAJJI; KINET; LUTTS, 2002).

Em mudas do estágio I o maior valor foi em mudas controle. Mudas tratadas, tanto com o regulador vegetal de crescimento quanto com as flexões caulinares apresentaram redução nas concentrações de íons. Isso reforça que, mudas rustificadas podem apresentar um sistema de sinalização complexo e eficiente que é convertido em respostas defensivas, tal como, a conservação da integridade da membrana e menor extravasamentos de eletrólitos no meio intracelular (Figura 5A).

Resultados semelhantes foram obtidos por Volkweis et al. (2014) que associaram o aumento no número de flexões à redução da perda de eletrólitos nas raízes em mudas de *Maytenus ilicifolia* [(Schrad.) Planch.]. Por isso, é importante pontuar que, quanto mais baixo o valor quantificado na perda de eletrólitos, maior a viabilidade dos tecidos e integridade das membranas. Logo, em mudas de eucalipto do estágio I, o tratamento com metil jasmonato foi aquele que resultou em menor extravasamento de íons e conseqüentemente maior integridade da membrana (Figura 5A).

Em mudas do estágio III, resultado inverso foi observado em função da imposição dos tratamentos (Figura 5B). Apesar da condição estressante ocasionada pela liberação de íons ser um inconveniente ela também pode ser uma estratégia benéfica, visto que, o objetivo da rustificação é utilizar a imposição do estresse com a finalidade de melhorar a tolerância das plantas (TELEWSKI; JAFFE, 1986). Ainda, é imprescindível pontuar que, o extravasamento de íons não culmina necessariamente na morte da planta, pois, os vegetais apresentam uma infinidade de células e, no caso de algumas apresentarem plasmólise a situação pode ser revertida, dependendo da intensidade da adversidade a que foram submetidas.

Além disso, é interessante salientar que os estádios de crescimento irão influenciar diretamente sobre os efeitos e respostas defensivas dos vegetais. Portanto, determinar qual melhor período de expedição das mudas baseado nas estratégias e respostas às condições ambientais adversas é a melhor forma de garantir a qualidade das mudas em ambiente protegido.

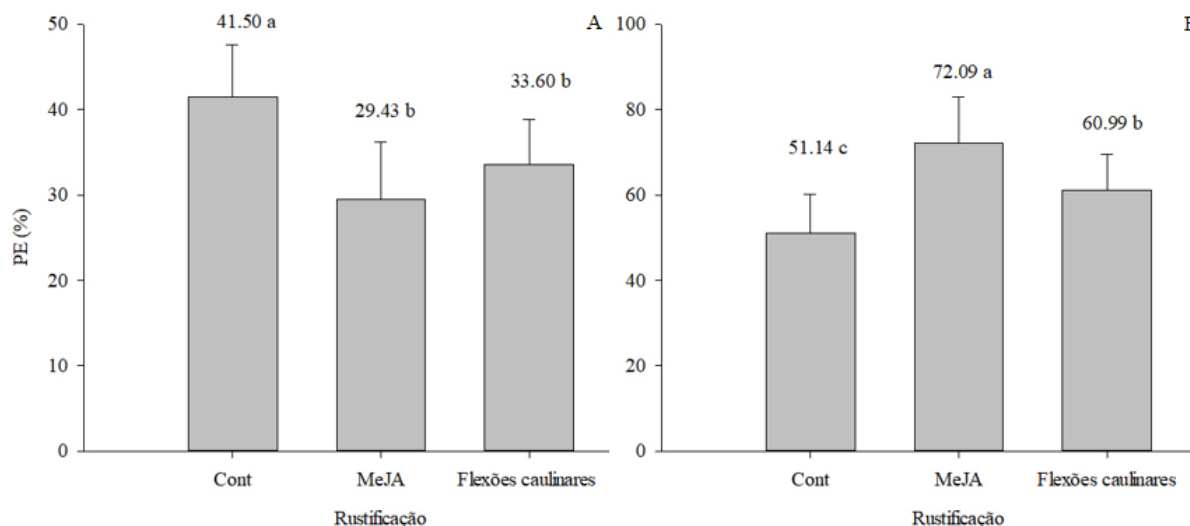


Figura 5- Perda de eletrólitos (PE) em mudas de *Eucalyptus urograndis* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e III (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Ao se quantificar os pigmentos fotossintéticos pelo método destrutivo (clorofila *a* e *b*) e não destrutivo (índice SPAD) não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos em mudas de *Eucalyptus urograndis*.

A avaliação em mudas de *Eucalyptus urograndis* do estágio I a campo até os 30 dias não resultou em mortalidade. Entretanto, após aquele período, as mudas do tratamento controle e as submetidas a perturbação mecânica externaram sobrevivência de 55,6 % em relação ao total de plantas levadas a campo por tratamento, enquanto que com as mudas que receberam o tratamento químico foi de 33,4 %.

A partir dos 60 dias pós-plantio houve perda total das plantas pertencentes ao estágio I, ocasionada por baixa temperatura do ar, atingindo temperatura mínima de 4,2 °C (Apêndice B-Figura 3) e ataque de formigas. Quanto à temperatura do ar, entre os meses de junho e julho houve três geadas severas, que foram extremamente prejudiciais, principalmente em plantas mais jovens, resultando na morte destas (Apêndice B-Figura 3).

Assim, as chuvas foram irregulares e mal distribuídas ao longo dos meses (Apêndice B-Tabela 1) o que ocasionou a combinação de dois estresses perigosos, restrição hídrica e

temperaturas extremas. Além desses, as formigas cortadeiras (*Atta laevigata*) foram um dos problemas mais comuns e constantes nas mudas de eucalipto ao longo do experimento.

Com as mudas dos estádios II e III, os tratamentos rustificativos não influenciaram na sobrevivência pós-plantio, visto que estas sobreviveram apesar dos estresses (os mesmos descritos acima) e a porcentagem de sobrevivência em ambos foi igual a 100%.

Similarmente aos resultados do presente trabalho, Cadarin et al. (2015) estudando o efeito da imposição dos tratamentos rustificativos químico e mecânico em mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud reportaram inexistir relação daqueles com a sobrevivência das mudas a campo avaliadas aos 90 e 180 dias, com porcentagem de sobrevivência de 97 e 95%, respectivamente.

Ainda, Del Campo et al. (2009) observaram que os atributos de qualidade, principalmente morfométricos das mudas apenas se correlacionaram com a sobrevivência em *Quercus ilex* subsp. Ballota (Desf.) Samp. quando avaliadas por um período de um ano, e sob intensa condição de restrição hídrica.

Ao se realizar a quantificação do incremento dos parâmetros morfométricos em mudas ao serem expedidas a campo e 90 dias depois, observou-se que, as médias não diferiram estatisticamente entre si ($P > 0,05$) independentemente da aplicação dos tratamentos.

Os incrementos calculados foram iguais a 63,04; 56,88; e 54,66 cm em mudas do estágio II nos tratamentos controle, metil jasmonato e flexões caulinares, enquanto que, com o diâmetro os valores foram de 9,55; 8,09; e 8,13 mm, respectivamente. Algo semelhante foi observado com mudas do estágio III na mesma espécie, com incrementos iguais a 38,55; 35,41; e 34,67 cm em altura e o diâmetro igual a 6,17; 6,52; e 5,92 mm na mesma ordem descrita acima.

Ao se observar o crescimento das mudas é fácil notar que, o incremento em altura e diâmetro foi menor no estágio III quando comparado ao II. Tal diferença, nesse caso pode ser explicada, pelo fato de que, segundo a determinação de crescimento (Capítulo I) as mudas estavam transitando entre o crescimento acelerado e a diminuição da velocidade no estágio II, enquanto que, na fase final, o crescimento e desenvolvimento das mudas, independente dos tratamentos ocorreu mais lentamente. O acima descrito foi confirmado quando as mudas foram expedidas a campo. Além do mais, estas foram expedidas em períodos diferentes, sendo que o estágio III foi a campo mais próximo do inverno e por isso seu crescimento foi afetado pelo estresse imposto por aquela condição.

A quantificação da rigidez flexural de *Hymenaea courbaril* não resultou em diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos aplicados nas mudas dos três estádios de crescimento, apesar de

ficar evidente que, ao passo que as mudas avançaram em idade a resistência a tração do caule aumentou, atingindo valores maiores que 2 N cm^{-1} no estágio III.

Além do mais, quando as mudas foram arrastadas a 2 cm nos três estádios avaliados, obteve-se os maiores valores ao se quantificar a rigidez flexural. Uma explicação aceitável é que, após as mudas serem arrastadas por 2 cm percebe-se que esses valores, mesmo em escala pequena diminuíram, reforçando que, à medida que essas mudas foram flexionadas, primeiro a 1 cm, depois a 2 cm e por fim a 3 cm, houve menor resistência, devido à maior tensão aplicada. Dessa maneira, seria necessário que esta investisse em mais força para voltar a posição vertical. Entretanto, à medida que esse arraste aumenta, aumentou também a flexibilidade caular, como uma forma de adaptação ao estímulo provocado pelo equipamento.

Em mudas de jatobá não foi detectado diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos rustificativos ao se avaliar o teor de lignina em caules e raízes. Corroborando em parte com esse resultado, Heberle et al. (2018), observou diferença apenas ao avaliar a lignificação nos caules em mudas de *Patagonula americana* L. após a aplicação de ácido jasmônico. Os autores acima concluíram que as doses usadas não foram capazes de diferenciar ou incrementar de forma significativa esses teores nos tecidos radiculares. No caule, o aumento foi igual a 27,55 % em mudas tratadas com a concentração de $1,0 \mu\text{mol L}$ de ácido jasmônico. Ainda, a espécie pode ser considerada mais tolerante a variação do meio e por isso, independente dos tratamentos, não houve diferença.

Em mudas de jatobá pertencentes aos estádios I e II, a variação nas concentrações de compostos fenólicos foi significativamente afetada. No estágio I, as concentrações daqueles compostos aumentaram mais que 50% em mudas tratadas com metil jasmonato, variando de 5,99 até 12,42 mg de ácido gálico por g de MS (Figura 6A).

Uma das funções dos compostos fenólicos é sua ação como agente antioxidante e sua capacidade de se ligar a radicais livres tornando esses menos danosos as células vegetais. O processo de transmissão de sinal é desencadeado por meio da ativação de enzimas e proteínas ligadas a defesa da planta, que culminará na captura de elétrons e a formação de moléculas não iônicas e prejudiciais ao desenvolvimento das plantas (PEREIRA; CARDOSO, 2012; SHARMA; SINGH, 2013).

De fato, ao longo do experimento grande variação na temperatura e umidade foram observadas (Apêndice B) o que pode ter intensificado o desequilíbrio dessas mudas, que já estavam sendo submetidas a um tipo de estresse programado. Além do mais, fica perceptível que o tratamento mecânico foi o que mais influenciou os ganhos desses compostos antioxidantes (Figura 6A e B).

Em contrapartida, em mudas do estágio III obteve-se resposta inversa; o tratamento controle foi aquele na qual as mudas externaram as maiores médias, mostrando que uma espécie, mesmo que se desenvolva em um mesmo ambiente e receba os mesmos tratamentos culturais serão influenciadas também por suas características genéticas ou adquiridas. No caso de mudas com maior DAE, as flexões caulinares realizadas por um mês não estressaram tão drasticamente as mudas quanto nas fases de desenvolvimento anterior (Figura 6C).

Nas folhas, pela maior exposição ao meio e maior sensibilidade, os resultados de perturbações externas são sentidos de forma mais intensa e primeiramente, principalmente em mudas mais jovens, onde o sistema de crescimento é priorizado e por isso o aparato defensivo pode demorar mais a reagir aos estímulos.

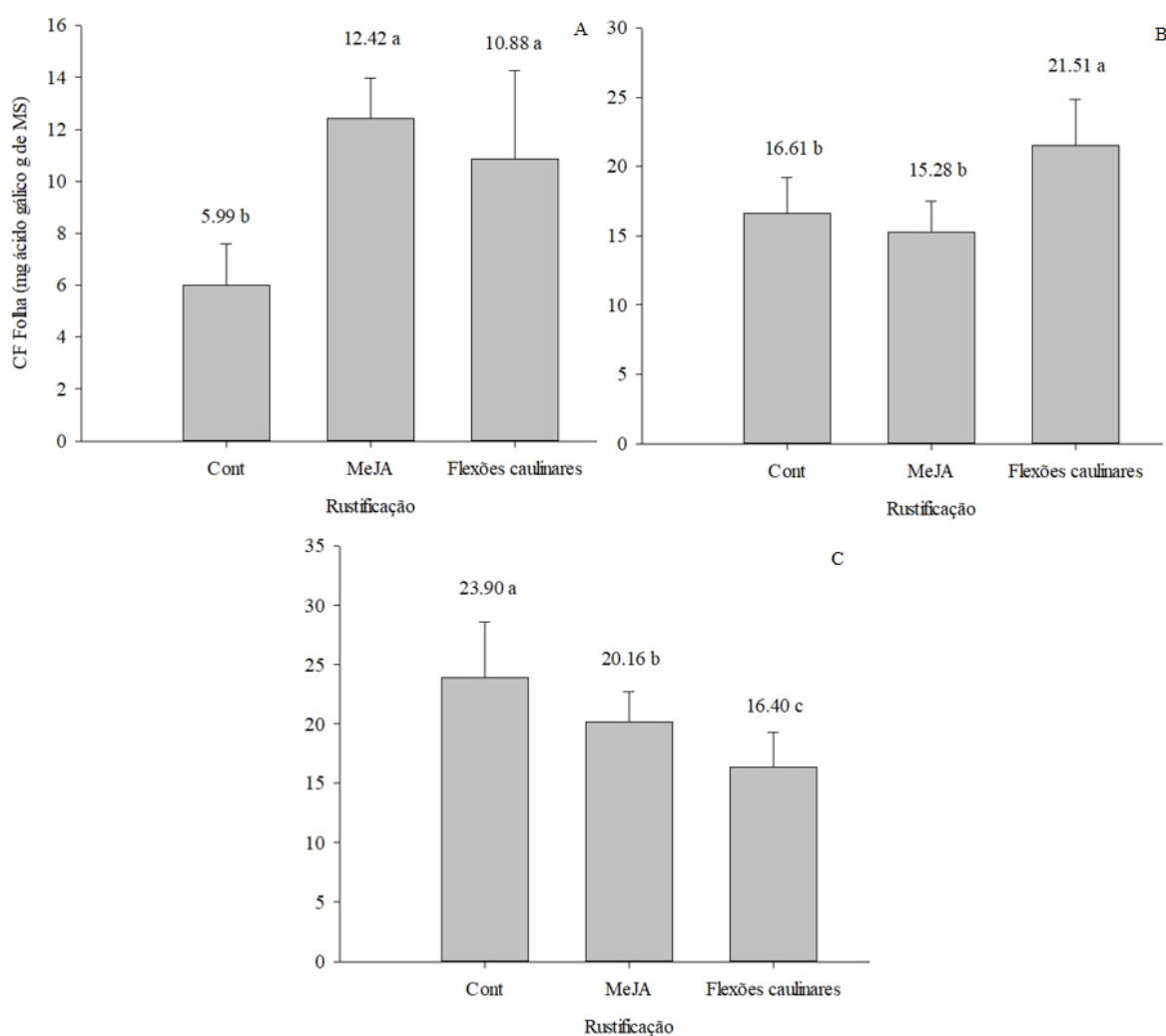


Figura 6- Concentração de compostos fenólicos em folhas de mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A), II (B) e III (C).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Os tecidos radiculares são considerados os principais órgãos responsáveis pela liberação de compostos fenólicos e nesse sentido, podem usar seu potencial alelopático com o objetivo de reduzir a competição intra e interespecífica (OLIVEIRA, 2017). Além disso, é possível que, se estimuladas, as plantas distribuam esses compostos entre outras partes, assim como, ocorra o seu incremento a fim de sinalizar qualquer alteração decorrente de estímulos externos. Essa resposta foi evidenciada estudando mudas de *Hymenaea courbaril* rustificadas no estágio III (110 DAE), onde observa-se aumento desses teores nas raízes do tratamento controle em comparação com as submetidas a flexões caulinares com um crescimento de aproximadamente 244% no estágio III (Figura 7B).

No estágio I (Figura 7A) esses valores não foram tão discrepantes, sendo que, nas mudas estimuladas com aplicação de MeJA obteve-se a menor média (10,43 mg ácido gálico g de MS) e esta por sua vez diferiu do tratamento controle.

Além disso, percebe-se resposta inversa ao se comparar a quantidade de compostos fenólicos quantificados nas folhas e raízes em mudas do estágio III, onde os incrementos foram decrescentes em folhas, enquanto que nas raízes foram crescentes demonstrando que, parte desses componentes, ao invés de ser translocado foi depositado nas regiões radiculares (Figura 6C e 7C).

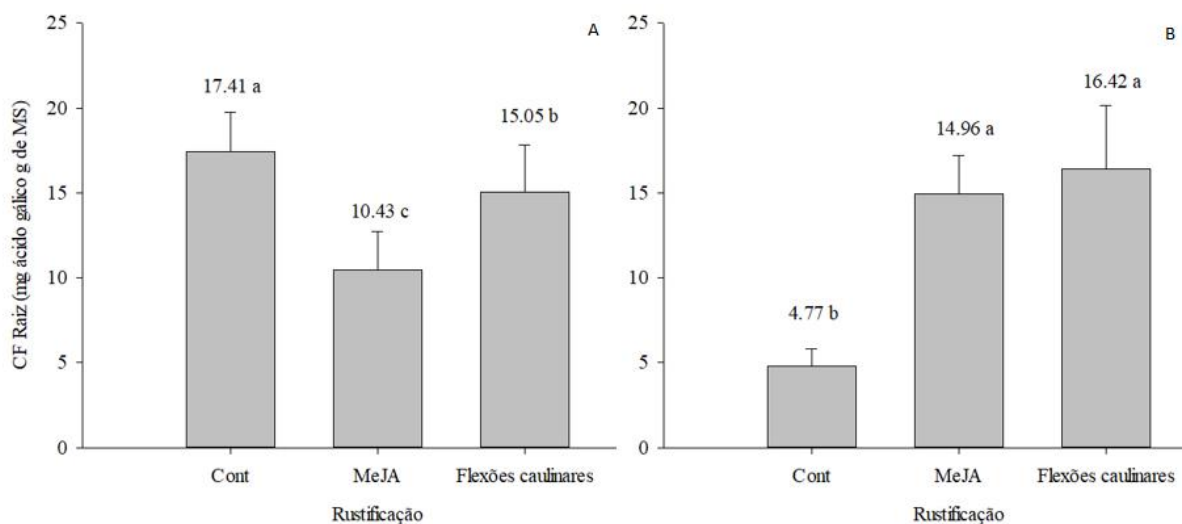


Figura 7- Concentração de compostos fenólicos em raízes de mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e III (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Ao determinar a perda de eletrólitos em mudas de jatobá do estágio I, o tratamento que implicou em menor média foi a aplicação de metil jasmonato (Figura 8A). Logo, o tratamento químico pode ser recomendado como uma opção viável no processo de rustificação. Sob as

condições do ensaio, aquele tratamento não comprometeu a integridade da membrana e reduziu a quantidade de íons depositados no meio celular.

Guo et al. (2010) concluiu que, a redução dos valores pode estar vinculada a deposição de reguladores osmóticos mediante a sinalização promovida pelo regulador metil jasmonato, neutralizando o efeito dos íons tóxicos liberados no meio celular. Essas substâncias podem ser depositadas principalmente no sistema radicular, principal órgão de reserva.

Cadorin et al. (2015) avaliando a perda de eletrólitos nas raízes de mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud. rustificadas mecanicamente e quimicamente obtiveram as menores médias nas mudas tratadas independentemente do tratamento com redução de 40% em comparação ao tratamento controle.

As mudas de jatobá do estágio II, em contrapartida, apresentaram respostas distintas. As mudas que, em tese, externaram sintomas de estresse foram aquelas tratadas com metil jasmonato, aumentando de forma evidente em comparação ao tratamento controle. Nesse caso, respostas peculiares serão detectadas à medida que as plantas crescem, envelhecem e se desenvolvem (Figura 8B). Ademais, à medida que os vegetais crescem e se desenvolvem podem estar mais sensíveis e responsivos aos estímulos externos, já que o tempo de consolidação do sistema defensivo foi maior.

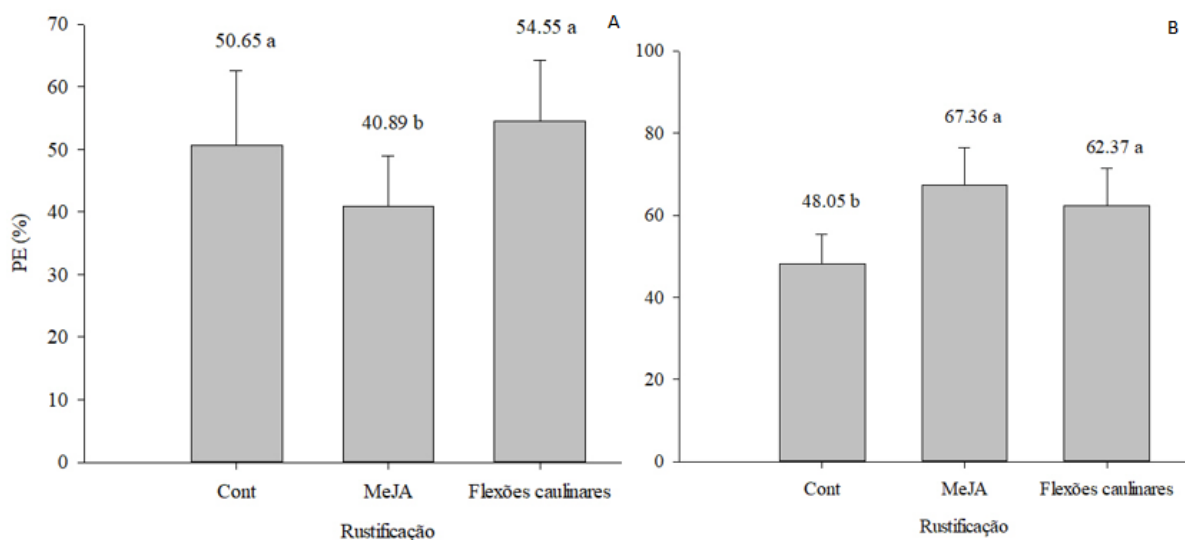


Figura 8- Perda de eletrólitos (PE) em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e II (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam nas colunas e letras maiúsculas comparam nas linhas.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Ao se quantificar os pigmentos fotossintéticos pelo método não destrutivo (índice SPAD) não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos em mudas de *Hymenaea courbaril* e as médias foram 31,11; 30,91; 32,91 $\mu\text{g cm}^{-2}$ em mudas controle,

aquelas onde houve a aplicação de MeJA e Flexões caulinares no estágio I; Naquelas pertencentes ao estágio II, as médias foram iguais a 20,63; 28,83; 25,14 $\mu\text{g cm}^{-2}$ na mesma ordem anterior. E por fim, no estágio III, os valores foram de 25,10; 27,10; e 29,53 $\mu\text{g cm}^{-2}$.

