

**UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI
E DAS MISSÕES
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**

POLIANA LOUZADA

**TOLERÂNCIA CRUZADA A CICLOS DE ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS
JOVENS DE *Eugenia uniflora* L.**

ERECHIM, OUTUBRO DE 2021.

POLIANA LOUZADA

**TOLERÂNCIA CRUZADA A CICLOS DE ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS
JOVENS DE *Eugenia uniflora* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ecologia.

Linha de Pesquisa Ecologia e Conservação da Biodiversidade.

Orientadora: Prof. Dr. Tanise Luisa Sausen

ERECHIM, OUTUBRO DE 2021.

POLIANA LOUZADA

**TOLERÂNCIA CRUZADA A CICLOS DE ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS
JOVENS DE *Eugenia uniflora* L.**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. TANISE LUISA SAUSEN

Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim

Prof. Dra. SILVIA VENDRUSCOLO MILESI

Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim

Prof. Dra. CAROLINE MÜLLER

Universidade Federal Fronteira Sul, Campus de Erechim

Erechim, outubro de 2021.

L895t Louzada, Poliana

Tolerância cruzada a ciclos de estresse hídrico em plantas jovens de
Eugenia uniflora L. / Poliana Louzada. – 2021.
46 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Regional Integrada do Alto
Uruguai e das Missões, Erechim – RS, 2021.

“Orientação: Prof^a Dra. Tanise Luisa Sausen”

1. Florestas ribeirinhas 2. Fotossíntese 3. Ecologia I. Título

C.D.U.: 574

Catálogo na fonte: bibliotecária Sandra Milbrath CRB 10/1278

Tolerância cruzada a ciclos de estresse hídrico em plantas jovens de *Eugenia uniflora* L.

Discente: Poliana Louzada

Orientadora: Profa. Dr^a. Tanise Luisa Sausen

22 de outubro de 2021

Resumo: Na natureza períodos de estresses abióticos e bióticos são frequentes e podem ocorrer sucessivas vezes ao longo do ciclo de vida de uma planta. *Eugenia uniflora* é uma espécie arbórea com ampla ocorrência em diferentes formações florestais e característica de áreas frequentemente inundáveis. Em florestas ribeirinhas subtropicais ocorrem, ao longo de todo ano, períodos frequentes e alternados de inundação e déficit hídrico, tornando um cenário ideal para o estudo de tolerância cruzada. O presente estudo objetivou investigar os efeitos de eventos repetidos e alternados de estresses hídricos nos atributos morfológicos e fisiológicos de *E. uniflora*. Em um experimento com dois eventos de estresse hídrico, nós primeiro submetemos as plantas aos tratamentos hídricos: controle (C), déficit (D) e inundação (I) e então, no evento tardio, as respostas dessas plantas a um segundo evento de estresse repetido (DD e II) e alternado (DC, DI, IC e ID) foi comparado ao evento inicial. Ambos os eventos tiveram duração de 12 dias. Após o evento inicial, as plantas em D apresentaram redução no conteúdo relativo de água na planta acompanhado pela redução nas trocas gasosas associada com fechamento estomático e na redução da eficiência de carboxilação (A/g_s). Além disso, foi observado uma maior área foliar específica (AFE). No evento tardio observamos as plantas submetidas ao déficit hídrico no evento inicial (DC e DI) apresentam uma recuperação nos atributos de trocas gasosas (A , g_s e E) e a diminuição na AFE. Ciclos repetidos de déficit hídrico (DD) foram associados com efeitos mais acentuados em relação a um evento isolado D e recorrente de inundação (II), com a redução em atributos fisiológicos e morfológicos. Ciclos repetidos de inundação (II) foram associados com a redução nas trocas gasosas comparados ao evento isolado e alternado (IC e ID). Os resultados deste estudo indicam que *Eugenia uniflora* tolera períodos curtos de inundação e déficit hídrico, porém eventos recorrentes, sobretudo de déficit hídrico são mais críticos para o crescimento. O estudo dos efeitos de períodos isolados, recorrentes e alternados de estresse hídrico sobre atributos morfológicos e fisiológicos é de extrema importância para projetos de ecologia e conservação, sobretudo aqueles associados com a recomendação de espécies para recuperação de florestas ribeirinhas.

Palavras-chave: área foliar específica, fotossíntese, seca, inundação, florestas ribeirinhas.

Cross tolerance to water stress cycles in young plants of *Eugenia uniflora* L.