O aumento no teor de clorofila coincidiu com a redução da área foliar em mudas tratadas via flexões caulinares no estágio I, dado que, nessa condição e devido à perda da área fotossinteticamente ativa, as folhas, como estratégia fisiológica precisavam compensar esse déficit. Assim, foi necessário que houvesse o aumento na síntese, tanto de clorofila *a* quanto de clorofila *b* (Figura 9 e 10). Essa compensação é uma forma de impedir que a produção de fotoassimilados, aquisição de energia e metabolismo primário das plantas seja interrompido e prejudique o desenvolvimento e estabelecimento.

Ademais, esse acréscimo ocorreu de forma gradativa e perceptíveis visivelmente, mediante a mudança de coloração. Enquanto as mudas, antes do processo de rustificação, apresentavam uma coloração verde-amarelada após o período de 30 dias, as mesmas mudas apresentavam cores no tom de verde variando entre o verde musgo e o escuro.

Diferente do obtido na pesquisa, ao realizar a quantificação de clorofila *a* e *b* em plantas jovens de *Tabebuia roseo-alba*, Cadorin et al. (2021) observaram diferença estatística significativa entre as mudas controle e as tratadas quimicamente e mecanicamente. Entretanto, a redução na clorofila *a* foi evidenciada tanto quanto os teores de clorofila *b* após a aplicação das flexões no caule às 4 e 8 semanas.

A redução na concentração de clorofila em função da flexão caulinar também foi observada no trabalho de Coutand (2010) que associou esse decréscimo nos pigmentos a redução da biomassa aérea, assim como, redução na taxa fotossintética. Apesar dos resultados contraditórios, enfatiza-se o fato de que cada espécie responderá de forma específica e diferenciada aos estímulos do meio. A redução dos pigmentos pode influenciar no crescimento da parte aérea, mas não necessariamente restringirá o desenvolvimento radicular, pois, em alguns casos, pode haver realocação de reservas nutricionais e produtos da fotossíntese entre esses órgãos, a fim de estimular seu crescimento frente a possíveis estresses.

Além disso, na mesma espécie e estágio, a aplicação de MeJA implicou em redução nos teores de clorofila *a* (Figura 9) e segundo Vieira et al. (2010) a aplicação exógena de jasmonatos pode estar associado ao processo de senescência foliar e, consequentemente a degradação dos pigmentos clorofilianos. Esses pigmentos estão ligados a captura da energia luminosa, pela conversão e consumo de ATP e NADPH e por isso, nesse caso, as clorofilas e sua redução irão influenciar na taxa de assimilação líquida de CO_2 . Ademais, plantas impostas ao tratamento

químico aumentaram o número de folhas. Apesar disso, estas não realizavam fotossíntese por serem muito novas e não contribuíam com a concentração de pigmentação verde.

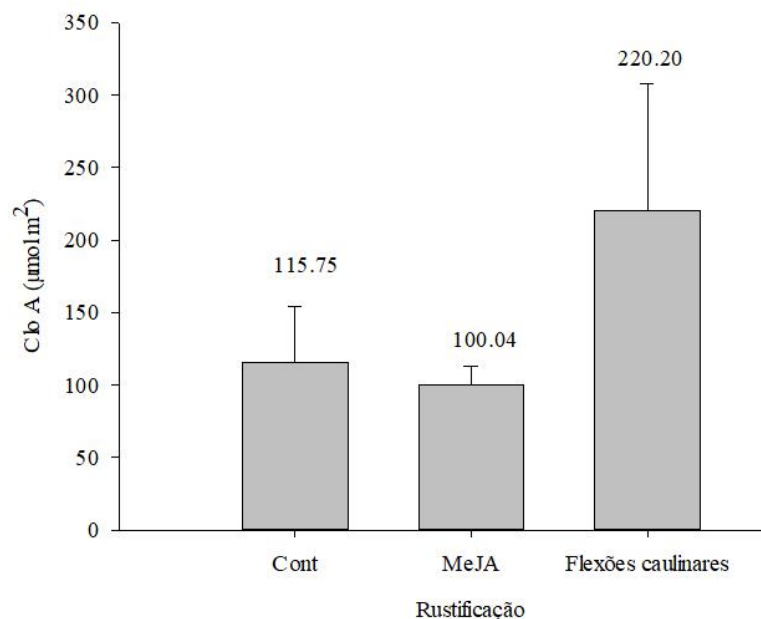


Figura 9- Concentração de clorofila *a* em mudas de *Hymenaea courbaril* no estágio I em função dos métodos rustificativos.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Um fato importante a ser destacado é que, como mencionado anteriormente, há dois tipos de clorofila com papéis importantes e diferentes na ação das atividades metabólicas. Clorofila *a* é essencial para a continuidade da fase fotoquímica e consequentemente a formação de energia, podendo desencadear o transporte de elétrons nos fotossistemas (ROSA, 2017).

A clorofila *b* é um pigmento acessório, que ajuda na captação de energia, recolhendo-a e transmitindo ao pigmento anterior, apesar disso, é importante que as quantidades desses pigmentos estejam equilibradas, de forma a não prejudicar os processos metabólicos dependentes das mesmas. A clorofila *a*, ainda é encontrada, na proporção de 3:1 em relação a clorofila *b*, porém isso será dependente da espécie, ontogenia, conformação foliar e distribuição da parte aérea (ROSA, 2017).

Após a determinação dos teores de clorofila *b*, tanto nas mudas do estágio I (Figura 10A) quanto nas do estágio III (Figura 10B), observou-se maior discrepância em relação ao tratamento mecânico, comparando ao tratamento controle. Algo muito próximo do que foi observado ao se determinar o teor de clorofila *a*. Sendo que mudas tratadas com flexões caulinares apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$) em relação as mudas controle no estágio I com elevação de 119,15%. As demais mudas tratadas com metil jasmonato reduziram

seus teores em ambos os estádios de crescimento comparando com as mudas controle (Figura 11A e 11B).

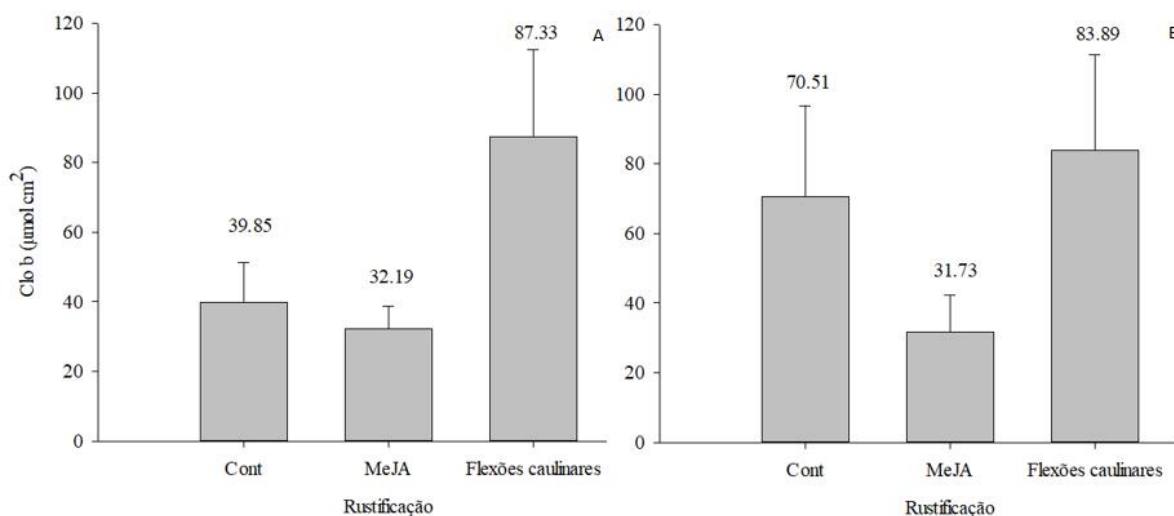


Figura 10- Concentração de clorofila b em mudas de *Hymenaea courbaril* em função dos métodos rustificativos e estádios de crescimento I (A) e III (B).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Fonte: Rocha et al. (2021).

As mudas de jatobá dos estádios I, II e III expedidas a campo apresentaram sobrevivência de 100% independente dos tratamentos aplicados. Matheus et al. (2011) destacaram que a espécie *Hymenaea courbaril* é muito tolerante a adversidades ambientais, além de apresentar estratégias para melhor sobreviver nessas condições como à perda de folhas, devido a ser classificada como uma espécie semidecídua (COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011).

Cabe destacar que, em mudas do estágio I, entre as avaliações de 45 e 120 dias as mudas apresentaram desfolha drástica e só iniciaram a rebrota após 150 dias, quando as temperaturas estavam mais próximas do ideal ao crescimento e por isso as avaliações morfométricas não foram realizadas após aquele período.

Ao se avaliar as mudas dos estádios II e III a campo, no entanto, não detectou-se diferença estatística ($P>0,05$) para os parâmetros morfométricos. No estágio II, os incrementos em altura e diâmetro (avaliação das mudas quando levadas a campo e após 90 dias) foram de 2,93; 2,13; 2,28 cm em altura e de 0,30; 0,36; 0,30 mm em diâmetro nas mudas tratadas com os tratamentos controle, MeJA e flexões caulinares, respectivamente. A desfolha também foi evidenciada em mudas desse estágio, porém apenas após os 90 dias e sem desfolha drástica. A principal justificativa para a perda de folhas foram as temperaturas baixas e distribuição irregular de chuvas (Figura 3 e Tabela 1 no apêndice do trabalho).

No estágio III, resultados dos incrementos foram de 7,74; 6,74; 6,66 cm em altura e de 1,21; 0,94; e 0,88 mm em diâmetro) nas mudas controle, MeJA e submetidas a flexões,

respectivamente e não mostraram-se diferentes ($P>0,05$). Os valores baixos nos incrementos morfométricos em mudas de jatobá em relação a permanência destas a campo (90 dias) é uma característica da espécie que apresenta crescimento lento (LORENZI, 2002; CARVALHO, 2003). Ademais, a diferença observada entre os incrementos nos estádios III e II está mais relacionada ao período em que foram expedidas (estádio II mais próximo do período frio) do que necessariamente a fase de crescimento.

Cadorin et al. (2015) avaliaram o crescimento das mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud e não detectaram diferença estatística entre os tratamentos rustificativos (controle, metil jasmonato em 4 e 8 semanas de rustificação e flexões no caule no mesmo período descrito anteriormente) aos 90 dias. Contudo, aos 180 dias, os autores acima citados reportaram que o tratamento que apresentou maior crescimento foi o de 20 perturbações caulinares durante 8 semanas, assim como a aplicação de metil jasmonato no mesmo período. A velocidade de crescimento foi incrementada em altura e no diâmetro do coleto em até 130% e 102%, respectivamente, ao comparar com o tratamento controle.

CONCLUSÕES

Nas mudas de *Eucalyptus urograndis* a aplicação das flexões caulinares resultou em acréscimo quando se compara com o tratamento controle na avaliação da rigidez flexural, reforçando que as mudas sintetizaram substâncias relacionadas a maior resistência do caule e ao tracionamento. Isso pode ser confirmado pelo aumento do teor de lignina no caule.

A imposição do metil jasmonato e das flexões caulinares apresentaram resultados semelhantes em mudas de *Eucalyptus urograndis* ao se avaliar a concentração de lignina no caule, na raiz e perda de eletrólitos. Portanto, ambos os métodos poderiam ser escolhidos pelos viveiristas, dependendo da disponibilidade de produtos e equipamentos.

Em mudas de *Hymenaea courbaril*, o teor de compostos fenólicos quantificados nas folhas foram aumentados com a aplicação dos dois tratamentos rustificativos em mudas do estágio I. Para a mesma espécie, a aplicação dos dois métodos rustificativos foram eficientes em promover a sinalização de condições estressantes e por isso poderiam ser recomendados. Morfologicamente, a imposição do estímulo mecânico foi mais drástico para a espécie, principalmente para a área foliar e biomassa aérea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de. M.; SPAROVEK, G. K Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, CH, v. 22, n. 6, p. 711–728, jan. 2013. Disponível em: <http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/Alvares_etal_2014.pdf>. Acesso em: 16 de abr. 2019.
- AOYAMA, W.; MATSUMURA, A.; TSUTSUMI, Y.; NISHIDA, T. Lignification and peroxidase in tension wood of *Eucalyptus viminalis* seedlings. **Journal of Wood Science**, JP, v. 47, n. 6, p. 419-424, ago./nov. 2001. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF00767892.pdf> >. Acesso em: 19 de out. 2021.
- ARAÚJO, M. M.; NAVROSKI, M. C.; SCHORN, L. A. Caracterização e análise de atributos morfológicos indicadores da qualidade de mudas em viveiro florestal. In: ARAÚJO, M. M. et al. **Produção de sementes e mudas: um enfoque na silvicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2018. cap. 16, p. 347-365.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, USA, v. 24, n. 1, p. 1-15, jan. 1949. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/24/1/1>>. Acesso em: 28 de jul. 2017.
- BAJJI, M.; KINET, J. M.; LUTTS, S. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). **Canadian Journal of Botany**, CA, v. 80, p. 297–304, jun. 2002. Disponível em: <<https://core.ac.uk/display/34186626>>. Acesso em: 19 de out. 2021.
- BARBIERI JÚNIOR, E.; ROSSIELLO, R. O. P.; MORENZ, M. J. F.; RIBEIRO, R. C. Comparação de métodos diretos de extração e quantificação dos teores de clorofilas em folhas do capim tifton. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, p. 633-636, mar. 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/9xDr8bTXG6bHq8ST34TFjtv/?format=html#>>. Acesso em: 19 de out. 2021.
- BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin Biosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, USA, v. 54, n. 1, p. 519-546, jun. 2003. Disponível em: <<http://www.debiq.eel.usp.br/aferraz/T%C3%B3pico:Esp.:Forma%C3%A7%C3%A3o%20degrada%C3%A7%C3%A3o%20da%20parede%20celular/aula%20Lignin%20biosynthesis%20Review%20Boerjan%202003.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.
- BRAZ, R. L.; OLIVEIRA, J. T. da. S.; ROSADO, A. M.; VIDAURRE, G. B.; PAES, J. B.; TOMAZELLO FILHO, M.; LOIOLA, P. L Caracterização anatômica, física e química da madeira de clones de *Eucalyptus* cultivados em áreas sujeitas à ação de ventos. **Ciência da Madeira**, Pelotas, RS, v. 5, n. 2, p. 127-137, jan./set. 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/cienciadamadeira/article/view/4790/3546>>. Acesso em: 05 de out. 2019.
- CALDERÓN-PERALTA, C. V.; JIMÉNEZ-HERNÁNDEZ, J.; MALDONADO-ASTUDILHO, Y. I.; FLORES-CASAMAVOR, V.; ARÁMBULA-VILLA, G.; SALAZAR, R. Influence of *Hymenaea courbaril* gum as a new additive on nixtamalized flour properties and quality of tortilla. **Journal of Food Process Engineering**, USA, v. 40, n. 1, p. 1-10, dez. 2017.

Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfpe.12525>>. Acesso em: 23 de jun. 2019.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; COUTINHO, P. W. R.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. de M. Metil jasmonato e flexões caulinares na rustificação e crescimento inicial de mudas de *Cordia trichotoma*. **Cerne**, Lavras, MG, v. 21, n. 4, p. 657-664, mai./dez. 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cerne/v21n4/2317-6342-cerne-21-04-00657.pdf>>. Acesso em: 09 de jun. 2017.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de M.; DRANSKI, J. A. L.; COUTINHO, P. W. R. Morphometric changes and post-planting growth as a response to hardening on *Tabebuia roseo-alba* seedlings. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 51, n. 3, p. 539-546, jul./set. 2021. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/67358/43967>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CARVALHO, P. E. R. Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*). In: _____. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2003. p. 599-607.

COSTA, W. S.; SOUZA, A. L. de.; SOUZA, P. B. de. Jatobá-*Hymenaea courbaril* L. In: _____. **Ecologia, manejo, silvicultura e tecnologia de espécies nativas da Mata Atlântica**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011, p. 1-18.

COUTAND, C. Mechanosensing and thigmomorphogenesis, a physiological and biomechanical point of view. **Plant Science**, IE, v. 179, n. 3, p. 168-182, set. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168945210001263>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

DEL CAMPO, A. D.; NAVARRO, R. M.; CEACERO, E. C. J. Seedling quality and field performance of commercial stocklots of containerized holm oak (*Quercus ilex*) in Mediterranean Spain, an approach for establishing a quality standard. **New Forests**, NL, v. 39, n. 1, p. 19-37, mai./jun. 2010. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11056-009-9152-9>>. Acesso em: 09 de ago. 2017.

DIAS, L. S.; LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Physicochemical and bioactive properties of *Hymenaea courbaril* L. pulp and seed lipid fraction. **Industrial Crops and Products**, NL, v. 49, n. 1, p. 610-618, ago. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/276174153_Physicochemical_and_bioactive_properties_of_Hymenaea_courbaril_L_Pulp_and_seed_lipid_fraction>. Acesso em: 25 de jun. 2019.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Relationship between lignin content and quality of *Pinus taeda* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 905-913, out. 2015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rarv/a/xJ7gzPZLYY5cLYHbTJ8QxWj/?lang=en#>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

FAGAN, E. B.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; CHALFUN JÚNIOR, A.; DOURADO NETO, D. Jasmonatos. In: _____. **Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais**. 1. ed. São Paulo: Ed. Andrei LTDA, 2015, p. 173-182.

GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, USA, v. 53, n. 5, p. 1370-1373, jan. 2005. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf048396b?journalCode=jafcau>>. Acesso em: 24 de jul. 2017.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, Ribeirão Preto, SP, v. 30, n. 2, p. 374-381, jul./out. 2007. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_374_25-RV05289.pdf>. Acesso em: 20 de nov. 2017.

GUO, J.; YANGA, Y.; WANGA, G.; YANGA, L.; SUNA, W. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. **Physiologia Plantarum**, Sweden, USA, v. 139, n. 4, p. 335-347, ago./mar. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/41968132_Ecophysiological_responses_of_Abies_fabri_seedlings_to_drought_stress_and_nitrogen_supply>. Acesso em: 23 de ago. 2017.

HEBERLE, K.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria e lignificação em função da aplicação de ácido jasmônico em mudas de ipê roxo e guajuvira. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, PR, v. 17, p. 317-325, jul./set. 2018. Disponível em: <<https://e-revista.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/19837/13441>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

JACOBS, D.F.; LANDIS, T.D. Hardening. In: DUMROESE, R.K.; LUNA, T.; LANDIS, T.D. (Eds.). **Nursery manual for native plants**: Guide for tribal nurseries. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. cap 12, p. 217-228.

JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to Bryoniadiocia. **Planta**, DE, v. 114, n. 2, p. 143-156, mar./jul, 1973. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00387472>>. Acesso em: 17 de dez. 2020.

JUNG, S. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. **Plant Physiology and Biochemistry**, FR, v. 42, n. 3, p. 225-231, mar. 2004. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/8650007_Effect_of_chlorophyll_reduction_in_Arabidopsis_thaliana_by_methyl_jasmonate_or_norflurazon_on_antioxidant_systems>. Acesso em: 19 de out. 2021.

KAZMIERCZAK, S.; HILIG, E.; IWAKIRI, S. Painéis Compensados Fabricados com Lâminas de Três Espécies de Eucaliptos. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 24, P. 1-9, out. 2017. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/floram/v24/2179-8087-floram-24-e00111614.pdf>>. Acesso em: 08 de out. 2019.

LIMA, P. R.; MALAVASI, U. C.; LOPES, M. M.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. de M.; BORSOI, A. Lignin and stem flexibility in eucalyptus seedlings subjected to hardening. **Ciência florestal**, Santa Maria, RS, v. 30, n. 2, p. 352-366, abr./jun. 2020. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/cflo/a/bZxdkVDVpW9VJ6yNPJRGrMb/?format=pdf&lang=en>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

LORENZI, H. Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*). In: _____. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 1. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARDANI, H.; BAYAT, H.; SAEIDNEJAD, A. H.; REZAIE, E. E. Assessment of Salicylic Acid Impacts on Seedling Characteristic of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) under Water Stress. **Notulae Scientia Biologica**, Cluj-Napoca, RO, v. 4, n. 1, p. 112-115, dez./fev. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/307650959_Assessment_of_Salicylic_Acid_Impacts_on_Seedling_Characteristic_of_Cucumber_Cucumis_sativus_L_under_Water_Stress/link/57ce9a5008ae83b37461eb20/download>. Acesso em: 19 de out. 2021.

MARTIN, L.; LEBLANC-FOURNIER, N.; JULIEN, J. L.; MOULIA, B.; COUTAND, C. Acclimation kinetics of physiological and molecular responses of plants to multiple mechanical loadings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, USA, v. 61, n. 1, p. 2403-2412, mai./abr. 2010. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/MED/20363866>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

MATHEUS, M. T.; AMARAL, J. A. T.; SILVA, D. G. G.; NEVES, D. M.; PIZZOL, E. C. S.; SOUSA, F. C.; SANTI, G. C.; GUARIZ, H. R.; LIMA, K. A.; HOFFMANN, R. G. Sintomas de deficiência nutricional em Jatobá. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, SP, v. 17, n. 1, p. 89-97, fev. 2011. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/QfE7LwYvsoouuxw_2013-4-29-11-39-55.pdf>. Acesso em: 21 de jun. 2019.

MONTEIRO, M. B. O.; PEREIRA, R. P. W.; ABREU, H. S. Compositional Analysis of the lignina of *Eucalyptus urophylla* treated with JA e 2,4-D. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, Londrina, PR, v. 1, n. 2, p. 48-56, mai./jul. 2012. Disponível em: <<https://core.ac.uk/display/44792359>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

NCUBE, B.; FINNIE, J. F.; STADEN, J. VAN. Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. **South African Journal of Botany**, ZA, v. 82, n. 1, p. 11-20, jul./set. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/277450842_Quality_from_the_field_The_impact_of_environmental_factors_as_quality_determinants_in_medicinal_plants>. Acesso em: 23 de nov. 2017.

NITSCHKE, P. R.; CARAMORI, P. H.; RICCE, W. da S.; PINTO, L. F. D. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 2019. 216p.

NOVAES, E.; KIRST, M.; CHIANG, V.; WINTER-SEDEROFF, H.; SEDEROFF, R.; Lignin and biomass: A negative correlation for wood formation and lignin content in trees. **Plant Physiology**, USA, v. 154, n. 1, p. 555-561, out. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/47336388_Lignin_and_Biomass_A_Negative_Correlation_for_Wood_Formation_and_Lignin_Content_in_Trees>. Acesso em: 19 de out. 2021.

OLIVEIRA, B. de.; ABREU, H. dos. S.; PEREIRA, R. P. W. Teor de lignina em plantas de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake tratadas com fitorreguladores. **Silva Lusitana**, Lisboa, PT, v. 17, n. 1, p. 51-57, ago./out. 2009. Disponível em: <http://www.if.ufrj.br/biolig/artigos_publicados/Teor%20de%20lignina%20em%20plantas%20de%20Eucalyptus%20urophylla%20S.%20T.%20Blake%20tratadas%20com%20fitorreguladores.pdf>. Acesso em: 19 de out. 2021.

OLIVEIRA, P. L. de. Sinais e transdução de sinal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 15, p. 83-170.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology**, NL, v. 3, n. 4, p. 146-152, nov. 2012. Disponível em: <<https://www.todafruta.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Metab%C3%B3litos-sekund%C3%A1rios-ARTIGO.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

PEREIRA-NETTO, A. B. Brassinoesteroides, Jasmonatos, Ácido salicílico e poliaminas. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. cap. 14, p. 276-285.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, USA, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, nov. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3329344/>>. Acesso em: 23 de nov. 2017.

RANKENBERG, T.; GELDHOF, B.; VEEN, H.; HOLSTEENS, K.; POEL, B. V. de.; SASIDHARAN, R. Age-dependent abiotic stress resilience in plants. **Trends in Plants Science**, UK, v. 26, n. 7, p. 692-705, jul. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33509699/>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

ROSA, L. M. G. Fotossíntese: reações luminosas. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 7, p.171-199.

SANCHEZ, F. Jasmonatos: compuestos de alto valor para la agricultura: actividad biológica y ruta biosintética del ácido jasmónico en plantas. **Revista ICIDCA**, La Habana, CU, v. 42, n. 1, p. 51-59, dez. 2008. Disponível em: <<http://exa.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Jasmonatoscompuestosaltovaloragricultura.%20ParteI.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

SANTARÉM, R. R. Transporte e translocação de água e solutos. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 1, p.83-170.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

SEIFERT, G. J.; BLAUKOPFC. Irritable walls: the plant extracellular matrix and signaling. **Plant Physiology**, USA, v. 153, n. 2, p. 467-478, out. 2010. Disponível em: <<https://academic.oup.com/plphys/article/154/2/555/6111435>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

SHARMA, P.; SINGH, R.P. Evaluation of antioxidant activity in foods with special reference to TEAC method. **American Journal of Food Technology**, USA, v. 8, p. 83-101, abr./jun. 2013. Disponível em: <<https://scialert.net/fulltext/?doi=ajft.2013.83.101>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

TAMAOKI, D.; SEO, S.; YAMADA, S.; KANO, A.; MIYAMOTO, A.; SHISHIDO, H.; MIYOSHI, S.; TANIGUCHI, S.; AKIMITSU, K.; GOMI, K. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. **Plant Signal Behav**, USA, v. 8, n. 6, p. 1-4. mar./jun. 2013. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4161/psb.24260?needAccess=true>>. Acesso em: 30 de jul. 2019.

TELEWSKI, F.W.; M. J. JAFFE. Thigmomorphogenesis: field and laboratory studies of *Abies fraseri* in response to wind or mechanical perturbation. **Physiologia Plantarum**, UK, v. 66, n. 1, p. 211–218, fev. 1986. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.1986.tb02411.x>>. Acesso em: 08 de jun. 2021.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. L.; SANTOS, A. R.; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luís: EDUFMA, 2010, 230p.

VOLKWEIS, C. R.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 2, p. 339-342, abr./jun. 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/14571/pdf>>. Acesso em: 08 de ago. 2017.

WASTERNAK, C.; HAUSE, B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. **Annals of Botany**, UK, v. 111, n. 6, p. 1021–1058, jun./abr. 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/aob/article/111/6/1021/151869>>. Acesso em: 30 de jul. 2019.

WILNER, J. Results of laboratory tests for winter hardiness of woody plants by electrolyte methods. **Proceedings American Horticulture Science**, Norman, USA, v. 66, p. 93-99, jun./jul. 1955. Disponível em: <<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/sbiol/vk/linden/measurin.pdf>>. Acesso em: 04 de jul. 2016.

CAPÍTULO IV: QUANTIFICAÇÃO DE AJUSTADORES OSMÓTICOS EM MUDAS DE JATOBÁ E EUCALIPTO SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO APÓS A RUSTIFICAÇÃO

RESUMO

Muitos estudos são desenvolvidos frequentemente com o objetivo de aumentar a tolerância dos vegetais a condições de déficit hídrico e o uso eficiente de água, visto que, a água é um dos fatores mais limitantes à produção. O propósito da pesquisa foi avaliar as respostas bioquímicas nas mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L. sob restrição hídrica, quantificando a variação na concentração de ajustadores osmóticos. No ensaio foram utilizadas mudas de eucalipto e jatobá produzidas via semente e conduzidas em ambiente protegido pertencente à Unioeste, no *Campus* de Marechal Cândido Rondon. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial e constituído de controle, metil jasmonato e flexões caulinares, três períodos de déficit hídrico (4, 8, 12 dias) e quatro repetições, totalizando 36 mudas por estágio em mudas de eucalipto. Em mudas de jatobá seguiu-se o mesmo delineamento da espécie anterior, entretanto os períodos foram de 5, 10 e 15 dias e três repetições apenas. O período distinto entre as avaliações das espécies pode ser justificada pela maior tolerância do jatobá a falta de água, observado via teste preliminar. As determinações foram o conteúdo relativo de água (CRA), aminoácidos, proteínas, prolina, glicina-betaína e temperatura foliar. A temperatura foliar foi alterada em função da evolução dos períodos de déficit hídrico no híbrido e na espécie. Ainda, nas mudas de eucalipto o CRA reduziu em todos os tratamentos aplicados no estágio II e III, com destaque naquelas plantas tratadas mecanicamente, que refletiu em maior resistência à perda de água, apesar dos valores baixos. O conteúdo de solutos foi alterado em função da condição estressante na mesma espécie, por exemplo, o teor de aminoácido, prolina e glicina foram incrementados à medida que os dias de déficit hídrico evoluíram até os 12 dias, enquanto que, a concentração de proteínas reduziu, como consequência da conversão de proteínas em aminoácidos. Em mudas de jatobá, os valores iniciais do CRA observados foram próximos de 70 % nas mudas controle e aquelas submetidas a aplicação de metil jasmonato, com percentual de redução de 76,23 e 82,64 %, respectivamente. Em mudas rustificadas mecanicamente, apesar das plantas avaliadas aos 5 dias apresentarem menor conteúdo hídrico, a redução foi menor. Nas raízes de jatobá no estágio II, o maior acréscimo no conteúdo de aminoácidos foi observado em mudas não rustificadas e as médias variaram de 31,62 a 47,67 μmol de aminoácidos g^{-1} de MS.

Palavras-chave: Folhas. Metil jasmonato. Flexões caulinares. Raízes. Restrição hídrica.

QUANTIFICATION OF OSMOTIC ADJUSTERS IN JATоба AND EUCALYPTUS SEEDLINGS SUBMITTED TO WATER DEFICIT AFTER HARDENING

ABSTRACT

Many studies are developed frequently with the objective of increasing the tolerance of plants to conditions of water deficit and the efficient use of water, since water is one of the most limiting factors to production. The purpose of the research was to evaluate the biochemical responses in *Eucalyptus urograndis* and *Hymenaea courbaril* L. seedlings under water restriction, quantifying the variation in the concentration of osmotic adjusters. In the test, eucalyptus and jatoba seedlings produced via seed and conducted in a protected environment belonging to Unioeste, on the Campus of Marechal Cândido Rondon, were used. The design used was a factorial design, consisting of control, methyl jasmonate and stem bending and three periods of water deficit (4, 8, 12 days), with four replications, totaling 36 seedlings per stage in eucalyptus seedlings. In jatoba seedlings, the same design as the previous species was followed, however the periods were of 5, 10 and 15 days and only three replications. The different period between species evaluations can be justified by the higher tolerance of jatoba to lack of water, observed through preliminary test. Determinations were relative water content (RWC), amino acids, proteins, proline, glycine-betaine and leaf temperature. Leaf temperature was altered as a function of the evolution of periods of water deficit in the hybrid and in the species. Still, in eucalyptus seedlings, RWC reduced in all treatments applied in stages II and III, especially in those mechanically treated plants, which reflected in greater resistance to water loss, despite the low values. The solute content was altered as a function of the stressful condition in the same species, for example, the amino acid, proline and glycine content were increased as the days of water deficit progressed to 12 days, while the protein concentration reduced, as a consequence of the conversion of proteins into amino acids. In jatoba seedlings, the initial values of RWC observed were close to 70 % in the control seedlings and those submitted to the application of methyl jasmonate, with a reduction percentage of 76.23 and 82.64 %, respectively. In mechanically hardened seedlings, although the plants evaluated at 5 days had lower water content, the reduction was smaller. In jatoba roots at stage II, the greatest increase in amino acid content was observed in non-hardening seedlings and the averages ranged from 31.62 to 47.67 μmol of amino acids g^{-1} of DM.

Keywords: Leaves; Methyl jasmonate. Stem flexions. Roots. Water restriction.

INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Eucalyptus* são utilizadas por seu potencial madeireiro, na indústria de celulose, construção civil e produção de carvão. O uso do superclone vem aumentando gradativamente em áreas produtivas. Resultante do melhoramento genético os híbridos *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla* englobam as características de crescimento primário do primeiro, enquanto o segundo híbrido abrange as características de qualidade da madeira, tolerância a doenças e falta de água (QUILHÓ; MIRANDA; PEREIRA, 2006; HSING, PAULA; PAULA, 2016).

As plantações de espécies exóticas em especial do eucalipto têm gerado grande controvérsia quanto ao uso excessivo de água. Porém, há consenso que os fatores que impactam o uso excessivo de água estão mais ligados às propriedades do solo, declividade e disponibilidade hídrica das áreas do que a espécie propriamente dita (FRITZSON; PARRON, 2017).

O jatobá pertence à família Fabaceae com área de ocorrência por toda a América. No Brasil pode ser encontrado entre as regiões do Amazonas e Centro-Oeste brasileiro. Além disso, o jatobá apresenta pluralidade quanto ao uso e nos últimos anos vem sendo muito utilizado na recomposição de reservas florestais (CARVALHO, 2003).

A madeira do jatobá apresenta alta qualidade, o material vegetativo apresenta substâncias e componentes interessantes na síntese de fármacos, além de ser uma ótima opção na indústria alimentícia, recuperação de áreas degradadas, incorporação em sistemas mistos, principalmente agroflorestas e potencial paisagístico (COSTA; SOUZA; SOUZA, 2011).

O estresse hídrico pode desencadear modificações drásticas nas atividades vegetais essenciais pois, as plantas fecham os estômatos, reduzindo a condutância estomática e aumentando a resistência a troca de água e gases, ou mesmo, reduzindo a área fotossintética ativa, afetando o crescimento e desenvolvimento. Além das alterações fisiológicas, outras podem ocorrer a nível celular ou molecular, alterando a conformação genética, positivamente ou negativamente, dependendo da intensidade do estresse e do período de exposição (GUO et al., 2010; LOPES et al., 2011; BHARGAVA; SAWANT, 2013; VALDÉS et al., 2013).

Blumwald e Mittler (2017) conceituaram que, o estresse hídrico ocorre em quatro fases. Primeiramente, a planta apresentará redução das atividades metabólicas essenciais, principalmente taxa de fotossíntese e transpiração, devido ao fechamento estomático. Em segundo lugar, iniciam-se as estratégias das plantas a fim de tolerarem essas condições, por meio de ajustamento osmótico, principalmente. Posteriormente, mediante a persistência do

estresse e no caso das estratégias desenvolvidas anteriormente não serem mais suficientes, pode haver a morte da planta. Finalmente, no caso onde o estresse foi interrompido e a planta não chegou no limiar de estresse extremo, pode se recuperar, com riscos às suas atividades normais e retomar seu desenvolvimento e crescimento.

Uma estratégia vegetal ao déficit hídrico é o ajuste osmótico, que objetiva manter a turgescência celular, por meio do equilíbrio dinâmico entre solutos e solúveis no meio intra e extracelular. O acúmulo dessas substâncias, a curto prazo, irá melhorar a tolerância dos vegetais ao déficit hídrico pelo aumento nas concentrações de prolina, glicina-betaína e açúcares solúveis nos vacúolos ou mesmo no citosol das células. Ademais, os solutos irão proteger a integridade das membranas e atuarão na inativação de produtos tóxicos gerados a partir da resposta do sistema de defesa vegetal, no caso, às espécies reativas de oxigênio (SILVEIRA et al., 2009; BLUMWALD; MITTLER, 2017).

Os solutos ou osmólitos compatíveis são compostos inorgânicos que, em tese, não influenciam negativamente no metabolismo celular, mesmo quando aumentados significativamente. A síntese desses compostos ocorre de forma irreversível, a citar, a produção de prolina, ou por meio da combinação da síntese e catabolismo, como por exemplo, a prolina, o objetivo é produzir estruturas mais simples e facilmente transportadas. Ao final da condição estressante, esses componentes simples, ou monômeros sofrem o processo de polimerização e podem ser reaproveitados pelos vegetais (MARIJUAN; BOSCH, 2013; BERGONCI, 2017).

A regulação osmótica, no entanto, irá ser afetada pela intensidade do déficit hídrico assim como da resposta peculiar de cada planta. Por isso, a quantificação desses compostos é importante, pois irá predizer o grau do estresse, assim como a eficiência e velocidade das respostas dos vegetais.

Estudos são desenvolvidos frequentemente com o objetivo de aumentar a tolerância dos vegetais a condições de déficit hídrico e o uso eficiente de água. A estratégia mais válida seria o melhoramento genético, no entanto, o método é oneroso e relativamente lento. Logo, faz-se uso de práticas alternativas de manejo com a finalidade de aumentar a tolerância a condições ambientais adversas e manter o funcionamento das plantas mesmo sob condições restritivas.

O processo de rustificação pode ser uma opção vantajosa quando se trata do aumento da tolerância das plantas, amenizando o choque pós-plantio, já que, essa técnica visa agilizar às respostas defensivas dos vegetais às condições não ideais encontradas a campo, induzindo e antecipando esses estresses em ambiente protegido (JACOBS; LANDIS, 2009).

Esse aparato defensivo pode estar presente nas plantas independentemente de serem expostas ou não as adversidades (defesa constitutiva) ou serem sintetizados posteriormente a

invasão de pragas e patógenos ou mesmo sobre restrições ligadas ao ambiente (defesa induzida) (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013). A questão é que, o tempo de resposta das plantas pode ser um diferencial na hora de tolerar essas condições, assim como impactarão na sobrevivência destas na hora de compor os plantios florestais.

A aplicação de reguladores vegetais de crescimento, tal como o uso de estímulos mecânicos podem ser utilizados com a finalidade de promover a rustificação em mudas de espécies lenhosas florestais (ORO et al., 2012; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI; MALAVASI; MALAVASI, 2015; HEBERLE et al., 2018; CADORIN et al., 2021).

O ácido jasmônico (JA), assim como o metil jasmonato (MeJA), por exemplo, são importantes reguladores do desenvolvimento vegetal, atenuando o efeito de estresses abióticos e bióticos. Além de atuar na defesa das plantas, o regulador atua na germinação de sementes, frutificação, floração, crescimento radicular, além de alterar a fisiologia dos indivíduos, como por exemplo, abertura e fechamento dos estômatos (AVANCI et al., 2010).

A flexão caulinar é outra prática rustificativa que pode ser introduzida nas práticas de viveiro, pois simula os estresses mecânicos que os vegetais lenhosos podem ser expostos frequentemente. Como resultado desse processo, os vegetais podem aumentar a tolerância e maximizar a sobrevivência. Entretanto, essa prática deve ser realizada com cautela, porque a linha entre aumento da tolerância e intensificação do estresse pode ser muito tênue e ao invés de melhorar o desenvolvimento das plantas irá ter o resultado contrário (RAMOS et al., 2012; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI; MALAVASI; MALAVASI, 2015).

Assim, o propósito da pesquisa foi avaliar as respostas bioquímicas das mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L. sob restrição hídrica, quantificando a variação na concentração de ajustadores osmóticos e substâncias indicadoras de estresses, ligadas ao metabolismo do nitrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no oeste do Estado do Paraná, latitude de 24° 33' 24'' S, longitude de 54° 05' 67'' W e altitude de 420 m. Pela classificação climatológica do IAPAR e Köppen, o clima da região é do tipo Cfa, subtropical (ALVARES et al., 2013), com médias térmicas variando entre 22 e 23 °C, boa distribuição de chuvas durante o ano e caracterizado por verões quentes (NITSCHKE et al., 2019).

O experimento foi conduzindo em ambiente protegido, as medições da umidade relativa e da temperatura do ar foram obtidas diariamente com o auxílio de um datalogger

(Modelo KlimaLogg Smart). Os valores médios, máximos e mínimos dessas variáveis estão tabuladas no apêndice B deste trabalho.

As mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* L. foram produzidas via semente e conduzidas em ambiente protegido com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, equivalente a 20% de sombreamento.

No ensaio foram utilizadas sementes de *Eucalyptus urograndis* cultivar RIP01, obtida no Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), com procedência: Bofete, SP. O plantio estava localizado na área de produção de sementes (APS), geração F3, com ano de coleta em 2018, pureza igual a 0% e lote: BO0035N01. Estas foram armazenadas na geladeira, com temperatura entre 4 e 5 °C, obtido com um termômetro de Mercúrio.

Com relação ao jatobá, as sementes foram adquiridas na empresa Rede de Sementes (Portal Amazônia), com local de coleta classificado como primário. As sementes foram coletadas de 28 matrizes entre os municípios de Carlinda e Nova Guarita, Mato Grosso, em áreas de floresta plantadas e espontâneas, em dossel ou isoladas. As plantas apresentavam altura variando entre 7 e 34 metros e diâmetro de 43 a 250 cm. As árvores estavam distribuídas entre solos arenosos, argilosos, pedregoso e encharcados com as mais diversas finalidades, entre os quais, áreas de agrofloresta e pastagem na cidade de Carlinda, enquanto que, para a cidade de Nova Guarita, o uso se restringia a pomares e pastagem.

As sementes após a recepção foram armazenadas a temperatura (16 °C) e umidade (40%) em câmara de armazenamento de sementes até serem utilizadas.

As sementes de jatobá foram escarificadas no sentido contrário ao eixo embrionário com uma lixa de ferro nº 36, a fim de superar a dormência tegumentar e foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 10% por 30 minutos e lavadas posteriormente. Em seguida as sementes foram submersas em água por 48 horas.

As mudas de eucalipto foram propagadas em tubetes de 120 cm³ com a semeadura de 5 sementes, aproximadamente, por recipiente. Após duas semanas, as plântulas foram desbastadas, mantendo a plântula com maior altura e protófilos (primeira folha verdadeira após a formação do cotilédone) bem formados. Com o jatobá, as sementes foram distribuídas uma por tubete com volume de 290 cm³.

O substrato comercial utilizado foi o Humusfertil® vermicomposto a base de casca de pinus, areia e vermiculita, com às respectivas garantias, condutividade elétrica de 1,5 mS cm⁻¹; densidade de 480 kg m⁻³; potencial hidrogeniônico (pH) de 6,5; umidade máxima e capacidade de retenção de (CRA) em massa/massa igual a 60%.

As mudas foram conduzidas inicialmente seguindo o delineamento descrito nos capítulos anteriores. Os tratamentos foram controle (Cont), rustificação química por meio da aplicação de metil jasmonato (MeJA) e de flexões caulinares (Flexões).

O tratamento químico constou de solução de metil jasmonato na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, água deionizada e 30 mL de tensoativo não iônico (Agral-Syngenta®) em 100 L de água, de acordo com a recomendação do fabricante. Este produto foi usado a fim de aumentar o espectro de absorção da solução aplicada sobre a folha, tal como, atuar sob a tensão superficial das gotas, maximizando o aproveitamento do produto.

Este produto foi usado a fim de aumentar o espectro de absorção da solução aplicada sobre a folha, tal como, atuar sob a tensão superficial das gotas, maximizando o aproveitamento do produto.

A solução foi aplicada com pulverizador manual entre as 18h00min e 18h30min, devido às condições climáticas mais amenas naquele horário, a citar, temperaturas mais baixas e umidade mais alta. A quantidade aplicada foi equivalente a 100 L ha⁻¹ no eucalipto e jatobá, seguindo às recomendações da tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas.

O tratamento mecânico consistiu em 20 flexões caulinares diárias com velocidade constante de 0,10 m s⁻¹ durante 4 semanas e nos mesmos horários. A estrutura utilizada com a finalidade de realizar a prática de flexões nos caules foi descrita por Volkweis et al. (2014) conforme o modelo proposto por Jacobs e Landis (2009).

A aplicação dos tratamentos foi aos 70, 100 e 130 dias após emergência - DAE (estádio I, II e III, respectivamente) em mudas de eucalipto do período de novembro de 2019 a fevereiro de 2020 enquanto nas mudas de jatobá a aplicação ocorreu aos 50, 80 e 110 DAE, no mesmo período citado acima e na mesma conformação.

O teste realizado com as mudas rustificadas foi a submissão das mesmas ao déficit hídrico, onde, parte das mudas, respeitando o delineamento imposto anteriormente, foram aleatoriamente selecionadas e transferidas para vasos de 3 litros, com furos no fundo, com o objetivo de facilitar o escoamento de água, a fim de testar a sobrevivência e a indução das respostas bioquímicas à restrição de água. Nesses vasos, foi utilizado solo local, seco e destorroado caracterizado como LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico com textura muito argilosa (SANTOS et al., 2013) e porcentagens granulométricas iguais a 12,47% de areia; 23,23% de silte e 64,30% de argila (Tabela 1).

Tabela 1- Análise química do solo utilizado em vasos na quantificação de déficit hídrico em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril*

Macronutrientes			Micronutrientes		
Elementos	Resultados (Cmol _c dm ⁻³)	Interpretação	Elementos	Resultados (mg dm ⁻³)	Interpretação
Cálcio	4,02	Alto	Ferro	40,16	Alto
Magnésio	1,77	Alto	Zinco	10,76	Muito alto
Potássio	0,83	Muito alto	Cobre	15,50	Muito alto
Fósforo (mg dm ⁻³)	19,51	-	Manganês	169	Muito alto
Cmol _c dm ⁻³			g dm ⁻³		
Soma de bases (SB)	6,62		Carbono	10,52	Médio
CTC _{efetiva}	6,66	Alto	M. Orgânica	18,14	Médio
CTC _{pH7,0}	10,34	Médio			
Acidez potencial (H+Al)	3,72				
Acidez trocável	0,04				

CTC: Capacidade de troca catiônica

Fonte: Rocha et al. (2021).

As mudas, antes de serem submetidas ao déficit hídrico passaram por um período de aclimação de 20 dias, aproximadamente, a fim de evitar que os resultados obtidos fossem proveniente das trocas de recipientes, visto que, esta mudança gerou estresse a esses vegetais. Durante esse período, aquelas foram irrigadas manualmente entre duas e três vezes ao dia, dependendo das condições climáticas e umidade do solo onde foram replantadas.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial constituído de controle, metil jasmonato e flexões caulinares, 3 períodos de estresse (4, 8, 12 dias sem água) e 4 repetições, totalizando 36 mudas por estágio em mudas de *Eucalyptus urograndis*. Com mudas de *Hymenaea courbaril* os tratamentos foram os mesmos citados acima, com alteração na disposição dos dias de avaliação e 3 períodos de estresse (5, 10, 15 dias) e 3 repetições. Essa alteração foi baseada na maior tolerância das mudas de jatobá quando submetidas a falta de água observado por meio de um pré-teste baseado nos parâmetros morfológicos.

As determinações foram quantificadas ao final de cada período de estresse e as amostras foram retiradas dos vasos, secas e moídas e enviadas ao Laboratório de Estudo da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, onde as análises bioquímicas foram realizadas, com exceção do conteúdo relativo de água (CRA) (SLAVICK, 1979) que precisou ser quantificado na hora da retirada das mudas dos vasos e com amostras frescas.

O CRA foi determinado nas folhas localizadas no terço médio e completamente expandidas. As determinações bioquímicas consistiram nas seguintes avaliações: aminoácidos solúveis totais (AAS) (PEOPLES et al., 1989), proteínas solúveis totais (BRADFORD, 1976), prolina (BATES; WALDREN; TEARE, 1973), glicina-betaína (GRIEVE; GRATTAN, 1983).

Adicionalmente, determinou-se a temperatura foliar as 08:00, 12:00 e 18:00 hs nos dias das avaliações. Os valores da temperatura foliar foram aferidas com o auxílio de um pirômetro infravermelho (HOMIS® mod. 466A), que trabalha com emissividade ($\epsilon\lambda$) de 95%, seguindo as recomendações do fabricante. Além disso, antes das leituras, realizou-se a calibragem do equipamento, além da limpeza das folhas, onde foram realizadas as leituras.

A quantificação térmica foi realizada em 4 folhas selecionadas, de acordo com a localização e expansão das mesmas. A leitura foi feita na face adaxial das folhas, sempre no terço médio e naquelas que apresentavam-se fotossinteticamente ativas e o equipamento foi posicionado a uma distância aproximada de 1 cm do limbo foliar.

Os resultados obtidos foram testados a fim de confirmar a existência das pressuposições estatísticas, entre as quais, normalidade e homogeneidade dos dados. A primeira utilizou os testes de Kolmogorov-Smirnov, Cramér-von Mises, Anderson-Darling, Kuiper, Watson, Lilliefors, Shapiro-Wilk, enquanto que, a fim de comprovar se as classes foram homogêneas entre si, utilizou-se o teste de Bartlett. Mediante a confirmação, seguiu-se com a análise de variância e por fim, confirmada a significância, estes foram desdobrados e testados pelo teste de comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eucalyptus urograndis

Ao se quantificar a temperatura foliar via termometria infravermelha em mudas de *Eucalyptus urograndis* não se obteve interação significativa ($p > 0,05$) entre práticas rustificativas e dias de estresse quando a avaliação foi realizada às 08:00 hs em mudas pertencentes ao estágio I (Tabela 2).

No entanto, quando a avaliação ocorreu às 12:00 horas em mudas controle (sem a rustificação) quanto nas tratadas (quimicamente e mecanicamente) houve aumento da temperatura foliar com o aumento no número de dias sob déficit hídrico. A maior média foi quantificada aos 12 dias em mudas rustificadas com metil jasmonato (43,98 °C) sem diferir do tratamento com flexões caulinares no mesmo período (Tabela 2).

Quando se trata de temperatura foliar, pequenas alterações podem influenciar na atividade fotossintética e biológica dos vegetais. Assim, a aplicação de metil jasmonato não seria recomendada já que este tratamento pode ter contribuído para o aumento da temperatura foliar, tal como a condição de restrição hídrica imposta. Outro fator que pode contribuir no acréscimo da temperatura foliar é a variação térmica do meio onde os vegetais estavam se desenvolvendo. Corroborando com o acima exposto, Lima et al. (2014) reportaram um aumento

de 1,4 °C na temperatura foliar em mudas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. Ex DC.) submetidas a ciclos de restrição hídrica por quatro dias durante quatro semanas.

Temperaturas foliares elevadas podem ocasionar sérios danos à maquinaria fotossintética. Leakey et al. (2003) demonstraram que temperaturas foliares maiores que 34 °C podem resultar em diminuição na capacidade de transporte de elétrons na cadeia fotossintética, especificamente no fotossistema II, que afetará a fixação de CO₂ via síntese da enzima ribulose 1,5 bisfosfato (Rubisco). Além disso, como consequência do aumento gradativo da temperatura, poderá haver fotoinibição ou degradação dos componentes fotossintéticos, a fim de proteger as células (BASSOW et al., 1994; BERNACCHI et al., 2001; MEDLYN et al., 2002; MEDLYN; LOUSTAU; DELZON, 2002).

A radiação solar, principalmente nas regiões tropicais elevará a temperatura foliar, nas horas mais quentes do dia até 40 °C e as diferenças entre a temperatura foliar e do ar pode ultrapassar 7 °C (KOCH et al., 1994).

Essa fase do experimento foi conduzida entre os meses de janeiro e abril, tipicamente quentes na região de Marechal Cândido Rondon, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2 no apêndice. Nesse período, a temperatura máxima atingida foi igual a 40,9 °C, o que pode ter intensificado a condição estressante já imposta, resultando no fechamento estomático e elevação das temperaturas, já que, a principal forma de diminuir a temperatura foliar é via transpiração e perda de calor latente resultante da radiação incidente no limbo foliar. Logo, mediante ao fechamento estomático, a troca de água e gases via transpiração também cessou (CHAVES et al., 2002; ENDRES et al., 2010).

Nas mudas pertencentes aos estádios II e III não houve interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos rustificativos e dias de déficit hídrico ao se avaliar a termometria em folhas. Nas mudas dos estádios II e III houve diferença em relação aos dias de estresse nas primeiras avaliações do dia.

Tabela 2- Temperatura foliar medida em três períodos (08:00, 12:00 e 18:00 hs) em mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas a suspensão hídrica por 4, 8 e 12 dias após a rustificação e em função dos estádios de crescimento

Estádio I									
	08:00 hs			12:00 hs			18:00 hs		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Cont	27,70	26,09	27,60	38,63 aA	43,01 aA	38,68 bA	31,12	30,73	29,15
MeJA	28,20	28,35	26,35	35,31 aB	37,20 aB	43,98 aA	31,33	27,87	28,82
Flexões	25,75	27,53	26,30	38,64 aA	41,62 aA	43,38 aA	31,35	29,97	30,09
Estádio II									
	08:00 hs			12:00 hs			18:00 hs		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Cont	26,35	27,44	31,87	34,63	34,64	37,55	27,07	26,52	27,33
MeJA	24,12	27,70	32,90	31,26	33,75	38,71	27,17	25,81	26,37
Flexões	24,87	26,09	33,05	35,18	32,85	3,870	27,48	25,68	27,18
Estádio III									
	08:00 hs			12:00 hs			18:00 hs		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Cont	26,25	28,74	34,10	37,00	33,48	38,55	29,17	26,76	26,06
MeJA	27,08	27,92	35,07	35,50	33,27	38,93	29,72	26,92	25,78
Flexões	24,91	27,32	34,33	31,69	34,37	39,53	28,87	26,87	24,99

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq ,05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < ,01$) e 5 % ($,01 \leq p < ,05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: 12:00hs: dms para colunas e linhas: 1,5464/ CV %: 2,59.

Fonte: Rocha et al. (2021).

As médias do conteúdo relativo de água (CRA) avaliado após o período de aclimação de 20 dias sob irrigação diária em mudas de *Eucalyptus urograndis* foram de 84,50; 93,30; e 88,49 % nas mudas controle, e nas submetidas a aplicação de metil jasmonato e flexões caulinares, respectivamente. Após essa avaliação, as mudas foram submetidas ao déficit hídrico por 4, 8 e 12 dias e apresentaram reduções drásticas no CRA, principalmente no período final de avaliação.

Ao se realizar a determinação do CRA (Tabela 3) os fatores avaliados, tratamentos rustificativos e os dias de restrição hídrica apresentaram interação ($P < 0,05$). Com aquelas do estádio II, as mudas rustificadas com metil jasmonato e com flexões caulinares (42,23 e 39,75 %) já começaram com um volume de água menor aos 4 dias em comparação as mudas controle (56,92 %). Apesar disso, as menores reduções também ocorreram naquelas tratadas, com percentual de 69,85; 59,46; e 54,41 % nas mudas controle e nas submetidas aos tratamentos com MeJA e flexões no caule, respectivamente.

Em mudas de eucalipto do estádio III, os resultados foram muito semelhantes ao observado no estádio II, entretanto, foi com a aplicação de metil jasmonato que se externou redução menos drástica ao se avaliar a maior e menor média obtida neste tratamento quando

comparado aos demais tratamentos avaliados. Nos estádios II e III aos 8 e 12 dias não houve diferença significativa ($P>0,05$) na comparação entre os tratamentos rustificativos e as mudas controle.

Os vegetais apresentam uma resistência natural à perda de água como barreiras estruturais ou até mesmo resistência hidráulica ao transporte de água. Logo, em situações de estresse extremo (oito dias ou mais sob déficit hídrico), a retenção de água irá ocorrer de forma mais efetiva, visto que, a água controla e equilibra o metabolismo vegetal. Quanto maior a intensidade do estresse, maior a resistência à perda de água, o que pode ser visualizado na Tabela 3, na avaliação aos 12 dias (DIVAN JUNIOR, 2017).

Dranski, Malavasi e Malavasi (2017) estudando mudas de *Maytenus ilicifolia* [(Schrad.) Planch.] agrupadas de acordo com a altura e submetidas a três regimes hídricos (diário, rega a cada dois dias e redução gradativa da irrigação) observaram que, até a sexta semana, as mudas irrigadas a cada dois dias e aquelas onde foi feita a redução gradativa de água apresentaram o maior teor relativo de água (TRA), essa avaliação segue o mesmo princípio do CRA, apenas com nomenclatura diferenciada.

Os mesmos autores citados acima reforçaram que, esse resultado foi baseado no fato de que, estas plantas, por estarem passando por um período de transição nos turnos de rega, começaram a criar estratégias a fim de tolerar o estresse e conservar a água, diferente do ocorrido nas plantas controle, que tinham água em abundância. A partir daquele período de seis semanas, o TRA reduziu, independente do tratamento empregado e independente do tamanho das mudas.

Tabela 3- Conteúdo relativo de água (CRA) em mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio II			Estádio III		
	4	8	12	4	8	12
Cont	56,92 aA	18,94 aB	17,16 aB	45,22 bA	13,98 aB	16,50 aB
MeJA	42,23 bA	18,57 aB	17,12 aB	42,71 bA	16,38 aB	15,65 aB
Flexões	39,75 bA	18,12 aB	19,55 aB	48,76 aA	13,02 aB	17,91 aB

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq 0,05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 \leq p < 0,05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio II: dms para colunas e linhas: 22,5645/ CV %: 31,49/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 26,9375/ CV %: 39,86.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Ao se avaliar a concentração de aminoácidos nos tecidos foliares houve interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos rustificativos e os dias de restrição hídrica em mudas dos três

estádios de crescimento. Independente dos tratamentos, esse subproduto da fotossíntese foi incrementado em função da intensificação dos dias do estresse (Tabela 4).

O reflexo desses resultados está relacionado a capacidade das plantas de se ajustarem osmoticamente, aumentando a concentração de solutos, a fim de criar um potencial osmótico negativo e facilitar o transporte de água, mesmo sob condições limitadas. Ademais, fica muito claro que, as concentrações de aminoácidos são inversas ao valor de CRA; ou seja, quanto maior a limitação hídrica, maior o acúmulo daquelas substâncias.

Apesar da proporção geral de produção desse metabólito ter seguido a mesma tendência, é notório que houve diferenças, detectadas estatisticamente, em função da aplicação das práticas rustificativas. Primeiramente, em mudas do estágio I, percebeu-se que, a maior porcentagem do incremento do teor de aminoácidos ocorreu no tratamento controle, com um aumento de 20 %. Com a aplicação de metil jasmonato e flexões as médias aproximadas foram de 17,84 e 19,15 %.

Tal resultado pode estar ligado ao fato de que as mudas ao serem expostas a uma condição estressante controlada através dos tratamentos químico e mecânico apresentavam uma maior tolerância a condições estressantes, por meio da indução antecipada da parafernália defensiva. Logo, além do poder de resposta ocorrer de forma mais rápida, poderá também ocorrer de forma gradativa, permitindo que a muda tolere a condição estressante por um período maior (Tabela 4).

Finalmente, a quantidade e o tipo de soluto osmoticamente ativo acumulados depende da espécie, duração do período de déficit e das condições ambientais que podem modular as respostas a imposição do estresse.

Tabela 4- Concentração de aminoácidos em folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II			Estádio III		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Cont	55,38 bC	61,32 cB	66,55 aA	46,60 cB	60,83 aA	62,91 bA	49,38 aC	53,88 bB	64,96 aA
MeJA	57,04 abB	65,76 bA	67,22 aA	53,23 bB	61,95 aA	63,40 abA	48,68 aC	54,73 bB	65,84 aA
Flexões	58,62 aC	68,03 aB	69,85 aA	61,71 aB	63,27 aAB	65,51 aA	48,57 aB	63,89 aA	65,24 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq ,05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < ,01$) e 5 % ($,01 \leq p < ,05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 2,1636/ CV %: 1,49/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 3,4940/ CV %: 2,54/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 2,5441/ CV %: 1,94.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Nas raízes, respostas semelhantes resultaram com incremento recorrente na concentração de aminoácidos ao passo que os dias de estresse evoluíram. Porém apenas se

detectou interação significativa ($P < 0,05$) entre os fatores avaliados nos estádios mais avançados de desenvolvimento em mudas de *Eucalyptus urograndis* (Tabela 5).

Teixeira et al. (2015) verificaram acréscimos nas concentrações de aminoácidos solúveis totais no sistema radicular de 13,6 até 59,9 de μmol de AA g^{-1} de MS e nas folhas de 19,3 a 74,6 μmol de AA g^{-1} de MS comparando as mudas controle (solo irrigado até a capacidade de campo) e aquelas sob déficit hídrico em um intervalo de 10 dias.

Além disso, apesar da absorção de fontes nitrogenadas ocorrer via foliar, a principal forma de entrada é via raiz. O armazenamento dessas fontes nitrogenadas podem ocorrer na forma de proteínas, tanto nas folhas quanto nas raízes, podendo ser deslocado, posteriormente no sentido fonte-dreno, especialmente nos tecidos radiculares, já que, em condições de restrição de água, as células da raiz precisam apresentar maior acúmulo de solutos, promovendo maior absorção de água, a favor de um gradiente de potencial hídrico (WANG et al., 2010; ASTARITA, 2017; SODEK, 2019).

O aumento nas concentrações dos aminoácidos é consequência do processo de oxidação de proteínas, componentes mais complexos que o anterior, resultando na formação de substâncias mais simples e mais facilmente carregadas ao longo dos vasos condutores (TROVATO; MATTIOLI; COSTANTINO, 2017; ASHRAF et al., 2011; MARAGHNI; GORAI; NEFFATI, 2011).

Adicionalmente, a grande vantagem do acúmulo dos componentes nitrogenados é que, passado o período de estresse e recuperação das plantas, esse nitrogênio poderá ser usado como reserva com intuito de promover a retomada do crescimento das plantas, já que, este elemento tem, entre muitas outras funções, ação na atividade fotossintética (ASTARITA, 2017; SODEK, 2019).

O aumento percentual nas concentrações de aminoácidos nas raízes nas mudas do estágio II de eucalipto, assim como nas folhas, foi menor em mudas tratadas com flexões no caule (5,37 %) enquanto que em mudas não rustificadas e nas que receberam metil jasmonato o aumento foi de 47,13 e 23,62 %, respectivamente. Reforçando a ideia que, sob imposição de condições estressantes antes do período de déficit hídrico, as mudas podem tolerar melhor aquelas condições e produzirem, mais rapidamente os metabólitos ligados a defesa (Tabela 5).

O conteúdo dos solutos compatíveis aos 4 dias no estágio II já eram maiores em mudas rustificadas (42,42 e 51,63), mostrando que após a imposição dos estímulos químico e mecânico as mudas já poderiam ter sintetizado esses compostos a fim de atenuar o estresse, sinalizando a condição adversa. Isso demonstra que, a partir do momento que o vegetal é estimulado, a resposta será mais rápida ou mesmo sua tolerância será modificada, positivamente (Tabela 5).

Tabela 5- Concentração de aminoácidos em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio II			Estádio III		
	4	8	12	4	8	12
Cont	35,43 cB	50,11 aA	52,13 aA	37,94 aC	43,12 bB	54,22 aA
MeJA	42,42 bB	51,29 aA	52,44 aA	37,76 aC	44,18 bB	55,14 aA
Flexões	51,63 aA	52,50 aA	54,12 aA	38,46 aB	52,93 aA	54,52 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq ,05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < ,01$) e 5 % ($,01 \leq p < ,05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio II: dms para colunas e linhas: 3,2054/ CV %: 3,44/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 2,7006/ CV %: 3,05.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A concentração de proteínas foi reduzida à medida que aumentou o número de dias sob déficit hídrico em todos os tratamentos rustificativos em mudas de *Eucalyptus urograndis* (Tabela 6). Além disso, houve interação ($P < 0,05$) entre a rustificação e os dias de restrição hídrica apenas em mudas dos estádios I e II.

Lechinoski et al. (2007) estudando *Tectona grandis* L. f. verificaram resultados semelhantes a pesquisa em questão, onde aquelas plantas não estressadas e as irrigadas diariamente externaram concentrações de proteínas e aminoácidos solúveis totais semelhantes e constantes ao longo das avaliações durante nove dias.

No entanto, a quantidade de proteínas reduziu drasticamente, com valores iguais a 47,814 de proteínas g^{-1} MS em mudas sob irrigação constante, enquanto que, o valor de 2,593 proteínas g^{-1} de MS foi observado aos 9 dias sob restrição hídrica. Esse resultado foi justificado pelo aumento das enzimas proteolíticas responsáveis pela quebra de proteínas armazenadas nas folhas e raízes, transformando-as em fontes nitrogenadas mais simples, entre os quais, os aminoácidos.

Em mudas do estágio III, além da redução (Tabela 6) percebeu-se também que, em todos os períodos de avaliação (4, 8 e 12) os valores ficaram muito próximos, independente do tratamento rustificativo empregado. Aos 8 dias, por exemplo, não se detectou diferença significativa ($P > 0,05$) em mudas rustificadas e as controle com médias iguais a 2,61 e 2,50 mg proteínas g^{-1} de MS. Comportamento semelhante foi observado nos demais períodos de avaliação, no mesmo estágio de crescimento.

Moura et al. (2016) estudando mudas de *Jatropha curcas* L. sob regimes de irrigação de 100, 80, 60 e 40 % da capacidade máxima de retenção de água pelo solo, em plantas irrigadas diariamente observaram que os teores de proteínas nas folhas não diferiram ($P > 0,05$) em função dos tratamentos e períodos de avaliação (60, 90 e 120 dias).

Uma característica das plantas é a grande adaptabilidade a mudanças do ambiente. Logo, essas plantas ao serem colocadas sob restrição hídrica por um período longo foram tolerando e se aclimatando aquela condição. Por isso, com o passar do tempo, a quantidade de compostos ligados ao ajustamento osmótico foi sendo reduzido, já que aquela condição foi se tornando comum.

Quanto à resposta dos vegetais ao ajuste osmótico é importante mencionar que esse processo demanda gasto energético, já que, ocorre contra um gradiente de concentração (BERGONCI, 2017). Os solutos são direcionadas de uma região menos concentrada para outra com maior quantidade, logo, o recurso que seria utilizado para outras atividades serão consumidos para o ajuste de solutos e por isso, mesmo que benéfico, se o estresse se estender por muito tempo, a planta não irá conseguir manter essa estratégia a longo prazo.

Tabela 6- Concentração de proteínas em folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II		
	4	8	12	4	8	12
Cont	3,54 aA	2,66 bB	2,04 bC	3,75 aA	2,61 aB	2,11 bC
MeJA	3,75 aA	2,97 aB	2,25 aC	3,55 bA	2,61 aB	2,48 aB
Flexões	3,67 aA	2,57 bB	2,33 aB	3,58 bA	2,50 aB	2,47 aB

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq ,05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < ,01$) e 5 % ($,01 \leq p < ,05$) de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as minúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,2602/ CV %: 4,85/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,1980/ CV %: 3,71.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Ao se avaliar o conteúdo de proteínas nas raízes em mudas de *Eucalyptus grandis*, só houve interação significativa ($P < 0,05$) com aquelas do estágio II, com redução gradativa do metabólito após o aumento no número de dias sob estresse (Tabela 7). Resultado este esperado, já que, de forma geral, os aminoácidos são acumulados e incrementados em detrimento da degradação de proteínas, pois são mais facilmente redistribuídos nas demais partes das plantas, se tornando importante que haja essa conversão (HOEKSTRA; GOLOVINA; BUITINK, 2001; SARKER; HARA; UEMURA, 2005).

Tabela 7- Concentração de proteínas em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio II		
	4	8	12
Cont	1,75 aA	1,61 aA	1,10 bB
MeJA	1,55 bA	1,61 aA	1,48 aA
Flexões	1,58 bA	1,50 aA	1,47 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,1741/ CV %: 6,00.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A quantificação de prolina no tecido foliar em mudas de eucalipto apresentou interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos rustificativos e os dias de déficit hídrico nas mudas dos três estádios de crescimento. Além disso, foi detectado aumento na concentração desse soluto em todos os tratamentos rustificativos, tal como, nas mudas controle. As porcentagens equivalentes aos incrementos foram de 70,14; 69,80; e 79,42 % em mudas controle e naquelas que receberam jasmonato e flexões caulinares, respectivamente (Tabela 8).

A prolina, além de atuar como ajustador osmótico pode contribuir na estabilização de moléculas, assim como ser compartimentada e usada como fonte de carbono e nitrogênio após a reidratação de plantas. Ademais, pode ser convertida em intermediários ligados ao ciclo de Krebs, atuando na síntese de energia, na forma de ATP (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010; VERSLUES; SHARMA, 2010; BORGO; MAUR; VIEIRA, 2016; TROVATO; MATTIOLI; COSTANTINO, 2017).

Ou seja, essa molécula, mediante a sinalização das plantas em condições de falta de água é uma das primeiras a serem incrementadas, podendo, prever, eficientemente a intensidade do estresse. Quanto maior o tempo de exposição a restrição hídrica, maior a concentração daquelas no conteúdo celular.

Assim, fica evidente, baseado na análise dos valores obtidos que esse aumento da concentração de prolina coincidiu com a redução do valor de CRA, permitindo que haja a manutenção do desenvolvimento vegetal por um período de tempo, enquanto a planta apresentar essas limitações hídricas. Entretanto, se essa condição se mantiver por maiores períodos, ficará cada vez mais difícil manter a turgescência celular por meio do ajustamento osmótico.

Logo, as mudas do estágio I que receberam as flexões caulinares refletiram em maior acúmulo de prolina, ao se comparar as avaliações realizadas no início e ao fim da imposição de

restrição hídrica (aos 4 e 8 dias). Assim, infere-se que, sob baixo teor de água, esse tratamento favoreceu o aumento desse eficiente ajustador osmótico.

O inverso foi obtido em mudas de eucalipto do estágio III onde a porcentagem dos incrementos observados com o passar dos dias foi de 79,71 % no tratamento controle; 70,16 % com a aplicação de MeJA enquanto que com o tratamento mecânico o incremento foi de 63,27 % (Tabela 8).

Tabela 8- Concentração de prolina em folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II			Estádio III		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Cont	3,65 bC	5,16 bB	6,21 Ba	3,23 bC	4,67 bB	6,12 abA	3,45 bC	4,88 aB	6,20 aA
MeJA	3,94 aC	5,69 aB	6,69 aA	3,63 aC	4,84 bB	5,88 bA	3,62 aC	4,81 aB	6,16 aA
Flexões	3,79 abC	5,75 aB	6,80 aA	3,71 aC	5,14 aB	6,25 aA	3,73 aC	4,93 aB	6,09 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,2066/ CV %: 1,69/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,1469/ CV %: 2,21/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 0,1803/ CV %: 1,51.

Fonte: Rocha et al. (2021).

O resultado com prolina nas raízes indicou haver interação ($P < 0,05$) entre práticas rustificativas e período de restrição hídrica em mudas dos estádios I e II. Os acréscimos mensurados em mudas do estágio I foram iguais a 48,85; 52,72; e 51,99 % em mudas controle e as submetidas a MeJA e flexões caulinares, enquanto que, nas mudas do estágio II, as porcentagens foram de 55,26; 39,97; e 44,48 %, na mesma ordem descrita acima (Tabela 9). Nas mudas do estágio II, nos períodos de 4, 8 e 12 dias de restrição hídrica a maior concentração de prolina foi quantificada nas mudas rustificadas via flexões caulinares com valores de 5,71; 7,14 e 8,25 $\mu\text{mol de Pro g}^{-1}$ de MS.

Kubis, Floryszak-Wieczorek e Arasimowicz-Jelonek (2014) detectaram aumento na concentração de prolina nas raízes em plantas de *Cucumis sativus* cv. Dar tratadas com a aplicação de poliaminas e submetidas ao déficit hídrico.

Szabados e Savoure (2010) justificaram o incremento da prolina pela ativação da via metabólica e do precursor responsável pela síntese desse osmólito, nesse caso, o ácido glutâmico, além de envolver a ação, em conjunto de outras substâncias envolvidas no processo de sinalização, como exemplo, tem-se a pirrolina 5-carboxilato sintase e enzimas redutase.

Tabela 9- Concentração de prolina em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II		
	4	8	12	4	8	12
Cont	5,65 aC	7,17 bB	8,41 aA	5,23 bC	6,67 bB	8,12 abA
MeJA	5,69 aC	7,69 aB	8,69 aA	5,63 aC	6,84 bB	7,88 bA
Flexões	5,79 aC	7,75 aB	8,80 aA	5,71 aC	7,14 aB	8,25 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,2719/ CV %: 2,66/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,2798/ CV %: 2,86.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A glicina-betaína é considerada um ajustador osmótico muito eficiente, tal como a prolina, atuando na sinalização contra estresses abióticos, em especial em plantas sob déficit hídrico, promovendo a proteção das células contra a desidratação, plasmólise e consequentemente morte celular (VALLIYODAN; NGUYEN, 2006).

A concentração de glicina nas folhas das mudas de eucalipto só apresentou interação ($P < 0,05$) entre a rustificação e os períodos de estresse nas mudas do estágio I, com acréscimos significativos nas concentrações desse soluto. No tratamento controle o aumento percentual foi igual a 107,11 % enquanto que em mudas tratadas tanto com MeJA quanto pelas flexões os incrementos calculados foram de 81,89 e 77,76 %, respectivamente. Quanto maior o período de déficit hídrico maior foi a síntese daquela molécula (Tabela 10).

Após 4 dias de estresse, as maiores médias ao se avaliar o teor de glicina-betaína foram quantificadas em mudas rustificadas, independente do tratamento, demonstrando a efetividade daqueles contra estresses relacionados a falta de água. O resultado persistiu até os 8 dias de déficit.

Cordeiro et al. (2017) com *Euterpe oleraceae* Mart. após o período de 8 dias sob suspensão hídrica listaram que os incrementos mais significativos em relação aos ajustadores osmóticos foram de prolina, glicina-betaína e sacarose comparado com plantas irrigadas todos os dias.

Em mudas de *Eucalyptus urograndis* do estágio II, a análise do teor de glicina-betaína nas folhas não resultou em interação ($P > 0,05$) entre a aplicação de práticas rustificativas e períodos de déficit hídrico, no entanto, os períodos de restrição diferiram entre si e com médias crescentes à medida que houve a evolução dos dias da condição estressante. Os valores foram iguais a 8,41; 10,49; e 13,51 mg de glicina betaína g^{-1} MS nos 5, 10 e 15 dias de déficit hídrico. Obviamente, à medida que o valor de CRA diminui, a concentração daquele metabolito aumentou gradativamente.

Tabela 10- Concentração de glicina-betaína em folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I		
	4	8	12
Cont	7,31 bC	11,94 bB	15,14 aA
MeJA	8,45 aC	12,76 aB	15,37 aA
Flexões	8,41 aC	12,78 aB	14,95 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,3570/ CV %: 1,40.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A interação entre os tratamentos rustificativos e os períodos de déficit hídrico só foi constatada ($P < 0,05$) em mudas dos estádios I e II ao se quantificar a concentração de glicina-betaína nas raízes nas mudas de eucalipto, com acréscimos de 61,13 (controle); 67,83 (MeJA); e 53,67 (Flexões) mg de glicina betaína g^{-1} MS em mudas do estágio I comparando a avaliação realizada aos 4 dias e 12 dias (Tabela 11).

Em mudas do estágio II os incrementos observados ao se avaliar o teor de glicina foram iguais a 37,08 % no tratamento controle; enquanto que, na aplicação de práticas rustificativas, MeJA e flexões caulinares, as médias foram iguais 47,63 e 30,04 % no conteúdo desse metabólito secundário.

Em mudas do estágio II submetidas a 4, 8 e 12 dias de déficit hídrico a aplicação de metil jasmonato implicou em aumento nas concentrações de glicina em comparação ao tratamento controle. Em mudas de *Eucalyptus urograndis*, a aplicação do regulador vegetal estimulou a síntese de glicina nas raízes e com isso, poderia atenuar a perda de água, assim como, melhorar a conservação da integridade da membrana por meio da síntese de ajustadores osmóticos importantes, a citar a prolina e glicina-betaína (Tabela 11).

Tabela 11- Concentração de glicina-betaína em raízes de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II		
	4	8	12	4	8	12
Cont	8,31 bB	13,19 bA	13,39 bA	7,74 bC	9,48 bB	10,61 cA
MeJA	9,45 aC	14,40 aB	15,86 aA	9,30 aC	11,85 aB	13,73 aA
Flexões	9,41 aC	13,53 bB	14,46 bA	9,62 aC	11,54 aB	12,51 bA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,6947/ CV %: 2,62/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,2503/ CV %: 0,91.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Hymenaea courbaril

Com mudas de *Hymenaea courbaril* classificadas como do estágio I só houve interação entre os tratamentos rustificativos aplicados e o período de déficit hídrico na avaliação realizada as 18:00 hs, com pequena variação térmica. Quando se avalia o horário mencionado anteriormente percebe-se que, a maior variação ocorreu em mudas estressadas e tratadas via flexões caulinares com acréscimo de 1,62 °C da avaliação inicial do déficit hídrico (5 dias) até a final (15 dias) (Tabela 12).

Como mencionado por Pazzetti, Oliva, Lopes (1993), a variação na temperatura foliar é dependente das condições climáticas, que também irão influenciar na taxa de evaporação e transpiração foliar, já que, esses dois processos, combinados ou não, irão promover a troca de água entre as plantas e o meio ambiente (transporte de água a favor de um gradiente de concentração), resultando na regulação hídrica e arrefecimento foliar. Clawson e Blad (1982) postularam que, a severidade do estresse hídrico pode ser mensurada através da elevação da temperatura foliar e predizer a turgidez das células.

Além disso, não com o objetivo de comparar, mas a fim de destacar padrões diferenciados, ao se observar a variação térmica em mudas eucalipto e jatobá percebe-se que, na última espécie, a variação ocorreu de forma mais lenta e menos significativa comparando os tratamentos. Além dos fatores climáticos, as características das plantas, especialmente, a arquitetura e espessura foliar, tamanho e área das folhas e não obstante a inclinação destas pode contribuir para a variação térmica, visto que, esse processo além de ser influenciado pelas trocas de gases entre planta e atmosfera, também pode ser afetado pela exposição à radiação, que pode contribuir, mesmo que indiretamente no aumento na temperatura nas folhas (REICH; WALTERS; ELLSWORTH, 1997). Para mais, a espécie nativa da região amazônica, se desenvolve bem sob altas temperaturas e umidade e por isso, a variação térmica pode ter sido tão sutil (CARVALHO, 2003).

Atkin, Edwards e Loveyes (2000) e Clark (2004) advertiram que a transpiração é o principal fenômeno ligado a manutenção da temperatura foliar e por isso, em condições em que os estômatos estão funcionando equilibradamente, o processo de arrefecimento foliar ocorre mais eficientemente e rapidamente. Além disso, reforçaram que a variação na temperatura, mesmo em menor grau pode definir se estas irão sobreviver ou morrer, em uma condição de estresse.

No trabalho desenvolvido com jatobá, estas estavam sob condição restritiva de água e muito provavelmente com atividade estomática reduzida. Logo, a tendência é que a temperatura apresente acréscimos, com pouca probabilidade de ajuste térmico. Em condição de campo, a

entrada de água via precipitação poderia amenizar tal situação; no entanto, nesse experimento as plantas estavam em ambiente protegido e sob déficit hídrico severo até os 15 dias.

Em mudas de jatobá do estágio II, não houve interação ($P > 0,05$) entre os tratamentos rustificativos e os períodos de déficit hídrico nos três horários avaliados (08:00; 12:00; 18:00 hs) com temperatura mais amenas e com menor variação em função dos tratamentos (Tabela 12).

Em mudas de *Hymenaea courbaril* do estágio III houve pouca diferença nas médias das temperaturas quando se avalia os períodos de estresse em função das práticas rustificativas (Tabela 12).

Tabela 12- Temperatura foliar medida em três períodos (08:00, 12:00 e 18:00 hs) em mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas a suspensão hídrico por 5, 10 e 15 dias após a rustificação e em função dos estádios de crescimento

Estádio I									
08:00 hs				12:00 hs			18:00 hs		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Cont	24,52	24,90	24,77	26,97	27,31	27,52	21,18 cA	22,89 cA	22,41 cA
MeJA	20,03	21,53	21,43	29,75	27,28	29,90	25,48 aA	25,70 aA	26,00 aA
Flexões	24,08	24,10	22,77	28,70	29,70	29,90	22,65 bB	23,80 bAB	24,27 bA
Estádio II									
08:00 hs				12:00 hs			18:00 hs		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Cont	27,30	27,19	27,48	26,04	26,76	28,87	28,69	28,69	28,37
MeJA	26,58	25,60	25,40	31,27	31,73	32,00	30,33	29,67	29,70
Flexões	26,47	27,09	25,92	31,92	33,04	32,44	31,50	30,54	30,43
Estádio III									
08:00 hs				12:00 hs			18:00 hs		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Cont	26,17	25,70	25,24	34,07	33,92	32,57	28,85 aA	29,44 aA	29,27 aA
MeJA	26,67	28,01	27,47	33,12	33,06	35,15	26,9 bA	27,22 bA	26,97 bA
Flexões	26,22	25,12	26,03	32,34	30,03	29,21	22,97 cA	23,30 cB	23,47 cB

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq 0,05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < 0,01$) e 5 % ($0,01 \leq p < 0,05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: 18:00hs: dms para colunas e linhas: 1,3907/ CV %: 2,85/Estádio III: 18:00hs: dms para colunas e linhas: 1,8306/ CV %: 3,40.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A análise dos dados de CRA em mudas dos estádios II e III de *Hymenaea courbaril* só resultou em interação ($P < 0,05$) entre práticas rustificativas e período de déficit hídrico com resultados muito semelhantes entre si. Nas mudas do estágio II, por exemplo, a redução foi menos drástica em mudas tratadas via flexões caulinares quando comparada aos demais tratamentos rustificativos. Além disso, aos 5 dias, no mesmo tratamento, no qual se observou-se a menor média.

Ainda, é importante destacar que, além da redução ter sido menos drástica nesse tratamento, a perda de água também foi menor, visto que, devido a condição estressante já imposta pelo tratamento mecânico, o processo de conservação à perda de água foi mais eficiente, mantendo, mesmo que em pequenas quantidades esse conteúdo nas células (Tabela 13).

Algo semelhante foi observado na fase final de avaliação (estádio III), entretanto em todos os tratamentos rustificativos avaliados aos 5 dias, as médias do CRA foram menores que 60 %. A redução percentual entre os tratamentos controle, metil jasmonato e flexões caulinares no estágio III foram de 77,42; 50,53; e 71,99 % (Tabela 13). Inevitavelmente, em condições de déficit hídrico, o conteúdo de água será reduzido, entretanto, essa redução deve ocorrer lentamente ao longo dos dias de estresse.

Oliveira et al. (2019) observaram redução no CRA em mudas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. submetidas aos tratamentos controle (irrigação diária) e suspensão hídrica de 5 e 10 dias, com médias oscilando entre 73,5, 62,47 e 52,99 % respectivamente. Sendo que estes valores ficaram abaixo dos obtidos no início das avaliações, onde a média foi igual a 76% do conteúdo relativo de água.

Em mudas do estágio I de *Hymenaea courbaril* o conteúdo relativo de água não apresentou interação ($P > 0,05$) entre os tratamentos de rustificação e período de imposição do déficit hídrico e as médias só diferiram no fator dias de déficit hídrico. Os valores foram iguais a 60,70; 25,97; e 13,01 %, reduzindo drasticamente do primeiro dia de avaliação até o último, com redução de 78,57%.

Tabela 13- Conteúdo relativo de água (CRA) em mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio II			Estádio III		
	5	10	15	5	10	15
Cont	77,25 aA	19,68 bB	18,36 aB	59,18 aA	32,38 aAB	13,36 aB
MeJA	71,95 aA	29,41 aB	12,49 aB	52,86 aA	30,01 aAB	10,29 aB
Flexões	55,74 aA	19,30 abB	19,25 aB	51,98 aA	27,14 aAB	14,56 aB

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio II: dms para colunas e linhas: 22,5645/CV %: 31,49/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 26,9375/ CV %: 39,86.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Em todos os estádios de crescimento houve interação significativa entre os tratamentos rustificativos e dias de déficit hídrico em mudas de *Hymenaea courbaril*, com aumento do conteúdo de aminoácido a partir da evolução da condição estressante. Nos estádios I e II, os

menores incrementos observados foram nos tratamentos com metil jasmonato e flexões caulinares. (Tabela 14).

Algo semelhante foi notado por Cordeiro et al. (2017), a concentração de aminoácidos solúveis totais foi alterada e incrementada independente dos tratamentos aplicados (plantas irrigadas e sob déficit hídrico) e dos dias de avaliação em plantas de *Euterpe oleraceae* Mart., que durou até os 16 dias, com avaliações a cada quatro dias. A partir do oitavo dia, no entanto, os valores de aminoácidos nas mudas sob estresse diferiram significativamente daquelas irrigadas diariamente.

Outro acréscimo a ser destacado foi obtido ao se avaliar as mudas pertencentes ao estágio II e após 5 dias de déficit hídrico, com acréscimo de 35,89 % no teor de aminoácidos em folhas de mudas de eucalipto do tratamento controle em comparação com as mudas rustificadas mecanicamente. A justificativa desse resultado pode estar relacionada ao fato de que, após a imposição das flexões caulinares na fase de viveiro, as respostas bioquímicas foram acionadas, com o intuito de amenizar os danos ocasionados pelo estímulo mecânico, por conta disso, após a imposição do déficit hídrico, essas concentrações foram sintetizadas mais rapidamente.

Logo, a fim de melhorar a tolerância, e baseado nestas avaliações, a flexão caular poderia ser recomendada em mudas de *Hymenaea courbaril*, principalmente nas mudas com idade mais avançada.

Tabela 14- Concentração de aminoácidos em folhas de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II			Estádio III		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Cont	60,37 bC	66,79 bB	72,52 bA	50,29 cB	66,72 aA	69,39 aA	53,50 aC	59,49 bB	72,65 aA
MeJA	62,62 aB	72,76 aA	74,12 bA	58,55 bB	67,82 aA	70,41 aA	53,55 aC	58,78 bB	72,23 aA
Flexões	64,40 aB	74,69 aA	76,84 aA	68,34 aB	69,93 aAB	72,06 aA	53,08 aB	69,59 aA	72,12 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 2,1636/CV %: 1,49/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 3,4940/ CV %: 2,54. Estádio III: dms para colunas e linhas: 2,5441/ CV %: 1,94.

Fonte: Rocha et al. (2021).

O acúmulo de aminoácidos também foi reportado (Tabela 15) nas raízes das mudas de *Hymenaea courbaril* à medida que o estresse foi estabelecido. Dessa maneira, tanto avaliando o efeito dos dias de estresse quanto das práticas rustificativas aplicadas esse aumento foi persistente. Além disso, observando as práticas de rustificação em mudas tanto do estágio II quanto do III, percebeu-se que as maiores médias foram anotadas aos 15 dias de restrição hídrica, coincidindo com a redução drástica do conteúdo de água.

A tendência é que, a concentração de solutos aumente gradativamente a fim de reduzir à perda de água nas células, evitando que estas apresentem plasmólise celular e que atinjam o ponto de murcha permanente após o processo de reidratação. Porém, o ajustamento osmótico é limitado e dependendo do período, essa resposta defensiva pode se tornar cada vez menos eficiente, já que a presença de água é vital para realização das atividades básicas dos vegetais, inclusive, ativação do metabolismo secundário e defensivo.

O ajustamento osmótico apresenta às seguintes funções: primeiramente impede a concentração excessiva de íons no interior das células, uma vez que o aumento da absorção de água ajuda na diluição dessas substâncias. O aumento dos solutos compatíveis ajudam no funcionamento, mesmo que de forma restrita, das enzimas, assim como afeta, positivamente a condutância estomática mantendo a maquinaria fotossintética funcionando de forma limitada para manutenção das atividades essenciais dessas plantas acometidas pelo estresse (BERGONCI, 2017).

Tabela 15- Concentração de aminoácidos em raízes de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio II			Estádio III		
	5	10	15	5	10	15
Cont	31,62 cB	45,39 aA	47,67aA	34,01 aC	39,95 bB	49,24 aA
MeJA	38,60 bB	47,06 aA	47,65 aA	33,92 aC	40,75 bB	50,45 aA
Flexões	46,75 aA	48,12 aA	49,25 aA	35,49 aB	48,36 aA	49,93 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio II: dms para colunas e linhas: 3,2054/CV %: 3,44/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 2,7006/ CV %: 3,05.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A concentração de proteínas foi reduzida à medida que as mudas de jatobá foram submetidas a restrição de água com interação ($P < 0,05$) entre práticas de rustificação e período de restrição hídrica, somente com aquelas oriundas dos estádios I e II. A redução, tanto em folhas (Tabela 16), quanto em raízes (Tabela 17) coincidiu com o aumento no teor de aminoácidos nas células demonstrando que de maneira geral essa conversão de proteínas a aminoácidos deve ocorrer com o objetivo de facilitar o transporte dos órgãos fonte até os drenos.

O teor de proteínas em mudas do estágio I apresentaram redução de 40,70; 41,89; e 36,36 % no tratamento controle, MeJA e flexões caulinares à medida que o período de déficit hídrico evoluiu do dia 5 ao 15. Já em mudas de jatobá do estágio II, esse decréscimo foi menor ao se avaliar o período inicial e final de déficit hídrico e os valores foram iguais a 43,79; 31,35; e 31,38 % nos mesmos tratamentos mencionados acima.

Tabela 16- Concentração de proteínas em folhas de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II		
	5	10	15	5	10	15
Cont	3,12 bA	2,47 abB	1,85 aC	3,38 aA	2,35 aB	1,90 bC
MeJA	3,39 aA	2,65 aB	1,97 aC	3,19 aA	2,30 aB	2,19 aB
Flexões	3,30 abA	2,33 bB	2,10 aB	3,25 aA	2,26 aB	2,23 aB

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,2602/CV %: 4,85/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,1980/ CV %: 3,71.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Mesmo em condição de baixa disponibilidade hídrica no solo, a planta pode manter, com restrições a atividade fotossintética, com estratégia de redirecionamento de fotoassimilados e abscisão de folhas a fim de evitar a perda excessiva de água. Assim, umas das primeiras ações nessa situação é, translocar o conteúdo produzido via fotossíntese das folhas até os órgãos de reserva, principalmente as raízes. O mecanismo de translocação dos derivados nitrogenados até as raízes torna-se essencial, pois, o solo, sem água ou com restrição pode ter nitrogênio, mas não pode ser absorvido pelas raízes devido ao gradiente de transporte de água estar mais negativo. Logo, as fontes ou estruturas produtoras nas plantas precisam fornecer essas substâncias para os demais órgãos (SANTOS; CARLESSO, 1998).

Nas raízes das mudas de *Hymenaea courbaril* do estágio II houve interação ($P < 0,05$) entre as práticas rustificativas e o período de déficit hídrico ao se avaliar as concentrações de proteínas nas raízes. Os resultados apontaram que o conteúdo proteico foi reduzido em função da evolução dos dias de restrição hídrica. Entretanto, a exceção foi observada aos 10 dias de déficit hídrico, onde o maior valor foi obtido nas mudas tratadas com MeJA.

Nada impede que, sob aquela situação, os tecidos avaliados não tenham convertido totalmente o conteúdo de proteínas e esta tenha sido usada como indicador de estresse e por isso seu valor foi incrementado nas raízes (Tabela 17). Por fim, como a análise é destrutiva, plantas diferentes foram utilizadas para os distintos períodos de avaliação, logo, essa concentração também estava sendo influenciada pelos fatores genéticos relacionados aquelas plantas.

Mesmo que em pequenas quantidades, os reguladores vegetais podem alterar atividades ligadas ao metabolismo primário e secundário no sistema vegetal, resultando em sinalização do sistema defensivo, principalmente a nível celular, podendo ser modificado em função da fase de desenvolvimento das plantas. Como consequência, a quantidade aplicada do regulador,

modo de aplicação e fatores ambientais irão condicionar as respostas dos vegetais ao estresse (HORVÁTH; SZALAI; JANDA, 2007).

Tabela 17- Concentração de proteínas em raízes de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio II		
	5	10	15
Cont	1,61 aA	1,43 bB	1,01 bC
MeJA	1,42bB	1,56 aA	1,31 aC
Flexões	1,45 bA	1,39 bA	1,35 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,1741/CV %: 6,00.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A prolina é um aminoácido muito estudado, visto que em situação de déficit hídrico seus teores são incrementados significativamente e atuam como reguladores osmóticos e indicadores de estresse por meio da sinalização. Além disso, essa substância se deposita no vacúolo, sem no entanto causar toxidez em caso de grande concentração (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008; SZABADOS; SAVOURE, 2010; IQBAL et al., 2014; KAUR; ASTHIR, 2015).

Este ajustador também atua como ajustador dos níveis de NADP⁺/NADPH no citosol, mantendo o transporte de elétrons funcionando corretamente, sem que haja acúmulo de íons nas células. Essa manutenção pode ocorrer via produção de metabolitos secundários, como é o caso da síntese de compostos fenólicos que tem a função de neutralizar radicais ou íons que podem gerar um desequilíbrio iônico entre as células (SERRAJ; SINCLAIR, 2002).

Ao se avaliar a interação ($P < 0,05$) entre práticas rustificativas e período de déficit hídrico para a concentração de prolina nas folhas em mudas de *Hymenaea courbaril* nos estádios I e III observou-se acréscimos desse metabólito à medida que os dias de estresse evoluíram. O maior valor foi detectado nas mudas flexionadas mecanicamente do estágio II, com aumento de 80,19 % dos 5 dias até os 15 dias de restrição hídrica. Quando se avalia os dias de estresse em função da rustificação, percebeu-se pouca variação nas médias pois aos 5 dias os valores foram 4,09; 4,36; e 4,19 $\mu\text{mol Pro g}^{-1}$ de MS no tratamento controle, MeJA e flexões caulinares, respectivamente. Resultado semelhante foi observado nos demais períodos de estresse (Tabela 18).

Nascimento, Nascimento e Gonçalves (2019) reportaram resultados semelhantes ao da pesquisa, onde a quantidade de prolina foi incrementada aos 32 dias em plantas de *Hevea*

brasiliensis L. após a supressão da irrigação definida a partir do momento em que a fotossíntese se aproximou de zero.

Em mudas do estágio III, o resultado foi semelhante ao acima descrito. Os acréscimos foram persistentes à medida que a condição estressante foi intensificada. No entanto, diferentemente do externado, a maior porcentagem de incremento ocorreu nas mudas controle igual a 81,80 % (Tabela 18).

Respostas distintas ocorrerão em função dos fatores externos e internos aos vegetais. Logo, em plantas tratadas e com idade avançada, tais aumentos foram mais intensos nas mudas controle e isso pode estar relacionado a maior tolerância das mudas mais velhas as variações do meio, especialmente devido ao aumento na lignificação dos tecidos, após serem estimuladas por meio da ação de reguladores vegetais ou por estímulos mecânicos.

Espécies perenes e de crescimento lento são mais vulneráveis a variação na temperatura e umidade, podendo intensificar a mortalidade em ambientes sob déficit hídrico nas fases iniciais de crescimento (HANSEN; TURNER, 2019).

Tabela 18- Concentração de prolina em folhas de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio III		
	5	10	15	5	10	15
Cont	4,09 bC	5,74 bB	6,76 bA	4,01 cC	5,72 aB	7,29 aA
MeJA	4,36 Ac	6,35 aB	7,47 aA	4,24 bC	5,65 aB	7,18 aA
Flexões	4,19 abC	6,35 aB	7,55 aA	4,45 aC	5,74 aB	7,12 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,2066/CV %: 1,69/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 0,1803/ CV %: 1,51.

Fonte: Rocha et al. (2021).

Em mudas de jatobá do estágio II, alguns parâmetros não apresentaram interação ($P > 0,05$) entre rustificação e períodos de déficit de água em folhas e raízes. Nas folhas, apenas no conteúdo de prolina não apresentou interação. A concentração daquele metabolito foi incrementado com o aumento dos dias de estresse com valores iguais a 4,02; 5,56; e 7,02 μmol de Pro g^{-1} de MS nos períodos de 5, 10 e 15 de déficit hídrico. Nas raízes o teor de prolina só apresentou diferença estatística em função dos dias de deficit hídrico com valores de 4,02; 5,56; e 7,02 μmol de Pro g^{-1} de MS, respectivamente.

A concentração de aminoácidos, proteínas e prolina na raiz de mudas de jatobá no estágio I não revelaram interação ($P > 0,05$) entre os fatores estudados sendo apenas alterado devido aos períodos de déficit hídrico. As médias observadas em aminoácidos foram iguais a

41,36; 49,39; e 51,81 μmol de aminoácidos g^{-1} de MS aos 4, 8 e 12 dias, nos períodos de 5, 10 e 15 de déficit hídrico.

O conteúdo de proteínas foi reduzido na fase final de avaliação com valores iguais a 1,48; 1,52; e 1,12 mg proteínas g^{-1} de MS. Por fim, a prolina aumentou em função da intensificação dos dias com restrição hídrica e os valores foram iguais a 6,65 (4 dias); 8,83 (8 dias); e 9,97 (12 dias) μmol de Pro g^{-1} de MS.

Ao avaliar o conteúdo de glicina nas folhas de *Hymenaea courbaril* só houve interação ($P < 0,05$) em mudas dos estádios I e II, ambos resultando em acréscimos à medida que a condição de estresse foi intensificada. Com destaque ao estágio I, houve acréscimos mais significativos no conteúdo de glicina nas plantas controle. Esse resultado persistiu no estágio II, aumentando significativamente mediante a condição de estresse (Tabela 19).

Oliveira Neto et al. (2016) obtiveram aumento nos teores de glicina betaína em plantas de *Byrsonima crassifolia* L. submetidas a condição de déficit hídrico por 25 dias e a 29,21 mg de glicina betaína g^{-1} de MS enquanto que em mudas irrigadas todos os dias obtiveram 21,21 mg de glicina betaína g^{-1} de MS na concentração desse ajustador osmótico nas folhas. No sistema radicular, as médias variaram de 14,3 a 18,34 mg de glicina-betaína g^{-1} de MS em plantas controle e sob estresse hídrico, resultando em aumento percentual de 22,02 %.

Os dois metabolitos secundários estão relacionados e podem ser influenciados pelo aumento um do outro. No caso dos incrementos na concentração de glicina-betaína, a principal consequência seria o acúmulo e formação de aminoácidos solúveis via degradação de proteínas (MOTA et al., 2015) o que foi percebido ao longo das análises realizadas em mudas de eucalipto e jatobá.

Tabela 19- Concentração de glicina-betaína em folhas de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio II		
	5	10	15	5	10	15
Cont	7,44 bC	12,48 bB	15,65 aA	10,15 abC	12,49 bB	16,74 aA
MeJA	8,68 aC	13,13 aB	15,62 aA	10,04 bC	12,95 aB	16,70 abA
Flexões	8,59 aC	12,95 aB	15,24 bA	10,40 aC	12,58 bB	16,46 bA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,3570/CV %: 1,40/ Estádio II: dms para colunas e linhas: 0,2503/ CV %: 0,91.

Fonte: Rocha et al. (2021).

No caso do conteúdo de glicina nas raízes, todos os tratamentos rustificativos resultaram em acréscimos (Tabela 20) em função do aumento dos dias de estresse e redução no CRA. Além

do mais, assim como a prolina, a glicina está envolvida na conservação da integridade da membrana celular evitando a plasmólise e consequente morte das plantas.

Novamente, é importante destacar que essa estratégia é eficiente a curto prazo e à medida que os dias de estresse aumentam, essas concentrações podem até aumentar, mas não atuarão de forma eficiente na preservação da quantidade de água. Entretanto, existe um limite na tolerância das plantas a falta de água, pois as atividades metabólicas essenciais são dependentes do suprimento hídrico e na falta deste essas atividades irão cessar.

Pinto et al. (2012) descreveram que as espécies lenhosas podem tolerar períodos de déficit no solo prolongados. Entretanto, tal afirmação dependerá das características genéticas que condicionaram seu desenvolvimento e crescimento, assim como dos fatores ambientais em que estas se desenvolveram e foram aclimatadas segundo os mesmos autores. Por isso, estudos que levam em consideração tal afirmação, assim como as respostas das plantas aos estresses variados podem contribuir na escolha de espécies mais adequadas de acordo com as suas principais restrições.

Na região onde o estudo foi desenvolvido, por exemplo, baseado no teste de déficit hídrico e sobrevivência das mudas a campo, recomenda-se a utilização da espécie *Hymenaea courbaril* devido à ampla tolerância as condições ambientais que estas foram expostas, principalmente a irregularidade da precipitação.

Tabela 20- Concentração de glicina-betaína em raízes de mudas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico após a rustificação em função dos estádios de crescimento

	Estádio I			Estádio III		
	5	10	15	5	10	15
Cont	8,62 bC	13,64 bA	12,71 cB	10,24 aA	10,65bA	10,88 bA
MeJA	9,83 aC	14,75 aB	16,26 aA	11,35 aB	13,33 aB	15,65 aA
Flexões	9,74 aC	13,86 bB	14,90 bA	10,31 aB	14,92 aA	14,58 aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p \geq .05$). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 1 ($p < .01$) e 5 % ($.01 \leq p < .05$) de probabilidade. Letras minúsculas comparam as colunas (métodos rustificativos) e as maiúsculas comparam os valores indicados nas linhas (dias de estresse). Estádio I: dms para colunas e linhas: 0,6947/ CV %: 2,62/ Estádio III: dms para colunas e linhas: 1,9817/ CV %: 7,64.

Fonte: Rocha et al. (2021).

A disponibilidade de água no solo pode gerar respostas reversíveis e irreversíveis nas plantas, de acordo com o maior ou menor grau de tolerância das mesmas. A partir da imposição de estresse, plantas podem se tornar mais aclimatadas a condição e a partir das respostas defensivas podem se tornar mais tolerantes ao local em que estão inseridas.

O processo de aclimação pode ser o resultado de modificações anatômicas ou fisiológicas, que resultarão em alterações na morfologia dos vegetais como estratégia de sobrevivência. Em casos extremos de déficit hídrico o metabolismo vegetal será alterado de

forma extrema resultando na desidratação das células e tecidos vegetais até atingir o ponto de murcha permanente.

Torna-se imprescindível destacar que a simulação da condição de estresse em vasos e a campo é totalmente diferente, pois quando alocadas em recipientes as plantas apresentam limitação do crescimento, principalmente no caso da expansão radicular. Adicionalmente, nas camadas mais subsuperficiais do solo presente nesses recipientes, a água nem sempre estará presente. Logo, aquele fator também culminará na redução da quantidade de água retida nas plantas a longo prazo. No solo a campo, o crescimento pode ser limitado por fatores químicos e físicos ligados ao solo, mas não em relação a área disponível, e por isso, nesse caso, a área a ser explorada em busca de água é muito maior.

Estudar o intervalo entre irrigações é uma ótima opção, pois, os resultados podem inferir de que maneira cada espécie estará respondendo a falta de água, por períodos curtos ou prolongados, além disso, ajuda a tomar decisões sobre o período de rega, minimizando o desperdício hídrico e emprego de práticas desnecessárias.

CONCLUSÕES

O CRA foi reduzido em mudas de eucalipto e jatobá com o aumento no número de dias sob restrição hídrica apesar das mudas rustificadas terem apresentado menor concentração de água no início das avaliações. Na mesma proporção que o CRA diminuiu em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril*, a concentração de solutos compatíveis também variou, sendo que a concentração de aminoácidos, prolina e glicina aumentaram tanto em relação ao período de déficit hídrico quanto as práticas rustificativas. No caso dessas espécies, a aplicação de flexões caulinares resultou em menor perda de água e maior ajustamento osmótico sendo, portanto, recomendado.

Adicionalmente, o aumento no conteúdo de solutos também foi observado em mudas de jatobá tratadas quimicamente demonstrando que ambos os tratamentos estimularam o ajustamento osmótico em folhas e raízes em condições de estresse hídrico atenuando o estresse hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHRAF, M.; AKRAM, N. A.; ARTECA, R. N.; FOOLAD, M. R. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. **Critical Reviews in Plant Sciences**, UK, v. 29, n. 3, p. 162-190, out./ago. 2011. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07352689.2010.483580>>. Acesso em: 23 de out. 2017.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de. M.; SPAROVEK, G. K Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, CH, v. 22, n. 6, p. 711-728, jan. 2013. Disponível em: <http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/Alvares_et al_2014.pdf>. Acesso em: 16 de abr. 2019.
- ASTARITA, L. V. Assimilação de nutrientes inorgânicos. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 13, p. 353-370.
- ATKIN, O. K.; EDWARDS, E. J.; LOVEYS, B. R. Response of root respiration to changes in temperature and its relevance to global warming. **New Phytologist**, UK, v. 147, n. 1, p. 141-154, out./mar. 2000. Disponível em: <<https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1469-8137.2000.00683.x>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.
- AVANCI, N. C.; LUCHE, D. D.; GOLDMAN, G. H.; GOLDMAN, M. H. S. Jasmonates are phytohormones with multiple functions, including plant defense and reproduction. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, SP, v. 9, n. 1, p. 484-505. jan./mar. 2010. Disponível em: <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2010/vol9-1/pdf/gmr754.pdf>>. Acesso em: 31 de jul. 2019.
- BASSOW, S. L.; MCCONNAUGHAY, K. D. M.; BAZZAZ, F. A. The response of temperate tree seedlings grown in elevated CO₂ to extreme temperature events. **Ecological Applications**, USA, v. 4, n. 3, p. 593-603, ago./set. 1994. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/1941960>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, NL, v. 39, p. 205-207, nov. 1973. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00018060?LI=true>>. Acesso em: 30 de jul. 2017.
- BERGONCI, J. I. Relações água-planta. In: BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. **As plantas e o clima: Princípios e aplicações**. Guaíba: Agrolivros, 2017. cap. 11, p. 313-329.
- BERNACCHI, C. J.; SINGSAAS, E. L.; PIMENTEL C.; PORTIS, A. R.; LONG, S. P. Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. **Plant Cell and Environment**, UK, v. 24, n. 2, p. 253-259, jun./out. 2001. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-3040.2001.00668.x>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.
- BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, Savitribai, IN, v. 132, n. 1, p. 21-32, mar./ago.

2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/pbr.12004>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Estresse abiótico. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 24, p.731-759.

BORGIO, L.; MAUR, C. J.; VIEIRA, L. G. E. Effects of high proline accumulation on chloroplast and mitochondrial ultrastructure and on osmotic adjustment in tobacco plants. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, PR, v. 37, n. 2, p. 191-199, abr./jun. 2015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/asagr/a/mhR4BmC5KTvgmXxYhRRQ7KS/?lang=en>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, USA, v. 72, n. 1, p. 248-254, mai. 1976. Disponível em: <[sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273)>. Acesso em: 08 de out. 2019.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M.; DRANSKI, J. A. L.; COUTINHO, P. W. R. Morphometric changes and post-planting growth as a response to hardening on *Tabebuia roseo-alba* seedlings. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 51, n. 3, p. 539-546, jul/set 2021. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/67358/43967>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

CARVALHO, P. E. R. Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*). In: _____. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2003. p. 599-607.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSÓRIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, UK, v. 89 n. 1, p. 907-916, jun./mai. dez. 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/215942906_How_Plants_Cope_with_Water_Stress_in_the_Field_Photosynthesis_and_Growth>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

CLARK, D. A. Sources or sinks? The responses of tropical forests to current and future climate and atmospheric composition. **Philosophical Transactions of The Royal Society of London**, Cambridge, UK, v. 359, n. 1443, p. 477-491, fev. 2004. Disponível em: <<https://faculty.washington.edu/timbillo/Readings%20and%20documents/CO2%20and%20Forests%20readings/Clark,%20DB%20PRSOC%20forest%20carbon%20sinks.pdf>>. 1Acesso em: 19 de nov. 2021.

CLAWSON, K. L.; BLAD, B. L. Infrared thermometry for scheduling irrigation of corn. **Agronomy Journal**, USA, v. 74, n. 2, p. 311-316, mar. 1982. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/AGR/IND82056696>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

CORDEIRO, Y. E. M.; TAVARES, F. B.; NASCIMENTO, A. W. de. S.; WAGNER, H.; PENA, A. Aspectos bioquímicos de plantas jovens de açaízeiro (*Euterpe oleraceae*) sob dois regimes hídricos na Amazônia Oriental. **Biota Amazônia**, Macapá, AP, v. 7, n. 3, p. 52-56, ago./dez. 2017. Disponível em:

<<https://periodicos.unifap.br/index.php/biota/article/view/1814/v7n3p52-56.pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

COSTA, W. S.; SOUZA, A. L. de.; SOUZA, P. B. de. Jatobá–*Hymeneae courbaril* L. In: _____. **Ecologia, manejo, silvicultura e tecnologia de espécies nativas da Mata Atlântica**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2011, p. 1-18.

DIVAN JUNIOR, A. M. Balanço hídrico das plantas. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 4, p.110-116.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Relationship between lignin content and quality of *Pinus taeda* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 905-913, mar./jul. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622015000500905>. Acesso em 20 de jan. 2018.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de. M. Manejo hídrico na rustificação em mudas de *Maytenus ilicifolia* [(Schrad.) Planch.]. **Biotemas**, Florianópolis, SC, v. 30, n. 1, p. 45-54, mar. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2017v30n1p45>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

ENDRES, L.; SOUZA, J.L.; TEODORO, L. MARROQUIM, P.M.G.; SANTOS, C.M.; BRITO, J.E.D. Gas exchange alteration caused by water deficit during the bean reproductive stage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 14, n. 1, p. 11-16, dez. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/237658441_Gas_exchange_alteration_caused_by_water_deficit_during_the_bean_reproductive_stage>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

FRITZSONS, E.; PARRON, L. M. Plantações florestais comerciais e a água. In: OLIVEIRA, Y. M. M. de; OLIVEIRA, E. B. de (Ed.). **Plantações florestais: geração de benefícios com baixo impacto ambiental**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. cap. 3, p. 31-42.

GRIEVE, C. M.; GRATAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, NL, v. 70, n. 1, p. 303-307, jun. 1983. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02374789>>. Acesso em: 25 de jul. 2017.

GUO, J.; YANGA, Y.; WANGA, G.; YANGA, L.; SUNA, W. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. **Physiologia Plantarum**, UK, v. 139, n. 4, p. 335-347, jul. 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1399-3054.2010.01370.x>>. Acesso em: 30 de jul. 2019.

HANSEN, W. D.; TURNER, M. G. Origins of abrupt change? Postfire subalpine conifer regeneration declines nonlinearly with warming and drying. **Ecological Monographs**, USA, v. 89, n. 1, p. 1-21, fev. 2019. Disponível em: <<https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ecm.1340>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

HEBERLE, K.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria e lignificação em função da aplicação de ácido jasmônico em mudas de ipê roxo e guajuvira. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, PR, v. 17, p. 317-325, jul./set. 2018. Disponível em: <<https://e-revista.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/19837/13441>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, London, UK, v. 6, n. 9, p. 431-438, set. 2001. Disponível em: <[https://www.cell.com/trends/plant-science/fulltext/S1360-1385\(01\)02052-0?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1360138501020520%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/plant-science/fulltext/S1360-1385(01)02052-0?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1360138501020520%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em: 15 de nov. 2021.

HORVÁTH, E.; SZALAI, G.; JANDA, T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. **Journal of Plant Growth Regulation**, USA, v. 26, n. 3, p. 290-300, out./jul. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/226845198_Induction_of_Abiotic_Stress_Tolerance_by_Salicylic_Acid_Signaling>. Acesso em: 11 de nov. 2017.

HSING, T.Y.; PAULA, N. F. de.; PAULA, R. C. de. Características dendrométricas, químicas e densidade básica da madeira de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 26, n. 1, p. 273-283, jan./mar. 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cflo/v26n1/0103-9954-cflo-26-01-00273.pdf>>. Acesso em: 07 de out. 2019.

IQBAL, N.; UMAR, S.; KHAN, N.A.; KHAN, M. I. R. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: regulation of proline metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, NL, v. 100, n. 1, p. 34-42, set./dez. 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/259500748_A_new_perspective_of_phytohormones_in_salinity_tolerance_Regulation_of_proline_metabolism>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

JACOBS, D.F.; LANDIS, T.D. Hardening. In: DUMROESE, R.K.; LUNA, T.; LANDIS, T.D. (Eds.). **Nursery manual for native plants**: Guide for tribal nurseries. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. cap 12, p. 217-228.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, NL, v. 59, n. 4, p. 609-619, jan./jun. 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10535-015-0549-3.pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

KOCH, G. W.; AMTHOR, J. S.; GOULDEN, M. L. Diurnal patterns of leaf photosynthesis conductance and water potential at the top of a lowland forest canopy in Cameron: measurements from the Radeau des Cines. **Tree Physiology**, UK, v. 14, n. 1, p. 347-360, mai. 1994. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.954.518&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

KUBIS, J.; FLORYSZAK-WIECZOREK, J.; ARASIMOWICZ-JELONEK, M. Polyamines induce adaptive responses in water deficit stressed cucumber roots. **Journal Plant Research**, JP, v. 127, n. 1, p. 151-158, ago. 2014. Disponível em:

<<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10265-013-0585-z.pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

LEAKEY, A. D. B.; PRESS, M. C.; SCHOLLES, J. D.; WATLING, J. R. Relative enhancement of photosynthesis and growth at elevated CO₂ is greater under sunflecks than uniform irradiance in a tropical rain forest tree seedling. **Plant Cell and Environment**, UK, v. 25, n. 12, p. 1701-1714, dez. 2002. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-3040.2002.00944.x>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

LECHINOSKI, A.; FREITAS, J. N. M.; CASTRO, D. S.; LOBATO, A. K. S.; NETO, C. F. O.; CUNHA, R. L. M. Influência do Estresse Hídrico nos Teores de Proteínas e Aminoácidos solúveis Totais em Folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, RS, v. 5, n. 2, p. 927-929, jul. 2007. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/rbrasbioci/article/view/115304/62601>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

LIMA, P. R.; HORBACH, M. A.; DRANSKI, J. A. L.; ECCO, M.; MALAVASI, M. de M.; MALAVASI, U. C. Avaliação Morfofisiológica em Mudanças de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos Durante a Rustificação. **Floresta Ambiente**, Seropédica, RJ, v. 21 n. 3, p. 316-326, jul./set. 2014. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/floram/a/LbD8rmbGnsLvZTcgsXyPzKD/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

LOPES, J. L.W.; GUERRINI, I. A.; SILVA, M. R.; SAAD, J. C. C.; LOPES, C. F. Estresse hídrico em plantio de *Eucalyptus grandis* vs. *Eucalyptus urophylla*, em função do solo, substrato e manejo hídrico de viveiro. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 1, p. 31-39, jul./ago. 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rarv/a/KF6Q6pLCqSSJVbqwWtWGFng/?format=pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

MARAGHNI, M.; GORAI, M.; NEFFATI, M. The Influence of Water-Deficit Stress on Growth, Water Relations and Solute Accumulation in Wild Jujube (*Ziziphus lotus*). **Journal of Ornamental and Horticultural Plants**, Rasht, Iran. v. 1, n. 2, p. 63-72, fev./abr. 2011. Disponível em: <http://jornamental.iaurasht.ac.ir/article_513674_c60dd9b92759ce83f5c160aca2b2ce21.pdf>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, UK, v. 18, n. 12, p. 660-666, dez./set. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24001766>>. Acesso em: 10 de out. 2017.

MEDLYN, B. E.; LOUSTAU, D.; DELZON S. Temperature responses of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. I. Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). **Plant Cell and Environment**, UK, v. 25, n. 9, p. 1155-1165, nov./mar. 2002. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-3040.2002.00890.x>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

MEDLYN, B. E.; DREYER, E.; ELLSWORTH, D.; FORSTREUTER, M.; HARLEY, P. C.; KIRSCHBAUM, M. U. F.; LE ROUX, X.; MONTPIED, P.; STRASSEMAYER, J.; WALCROFT, A.; WANG, K.; LOUSTAU, D. Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. II. A review of experimental data. **Plant Cell**

and Environment, UK, v. 25, n. 9, p. 1167-1179, nov./mar. 2002. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-3040.2002.00891.x>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. dos. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, DF, v. 49, n. 1, p. 18-25, jan. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v49n1/0100-204X-pab-49-01-00018.pdf>>. Acesso em 23 de dez. 2017.

MOTA, J. A.; SILVA, J. L. de S.; SOUZA, L. C. de.; SILVA, J. N. da.; COELHO, C. C. R.; NEVES, M. G.; OLIVEIRA NETO, C. F. de.; CONCEIÇÃO, H. E. O. da.; MARIANO, D. de. C.; OKUMURA, R. S. Osmoprotectors in maize (*Zea mays*) under the effect of water availability and silicon levels in soil. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, USA, v. 13, n. 2, p. 291-296, jan./mar. 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/299436349_WFL_Publisher_Science_and_Technology_Osmoprotectors_in_maize_Zea_mays_under_the_effect_of_water_availability_and_silicon_levels_in_soil/link/56f6acb208ae81582bf2f8bf/download>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

MOURA, A. R. de.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, J. A. A. da.; LIMA, T. V. de. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 26, n. 2, p. 345-354, abr./jun. 2016. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/22735>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

NASCIMENTO, N. F.; NASCIMENTO, L. B. de. B.; GONÇALVES, J. F. de. C. Respostas funcionais foliares de plantas jovens de *Hevea brasiliensis* submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 29, n. 3, p. 1019-1032, jul./set. 2019. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/32658/pdf>>. Acesso em: 20 de nov. 2021.

NITSCHKE, P. R.; CARAMORI, P. H.; RICCE, W. da S.; PINTO, L. F. D. **Atlas climático do estado do Paraná**. Londrina, Instituto Agrônomo do Paraná, 2019. 216p.

OLIVEIRA, L. M.; SILVA, J. N.; COELHO, C. C. R.; NEVES, M. G.; SILVA, R. T. L.; OLIVEIRA NETO, C. F. Pigmentos fotossintetizantes, aminoácidos e proteínas em plantas jovens de graviola submetidas ao déficit hídrico. **Agroecossistemas**, Belém, PA, v. 5, n. 1, p. 39-44, dez. 2013. Disponível em: <<https://periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas/article/view/1409>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

OLIVEIRA NETO, C. F.; OLIVEIRA, T. B. de.; SILVA, K. R. S.; NOGUEIRA, G. A. dos. S.; MALTAROLO, B. M.; COSTA, T. C.; CARDOSO, K. P. S.; SOUZA, L. C.; SILVA, R. T. L. da.; SIQUEIRA, J. A. M. Nitrogen compounds and enzyme activity in young muruçi (*Byrsonima crassifolia* L.) plant subjected to water stress. **Australian Journal of Crop Science**, AU, v. 10, n. 1, p. 111-117, jun./dez. 2016. Disponível em: <http://www.cropj.com/deoliveria_10_1_2016_111_117.pdf>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

OLIVEIRA, T. B.; SILVA, K. R. S.; TEIXEIRA, D. T. F.; MORAES, M. P.; NOGUEIRA, G. A. S.; WANDER, A. L. S.; MALTAROLO, B. M.; LIMA, E. G. S.; NASCIMENTO, V. R.;

OLIVEIRA NETO, C. F. Nitrogen Metabolism and Antioxidant System in Young Plants of *Parkia pendula* Submitted to Drought. **Journal of Agricultural Science**, Canadian, v. 11, n. 1, ago./dez. 2019. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/329685236_Nitrogen_Metabolism_and_Antioxidant_System_in_Young_Plants_of_Parkia_pendula_Submitted_to_Drought>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

ORO, P.; VOLKWEIS, C. R.; NEIVERTH, W.; DEANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de M. Aplicação de regulador vegetal na aclimação de mudas de *Cariniana estrellensis*. **Cultivando o saber**, Cascavel, PR, v.5, n.4, p.103-112, mai./out. 2012. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/511cc1e627012.pdf>. Acesso em: 27 de jul. 2017.

PAZZETTI, G. A.; OLIVA, M. A.; LOPES, N. F. Aplicação da termometria ao infravermelho à irrigação do feijoeiro: Crescimento e produtividade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Goiana, GO, v. 28, n. 12, p. 1371-1377, dez. 1993. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/477036/1/Aplicacaotermometria.pdf>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B. E.; HERRIDGE, D. F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. **Australian Centre for International Agricultural Research Canberra**, Canberra, AU, v. 1, n. 11, p. 1-75, jun. 1989. Disponível em: <<http://aci.gov.au/publication/mn011>>. Acesso em: 23 de jul. 2017.

PINTO, J. R.; MARSHALL, J. D.; DUMROESE, R. K.; DAVIS, A. S.; COBOS, D. R. Photosynthetic response, carbon isotopic composition, survival, and growth of three stock types under water stress enhanced by vegetative competition. **Canadian Journal of Forest Research**, CA, v. 42, n. 2, p. 333-344, jul./fev. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/237866680_Photosynthetic_response_carbon_isotopic_composition_survival_and_growth_of_three_stock_types_under_water_stress_enhanced_by_vegetative_competition>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, A. C.; ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, Ribeirão Preto, SP, v. 36, n. 9, p. 1395-1405, jan. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/259279606_Compostos_organicos_volateis_na_defesa_induzida_das_plantas_contra_insetos_herbivoros>. Acesso em: 19 de out. 2021.

QUILHÓ, T.; MIRANDA, I.; PEREIRA, H. Within-tree variation in wood fibre biometry and basic density of the urograndis eucalypt hybrid (*Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*). **IAWA Journal**, NL, v. 27, n. 3, p. 243-254, jun./mai. 2006. Disponível em: <https://www.academia.edu/24232467/Within-tree_variation_in_wood_fibre_biometry_and_basic_density_of_the_urograndis_eucalypt_hybrid_Eucalyptus_grandis_x_E._urophylla>. Acesso em: 05 de out. 2019.

RAMOS, P.; LE PROVOST, G.; GANTZ, C.; PLOMION, C.; HERRERA, H. Transcriptional analysis of differentially expressed genes in response to stem inclination in young seedlings of pine. **Plant Biology**, USA, v. 14, n. 6, p. 923-933, nov./mai. 2012. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1438-8677.2012.00572.x>>. Acesso em: 08 de out. 2019.

REICH, P. B.; WALTERS, M. B.; ELLSWORTH, D. S. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, USA, v. 94, n. 1, p. 13730- 13734, dez. 1997. Disponível em: <<https://www.pnas.org/content/pnas/94/25/13730.full.pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 2, n. 3, p. 287-294, set./dez. 1998. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/sptHSNGpfSCjGZ656yBJwnN/>>. Acesso em: 19 de out. 2021.

SARKER, B. C.; HARA, M.; UEMURA, M. Proline synthesis, physiological responses and Biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. **Scientia Horticulturae**, NL, v. 103, n. 4, p. 387-402, jan. 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442380400192X>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell & Environment**, UK, v. 25, n. 2, p. 333-341, mar. 2002. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

SILVEIRA, J. A. G.; ARAÚJO, S. A. M.; LIMA, J. P. M. S.; VIÉGAS, R. A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl salinity in *Atriplex numularia*. **Environmental and Experimental Botany**, NL, v. 66, n. 1, p.1-18, abr. 2009. Disponível em: <<https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-4ad19ecf-9c3b-32b1-97cc-83a6603f8ee9>>. Acesso em: 30 de jan. 2018.

SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. Ecological Studies Series, Heidelberg, DE, v. 9, n. 1, p. 499, jul. 1979. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/44480460_Methods_of_Studying_Plant_Water_Relation>. Acesso em: 20 de ago. 2017.

SODEK, L. Metabolismo no nitrogênio. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. cap. 3, p. 65-78.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional aminoacid. **Trends in Plant Science**, UK, v. 15, n. 1, p. 89-97, fev./dez. 2010. Disponível em: <https://www.academia.edu/12587107/Proline_a_multifunctional_amino_acid>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

TEIXEIRA, D. T. de F.; NOGUEIRA, G. A. dos S.; MALTAROLO, B. M.; ATAÍDE, W. L. da S.; OLIVEIRA NETO, C. F. de. Alterações no metabolismo do nitrogênio em plantas de

noni sob duas condições hídricas. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, GO, v. 11 n. 22, p. 89-106, set./nov. 2015. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015c/agrarias/Alteracoes%20no%20metabolismo.pdf>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

TROVATO, M.; MATTIOLI, R.; COSTANTINO, P. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. **Rendiconti Lincei**, Roma, IT, v. 19, n. 4, p. 325-346, dez. 2008. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12210-008-0022-8>>. Acesso em: 23 ago. 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12210-008-0022-8>>. Acesso em 23 de ago. 2017.

VALDÉS E.; IRAR, S.; MAJADA, J. P.; RODRÍGUEZ, A.; FERNÁNDEZ, B.; PAGÉS, M. Drought tolerance acquisition in *Eucalyptus globulus* (Labill.): a research on plant morphology, physiology and proteomics. **Journal of proteomics**, Asturias, ES, v. 79, n. 1, p. 263–276, fev./jan. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23313219/>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, UK, v. 9, n. 2, p. 189-195, jun. 2006. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo_thumb/Understanding-regulatory-networks-and-engineering-for.pdf>. Acesso em: 19 de out. 2021.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, AT, v. 35, n. 4, p. 753–759, abr. 2008. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00726-008-0061-6>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

VERSLUES, P. E.; SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **The Arabidopsis Book**, USA, v. 3, n. 1, p. 1-23, nov. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3244962/>>. Acesso em: 19 de nov. 2021.

VOLKWEIS, C. R.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. de M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 2, p. 339-342, abr./jun. 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/14571/pdf>>. Acesso em: 08 de ago. 2017.

WANG, L. J.; FAN, L.; LOESCHER, W.; DUAN, W.; LIU, G. J.; CHENG, J. S. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. **BMC Plant Biology**, UK, v. 10, n. 1, p. 34–40, fev. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20178597>>. Acesso em: 24 de set. 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muito do que é pesquisado atualmente no setor florestal se limita a espécies lenhosas exóticas, de rápido crescimento e retorno financeiro imediato. Entretanto, as espécies lenhosas nativas são ótimas opções, visto que de maneira geral estas podem se aclimatar mais facilmente às condições estressantes que são impostas assim como podem ser utilizadas com finalidades diversificados, sejam estes no setor madeireiro ou não.

Nesta pesquisa tanto as mudas de eucalipto quanto as de jatobá foram expedidas a campo e apesar da primeira se adaptar muito bem as condições edáficas e climáticas da região, a segunda conseguiu passar 180 dias a campo sem ser atacada por nenhuma praga ou patógeno, diferentemente do eucalipto, que foi exposto ao ataque de lagartas e formigas.

Assim, destacando a dessemelhança entre a importância que os produtores florestais atribuem a espécies nativas e exóticas, percebe-se que, o que falta é a propagação de informações sobre as vantagens de utilizar espécies nativas e sua contribuição no setor econômico, ambiental, ecológico e social. Não que a utilização de espécies como eucalipto e pinus não sejam relevantes, muito pelo contrário, mas quando nos deparamos com o setor silvicultural, percebe-se pouca diversidade no que é produzido e utilizado economicamente.

Atualmente, um dos grandes entraves na produção florestal ocorre devido à baixa qualidade de mudas produzidas, refletindo na oferta limitada desse bem, tal como na baixa diversidade de espécies produzidas nos viveiros florestais. Dessa maneira parte do que é expedido ao ambiente definitivo é perdido, resultando em gastos excessivos e o desvio de valores que poderiam ser empregado em outras fases do desenvolvimento, como o investimento em sistema de irrigação, adubação ou mesmo construção de viveiros modernos e completos que atenderiam a demanda de cada espécie.

Logo, é necessário que novas técnicas sejam empregadas, com a finalidade de melhorar a produção nos viveiros, tal como, diversificar as espécies utilizadas em plantios comerciais ou aqueles com a finalidade ambiental.

O pleno desenvolvimento e crescimento das espécies florestais pode ser influenciado pela aplicação de práticas eficientes, que preparem essas plantas para o choque pós-plantio e aumente a tolerância das mesmas frente a condições estressantes e por isso, o processo de rustificação se torna essencial e inteligente com o intuito de maximizar a produção de mudas com qualidade adequada para cada local onde serão inseridas, assim como minimizar as perdas.

Nessa pesquisa, a utilização de práticas rustificativas como a aplicação de regulador vegetal e estímulos mecânicos resultaram em alteração dos parâmetros morfológicos,

fisiológicos e bioquímicos, assim como ajudaram a tolerarem a imposição do déficit hídrico. No entanto é interessante destacar que para cada espécie haverá um tratamento mais adequado, variando com as características genéticas e ambientais. Por isso, novas pesquisas devem ser desenvolvidas com o objetivo de ampliar as informações acerca do processo de rustificação, métodos mais recomendados, parâmetros indicadores de qualidade e espécies mais adequadas para cada ambiente.

Exemplificando, nas duas espécies estudadas neste trabalho, o efeito da aplicação dos tratamentos químico e mecânico foram diversos e dependente das peculiaridades de cada espécie, tipo de tratamento, estágio de desenvolvimento, sanidade e exposição a outros estresses não controláveis. Tanto a aplicação de metil jasmonato quanto as flexões caulinares atuaram na sinalização da defesa desses organismos, respondendo mais lentamente ou rapidamente aos estímulos dependendo dos fatores já mencionados acima.

Quando se avalia o híbrido *Eucalyptus urograndis* constatou-se que, o estímulo mecânico foi mais eficaz ao alterar fatores morfofisiológicos e isso pode ter sido consequência da espécie ser mais rústica e necessitar, nesse caso, de condições mais extremas para manifestar as alterações, sejam externas ou internas.

Com *Hymenaea courbaril* resultados semelhantes a espécie anterior foram observados; porém, avaliando as mudas morfológicamente, o processo de tigmomorfogênese ou flexões no caule foi muito mais estressante, resultando em queda das folhas, sintomas de estresse nessas mesmas estruturas, assim como redução da área fotossinteticamente ativa. Assim, o tratamento mecânico foi aquele que causou maior perturbação ao vegetal. Isso, não necessariamente é uma resposta desvantajosa, já que o objetivo do processo de rustificação é modificar a tolerância das mudas introduzindo estresses controláveis com o objetivo de agilizar as respostas futuras desses vegetais nos locais definitivos.

A principal dificuldade ao se avaliar os parâmetros de qualidade em mudas e aplicar práticas rustificativas é saber qual o melhor momento que isso deve ocorrer e controlar até que ponto a aplicação do tratamento pode ser benéfica ou detrimental. Neste experimento, verificou-se que, o melhor período para se proceder com a aplicação de técnicas na fase de desenvolvimento das mudas seria a partir do estágio II nos dois objetos de estudo, pois, nessas fases, as mudas estavam mais desenvolvidas e menos suscetíveis as adversidades bióticas e abióticas, tolerando mais eficientemente os estresses e a aplicação dos tratamentos. No caso do eucalipto, o estágio I não é recomendado sob hipótese alguma, já que, este não obteve sucesso no desenvolvimento a campo, resultando em perda generalizada das plantas antes da finalização das análises.

Finalmente a aplicação dos tratamentos deve ser realizado com cautela em experimentos, já que, no caso do jasmonato e de outros reguladores vegetais de crescimento é necessário tomar cuidado com as doses a serem aplicadas, pois, a linha entre resultados benéficos ou não é bem tênue, já que, a aplicação exógena destes pode desencadear desequilíbrio na concentração de hormônios produzidos pelas plantas e resultar em estresses irreversíveis. O mesmo pode ocorrer na aplicação de flexões caulinares, visto que, os danos morfológicos as plantas podem ser muito intensos, podendo à planta, não se recuperar após a aplicação dessa prática.

Assim, estudar o efeito e as respostas da aplicação dessas técnicas em cada espécie é o melhor caminho na obtenção de mudas de qualidade, assim como, de espécies e práticas mais adequadas em cada ambiente, levando em consideração as especificações intrínsecas e extrínsecas ao vegetal.

APÊNDICE A- Metodologias detalhadas capítulo III e IV

LIGNINA

A fim de quantificar o teor de lignina tanto os caules quanto as raízes foram secos em estufa de circulação de ar a 60 °C por 72 horas, moídos em moinho tipo Willye e passadas em peneira de malha 40 mesh seguindo a metodologia de Van Soest. (1994). Logo após os procedimentos, amostras de 0,5 g de tecido vegetal foram acondicionadas em sacos de TNT e selados em máquina seladora. Os sacos foram acondicionados em frascos plásticos com capacidade de 1,0 L. Nesse recipiente foi acrescentada a solução detergente ácido (FDA), preparada anteriormente, com 20 g de Brometo de cetiltrimetil amônio e 27,4 mL de H₂SO₄ concentrado, diluídos em 1,0 L de água na proporção de 40 mL por saco.

Posteriormente ao preparo da solução as amostras foram acondicionadas em autoclave a 100 °C por 1 hora. Os sacos foram lavados em água corrente, alternando em água quente e fria e imersa por 5 minutos em 30 mL de acetona P.A. O material foi lavado e seco em estufa a 105 °C por 8 horas e pesado quando as amostras atingiram a temperatura ambiente. Na extração, os sacos foram imersos por 3 horas em 2L de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 72%. Após essa atividade, as amostras foram lavadas em água corrente na intenção de retirar os resíduos para que o material fosse seco novamente, durante 8 horas a 105 °C e posteriormente o material foi pesado.

Após a pesagem, os sacos de TNT foram colocados em cadinhos de porcelana e submetidos à carbonização em mufla a 550 °C por 3 h. Ao término do procedimento, realizou-se a última pesagem do material resultante da carbonização. As concentrações de lignina foram expressas em g kg⁻¹ e a equação utilizada com o propósito de obter os valores pode ser visualizada abaixo.

$$\text{Lignina (\%)} = [(\text{RES}_{\text{AS}} - \text{RES}_{\text{C}} * (\frac{100}{2} * \frac{\text{MA}}{\text{MA}}))] \quad (1)$$

Onde: RES_{AS} = matéria seca resultante da digestão sulfúrica;

RES_C = matéria seca resultante da carbonização;

MA = matéria seca inicial.

COMPOSTOS FENÓLICOS

Na determinação de compostos fenólicos, a metodologia usada foi de Georgé et al. (2005) e adaptada em algumas das etapas realizadas ao longo das análises. Primeiramente, amostras de folhas foram moídas, em moinho tipo Willye, pesadas 0,5 g e adicionadas em 5 mL de etanol (70%), a solução foi transferida para falcon de 15 mL e levadas a centrifuga a 5200 rpm por 20 minutos.

O sobrenadante obtido após a extração foi transferido tubos de vidro, servindo com solução estoque, caso fosse necessário repetir alguma amostra. Posteriormente, 0,5 mL do mesmo foi misturado a 2,5 mL de Folin-ciocalteu, na proporção de 1:10 (Folin:Água) e adicionado 2,0 mL de carbonato de cálcio (Na_2CO_3). As amostras foram mantidas no escuro por 15 minutos a temperatura de 50 °C em estufa de circulação forçada e posteriormente o sobrenadante foi coletado a fim de realizar a leitura em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 760 nm.

Cabe ressaltar que as amostras foram feitas em duplicatas e as concentrações foram determinadas e quantificados os teores de ácido gálico em mg. As amostras com leitura menores que 0,123 e maiores que 0,935 foram diluídas e essa faixa de valores foi determinada de acordo com a curva padrão na determinação dos compostos fenólicos totais. A curva pode ser visualizada na Figura a seguir.

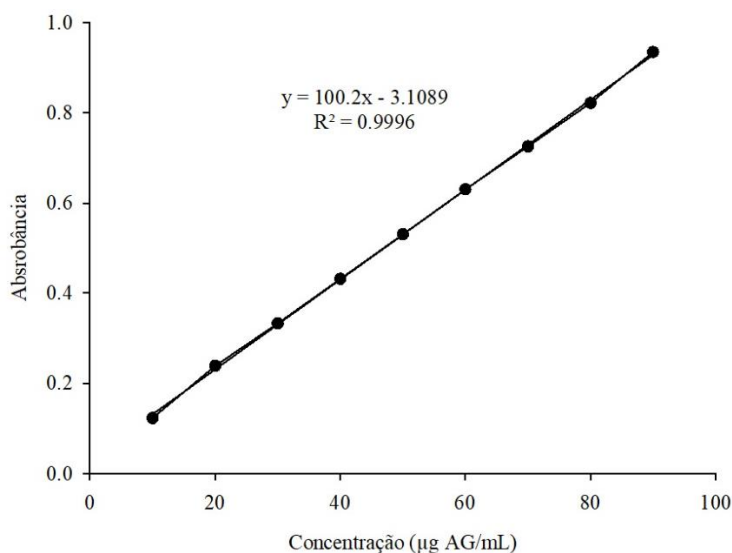


Figura 1- Curva padrão na determinação de compostos fenólicos em mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril*

Fonte: Cordeiro et al. (2021).

PERDA DE ELETRÓLITOS

Ademais, foi determinada a perda de eletrólitos das raízes pelo método de Wilner (1955). Iniciando pela retirada das mudas dos recipientes e lavagem das raízes, primeiramente com água corrente e posteriormente utilizando água deionizada e destilada, a fim de evitar contaminantes da superfície das raízes, tal como íons que poderiam superestimar os valores observados. A porção média e central das raízes foram removidas e mantidas as radículas com diâmetro menor que 2 mm, localizadas no terço superior.

Posteriormente foram acondicionadas em um recipiente com 20 mL de água destilada e levadas a BOD, pois era necessário que houvesse o controle da temperatura, que deveria ser

de 20 °C. A mistura foi mantida nesse local por 24 horas e após a mensuração da condutividade elétrica das raízes vivas (C_{vivas}) foi realizada, com auxílio de um condutivímetro (modelo CD12/ Bel Engineering ®). As mesmas raízes foram autoclavadas a 100 °C por 10 minutos e após esse procedimento, a mistura foi mantida a temperatura ambiente, com a finalidade de resfriar a solução e quantificar a condutividade das raízes mortas (C_{mortas}). A perda de eletrólitos foi quantificada por meio da seguinte fórmula:

$$PER (\%) = \left(\frac{C_{viva}}{C_{morta}} \right) * 100 \quad (2)$$

DETERMINAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Após o término do experimento foram determinados os teores dos pigmentos clorofilianos, seguindo a metodologia de Arnon (1949). Para tal determinação, amostras foliares foram coletadas no terço médio das mudas, nas folhas expandidas e fotossinteticamente ativas.

Primeiramente se retirou 14,0 cm² (3,3,7416 de largura e comprimento) da limbo foliar, descartando as nervuras e foram acondicionadas em tubos Falcon de 15 mL, previamente revestidos com papel alumínio. Após esse processo, acrescentou-se 10 mL de acetona a 80% (80 % da solução com acetona pura e 20 % com água destilada e deionizada). As amostras permaneceram em repouso a 25 °C e por um período de 48 horas para extração dos pigmentos.

Após esse período de extração, alíquotas de 3 mL foram transferidas para cubetas de quartzo de 3 mL para realização da leitura no espectrofotômetro, nos seguintes comprimentos de onda: 645 e 663 nm. Finalmente, os resultados obtidos foram previamente convertidos e quantificado às concentrações de clorofila *a* e *b*, conforme as equações a seguir. Os valores foram expressos em $\mu\text{mol m}^{-2}$, considerando o volume do extrator, a área foliar extraída e a massa molar das clorofilas. Nas fórmulas, o *A* representa o valor obtido no espectrofotômetro, a absorbância.

$$Clo\ a = 12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645} \quad (3)$$

$$Clo\ b = 22,9 * A_{645} - 4,68 * A_{663} \quad (4)$$

CONTEÚDO RELATIVO DE ÁGUA (CRA)

Na determinação do conteúdo relativo de água 30 discos foliares foram retirados, com diâmetro de aproximadamente 10 mm nas plantas selecionadas, posteriormente foi realizada a pesagem em balança analítica com o intuito de determinar a massa fresca 1 (MF1). Os discos foram depositados em placas de petri contendo 35 mL de água destilada e mantidos a 25 °C, durante 6 horas. Passados o tempo e após a turgescência das células, o material foi retirado e

colocado em papel filtro, retirando o excedente de água, pesado e determinado a massa fresca 2 (MF2) (SLAVICK, 1979).

Após esses procedimentos o material foi colocado em recipientes de alumínio e levado a estufa, a 60 °C por 48 horas, posteriormente foi realizada a determinação da massa seca (MS). O CRA foi determinado a partir dos valores obtidos nas pesagens e substituídos em uma fórmula (descrita a seguir), relação está descrita por Irigoyen et al. (1992) e expresso em porcentagem. A análise foi realizada entre as 04h00min e 06h00min da manhã a fim de aproveitar o período onde as plantas apresentam maior turgescência celular.

$$\text{CRA (\%)} = \left(\frac{(\text{MF1}-\text{MS})}{(\text{MF2}-\text{MS})} \right) * 100 \quad (5)$$

PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS

Na determinação das proteínas, 100 mg de matéria seca de folha e raiz foram misturadas com 5,0 mL de Tris-HCl (25 mM pH 7,6). Em seguida os tubos foram lacrados e foram agitados durante 2 horas na mesa agitadora “shaker” orbital digital (Modelo SP-180/D). Logo em seguida, o material foi centrifugado a 2000 rpm, por 10 minutos e em seguida foram colocados nos tubos de ensaios 100 µL do sobrenadante após a centrifugação e adicionados 2,5 mL do reagente de Bradford.

Ao final desses processos, os tubos foram agitados delicadamente para não haver desnaturação das proteínas. Após 15 minutos de repouso as leituras foram realizadas no espectrofotômetro, com comprimento de onda de 595 nm e os resultados expressos em mg⁻¹ proteína g de massa seca. O branco foi feito com 100 µL de água + 2,5 mL do reagente de Bradford. A determinação de proteínas solúveis totais utilizou a fórmula abaixo:

$$Y = 0,0145 \times X \quad (R^2 = 0,9945) \quad (6)$$

Onde:

X= µg de proteínas e Y=Abs a 595 nm

AMINOÁCIDOS SOLÚVEIS TOTAIS

Os aminoácidos solúveis totais são determinados a partir da pesagem de 0,2 g e colocados em eppendorfs de 2 mL, adicionando 2 mL de H₂O destilada, homogeneizadas em agitador e levada a banho-maria por 30 minutos a 100 °C.

Em seguida o material foi centrifugado a 2500 rpm por 5 minutos, acrescentado 200 µL de solução 1 (Tabela 1), 200 µL de solução 2 (Tabela 2), 320 µL de H₂O destilada e 80 µL de extrato em microtubos, agitados e incubados a 100 °C por 15 minutos. O material foi

colocado em um recipiente com água e gelo, a fim de promover a paralização das reações e adicionado 1200 µL de etanol a 50%.

Tabela 1- Descrição da solução 1 de reação na determinação de aminoácidos solúveis totais. A tabela descreve os volumes de uma amostra com volume total de 200 µL

Reagentes	Concentração	Volume (µL) e massa seca (2mg)
C ₆ H ₈ O ₇	2M	20
KCN	5M	16
H ₂ O (pH 5,0)	-----	≈ 164 (H ₂ O _{ad} = 164 – base/ácido)

Antes de adicionar H₂O deve ser ajustado o pH da solução de reação 1 para pH 5,0

Fonte: Lobato e Barbosa. (2012).

Tabela 2- Descrição da solução 2 de reação na determinação de aminoácidos. A tabela descreve os volumes de uma amostra com volume total de 250 µL

Reagentes	Concentração	Volume (µL) e massa seca (2mg)
C ₄ H ₁₀ O	Puro	160
KCN	0,001M	40
C ₉ H ₆ O ₄	Puro	1,7

Fonte: Lobato e Barbosa. (2012).

As amostras foram mantidas por 20 minutos à temperatura ambiente e em seguida as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (570 nm). O branco foi resultante da mistura de 200 µL da solução 1 de reação, 200 µL da solução 2 de reação, 400 µL de H₂O e 1200 µL de etanol a 50%. Na determinação dos aminoácidos solúveis totais utilizou-se a fórmula abaixo:

$$Y = 0,0201 \times X \quad (R^2 = 0,9923) \quad (7)$$

Onde:

X= µg de glicose

Y= Abs a 490 nm

PROLINA

Os teores de prolina foram mensurados a partir da pesagem de 0,2 g de pó da matéria seca (MS) das raízes e das folhas e adicionados 2 mL de H₂O destilada. Posteriormente, o material foi homogeneizado em agitador e levado a banho-maria por 30 minutos e à 100 °C. Os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 5 minutos e 400 µL do sobrenadante foi colocado em microtubos juntamente com 400 µL da mistura da reação (Tabela 3) e 400 µL ácido acético a 100%, seguindo de agitação e incubação a 100 °C por 60 minutos.

Tabela 3- Descrição da mistura de reação na determinação de prolina. A tabela descreve os volumes de uma amostra com volume total de 500 μL

Reagentes	Concentração	Volume (μL) e massa seca (2mg)
$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Puro	240
H_3PO_4^*	6M	160
$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$	Puro	10

Fonte: Lobato e Barbosa. (2012).

Em seguida as amostras foram distribuídas em recipientes com água e gelo a fim de paralisar a reação. Concomitantemente foi adicionado 800 μL de tolueno a 100% e agitados vigorosamente por 30 segundos. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 20 minutos e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 520 nm. A fase não aquosa foi descartada e o branco foi feito somente com tolueno a 100%. O cálculo da determinação de prolina pode ser visualizado a seguir.

$$Y = 8,1941 \times X + 0,0457 \quad (R^2 = 0,9961) \quad (8)$$

Onde:

X= μmol de prolina

Y= Absorbância a 520 nm

GLICINA-BETAÍNA

A obtenção do extrato da glicina-betaína foi obtido a partir da pesagem de 0,25 g de matéria seca de folhas e raízes e transferidas aos tubos de 2 mL e adicionado 2 mL de água destilada a fim de obter o extrato aquoso. O material foi agitado por 4 h em mesa agitadora “shaker” orbital digital (Modelo SP-180/D) a 25 °C, pois a extração ocorreu a frio. As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos e a 25° C. Após a extração, o extrato aquoso foi coletado e foi descartado o precipitado.

Em tubos eppendorfs adicionou-se 250 μL do extrato aquoso + 250 μL de H_2SO_4 2N (diluição da amostra 1:2) e estes permaneceram durante 1h no banho de gelo, em geladeira (0° a 4° C). No material obtido foi adicionado 200 μL de KI-I_2 gelado e novamente permaneceram em banho de gelo por 16h a 0 °C.

O material foi centrifugado durante 15 minutos, a 10.000 rpm e a 0 °C, descartado o sobrenadante, seguindo de lavagem do precipitado por 2 vezes com 2 mL de H_2SO_4 1N. As amostras foram novamente centrifugadas por 5 minutos a 10.000 rpm e a 0 °C após cada lavagem. Finalmente, o precipitado foi dissolvido em 3 mL de 1,2-dicloroetano e agitado vigorosamente. Após 2h de descanso foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 365 nm. Para a determinação dos valores de glicina-betaína segue a fórmula abaixo.

$$Y = 0,0015X - 0,0037 \quad (R^2 = 0,9969)$$

(9)

Onde:

X = μg de glicina betaína

Y = Absorbância a 365 nm

APÊNDICE B- Variáveis climáticas obtidas em ambiente protegido e a campo

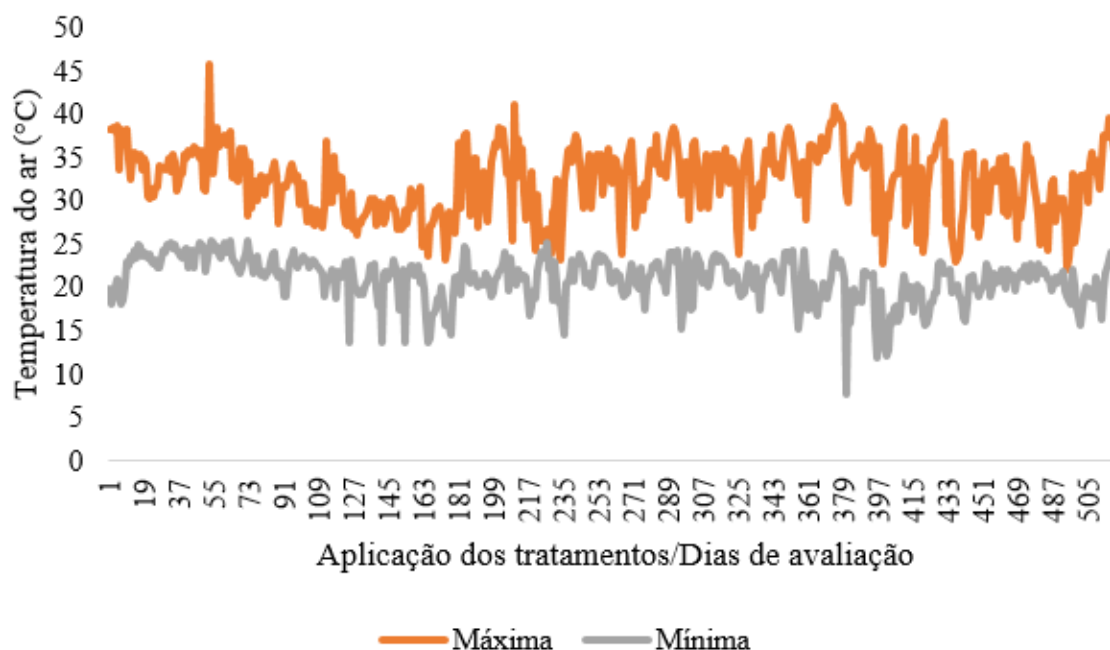


Figura 1- Temperatura do ar obtida em ambiente protegido durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* nos anos de 2018 a 2021. Rocha et al. (2021).

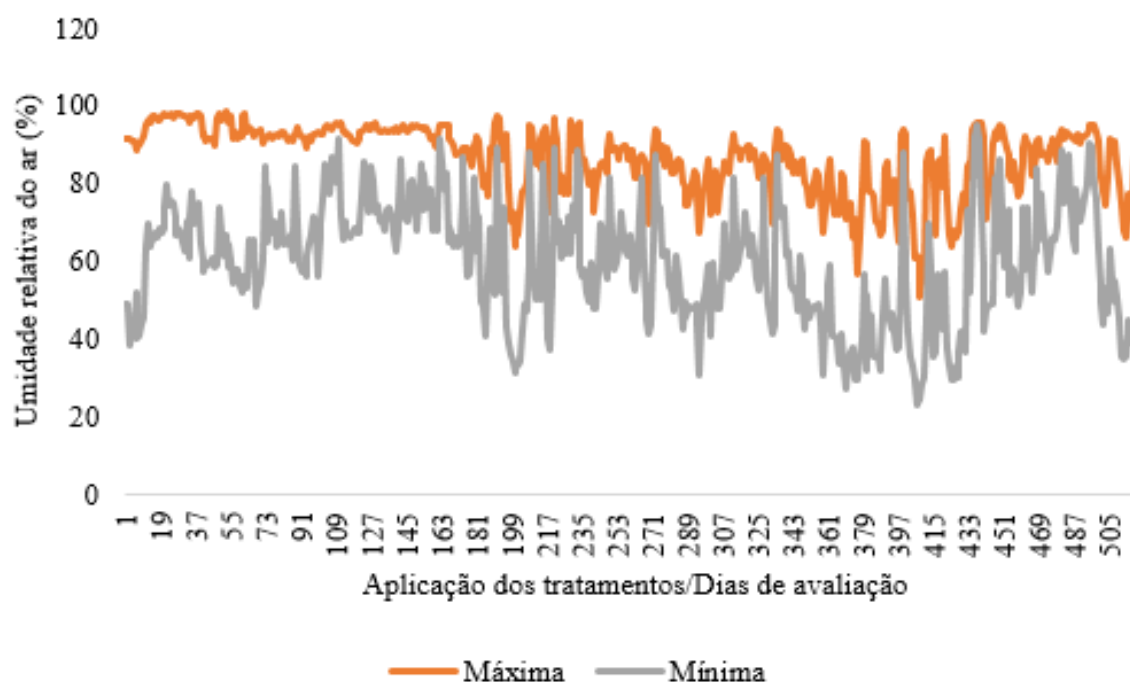


Figura 2- Umidade relativa do ar obtida em ambiente protegido durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* nos anos de 2018 a 2021. Rocha et al. (2021).

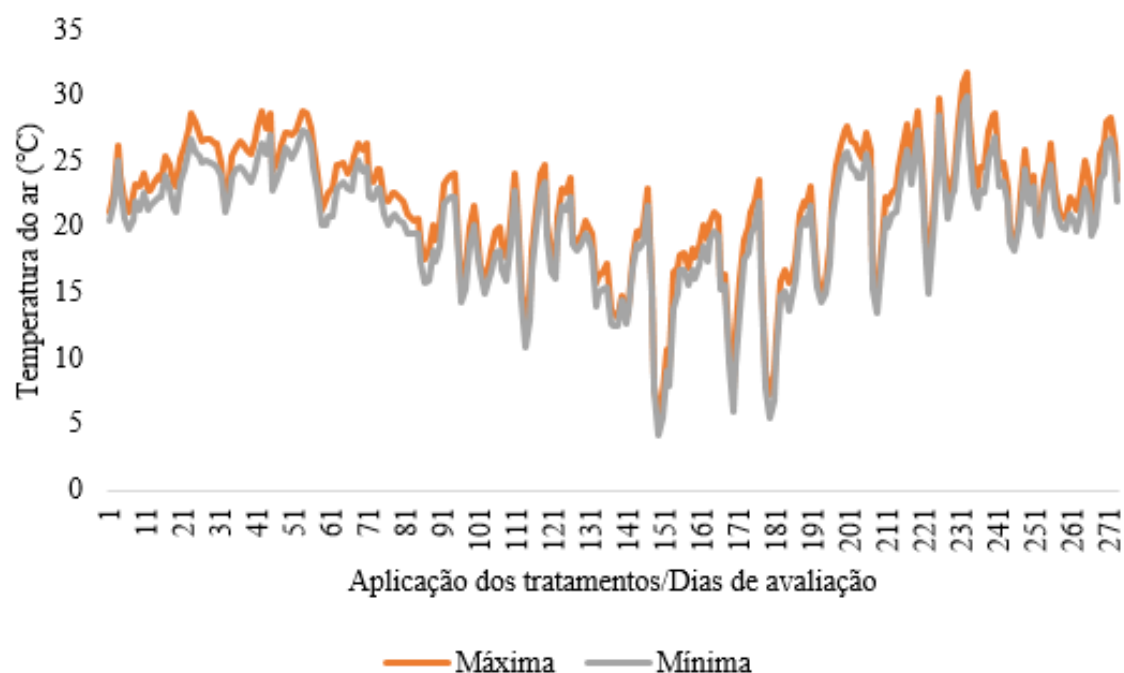


Figura 3- Temperatura do ar obtida a campo durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* no ano de 2021. Rocha et al. (2021).

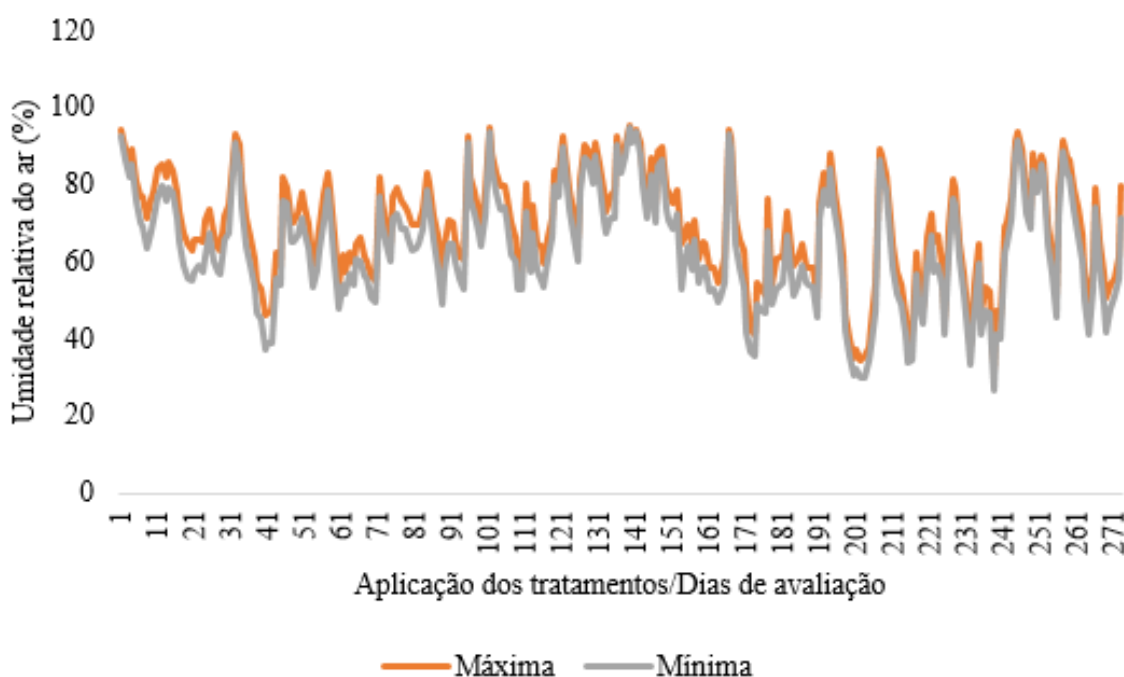


Figura 4- Umidade relativa do ar obtida a campo durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* no ano de 2021. Rocha et al. (2021).

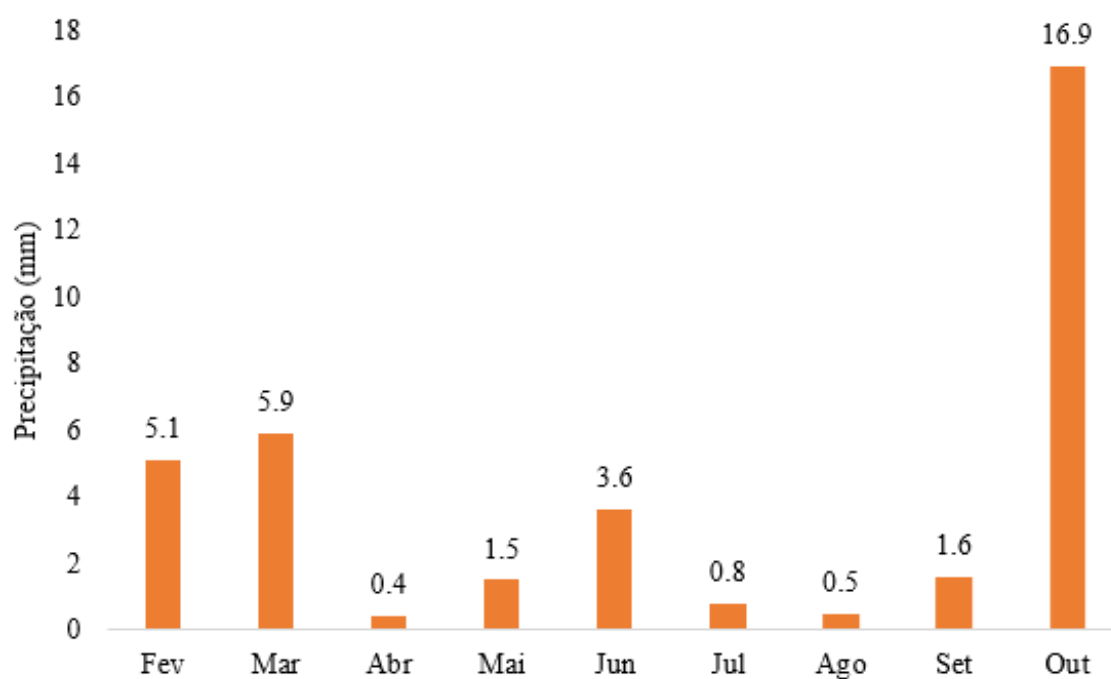


Figura 5- Precipitação mensal obtida a campo durante a condução do experimento com mudas de *Eucalyptus urograndis* e *Hymenaea courbaril* entre os meses de fevereiro a outubro no ano de 2021.
Fonte: Rocha et al. (2021).