Student: Poliana Louzada

Adviser: Profa. Dr^a. Tanise Luisa Sausen

October 22, 2021

Abstract: In nature, periods of abiotic and biotic stresses can occur successive times throughout the plant life cycle. *Eugenia uniflora* is a tree species with wide occurrence in different forest formations and characteristic of frequently flooded areas. In subtropical riparian forests, frequent and alternating periods of flooding and drought occur throughout the year, making it an ideal scenario for the study of cross tolerance. The present study aimed to investigate the effects of repeated and alternating water stress events on the morphological and physiological attributes of *E. uniflora*. In an experiment with two water stress events, we first subjected plants to water treatments: control (C), deficit (D) and flood (F) and then, in the late event, the responses of these plants to a repeated stress event (DD and II) and alternating (DC, DI, IC and ID) were compared to the initial event. Both events last 12 days. After the initial event, the D plants present a reduction in relative plant water content accompanied by a reduction in gas exchange associated with stomatal closure and a reduction in carboxylation efficiency (A/g_s). In addition, a greater specific leaf area (SLA) was observed. In the late event, we observed that plants submitted to water deficit in the initial event (DC and DF) show a recovery in gas exchange attributes (A , g_s and E) and a decrease in SLA. Repeated cycles of water deficit (DD) were associated with more pronounced effects compared to an isolated event D and recurrent flooding (II), with a reduction in physiological and morphological attributes. Repeated flooding cycles (II) were associated with a reduction in gas exchange compared to isolated and alternating events (IC and ID). The results of this study indicate that *Eugenia uniflora* tolerates short periods of flooding and drought, but recurrent events, especially water deficit, are more critical for growth. The study of the effects of prolonged, recurrent and alternating periods of water stress on morphological and physiological attributes is extremely important for ecology and conservation projects, especially those associated with a recovery recommendation for riparian forest species.

Keywords: specific leaf area, photosynthesis, drought, flooding, riparian forest

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Atributos morfológicos e fisiológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos de déficit (D), controle (C) e inundação (I) durante o evento inicial. Médias seguidas pelo desvio padrão (n= 10). Letra diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0.05$) 25
- Tabela 2:** Resultados da ANOVA *one-way* para plantas de *Eugenia uniflora* no evento tardio após evento inicial de déficit hídrico. Tratamentos compreendem déficit hídrico (D) no evento inicial; déficit-déficit (DD), déficit-controle (C) e déficit-inundação (I) durante o evento tardio, ($p \leq 0.05$)30
- Tabela 3:** Atributos morfológicos e fisiológicos de plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos de déficit (D) no evento inicial; déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI) durante o evento tardio. Valores correspondem a médias seguidas pelo desvio padrão (n= 5-10)31
- Tabela 4:** Resultados da ANOVA *one-way* para plantas de *Eugenia uniflora* no ciclo tardio após evento inicial de inundação. Tratamentos compreendem inundação (I) no evento inicial; inundação-inundação (II) inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID) durante o evento tardio, ($p \leq 0.05$)33
- Tabela 5:** Atributos morfológicos e fisiológicos de plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos de inundação (I) no evento inicial, inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID) durante o evento tardio. Valores são médias seguidas pelo desvio padrão (n=10)34

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Delineamento experimental para plantas de *Eugenia uniflora* expostas aos tratamentos hídricos no evento inicial de estresse: controle (C), inundação (I) e déficit (D) sobre eventos subsequentes de estresse, inundação e déficit tardios. Controle-controle (CC), controle-déficit (CD) e controle-inundação (CI); déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI); inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID). Para cada tratamento hídrico no evento inicial e tardio de estresse foram avaliadas 10 plantas.....21
- Figura 2.** Atributos morfológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos hídricos de déficit (D) no evento inicial de estresse, déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI) no evento tardio de estresse. (a) diâmetro da parte aérea (DPA), (b) diâmetro da raiz (DR), (c) conteúdo relativo de água na plantas (CRA) e (d) área foliar específica (AFE). As barras em linha vertical representam o desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos.....27
- Figura 3:** Atributos fisiológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos eventos iniciais de déficit hídrico (a, c, e e g) e de inundação (b, d, f, h). (a e b) Taxa fotossintética (*A*), (c e d) condutância estomática (gs), (e e f) concentração intracelular de CO₂ (Ci) e (g e h) taxa transpiratória (*E*). As barras em linha vertical representam o desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos.....28
- Figura 4:** Atributos fisiológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos eventos iniciais de déficit hídrico (a, c e e) e de inundação (b, d e f). (a e b) Eficiência de carboxilação (*A/Ci*), (c e d) eficiência intrínseca do uso da água (*A/g*s) e (e e f) eficiência no uso da água (*A/E*). Letras diferentes indicam diferença entre os tratamento.....29
- Figura 5:** Análise de componentes principais para ordenação em cada conjunto de atributos morfológicos e fisiológicos para todos os tratamentos hídricos dos eventos inicial e tardio nas plantas de *Eugenia uniflora*. Atributos morfológicos (a), fisiológicos (b) e atributos morfológicos e fisiológicos (c).....36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2 REFERÊNCIAS.....	14
3 Functional attributes to isolated, recurrent and alternating drought and flooding cycles in young <i>Eugenia uniflora</i> L. plants.....	16
1. Introdução.....	18
2. Material e Métodos.....	20
2.1 Espécie de estudo e preparação do experimento.....	20
2.2 Delineamento Experimental.....	21
2.3 Tratamentos hídricos.....	22
2.4 Atributos funcionais.....	23
2.4.1 Atributos morfológicos.....	23
2.4.2 Atributos fisiológicos.....	24
2.5 Análise dos dados.....	24
3. Resultados.....	25
3.1 Respostas ao Déficit hídrico.....	26
3.2 Respostas associadas a Inundação.....	32
3.3 Evento inicial e tardio.....	35
4. Discussão.....	36
4.1 Regulação estomática e aumento da área foliar específica durante primeiro evento de déficit hídrico.....	36
4.2 Tolerância cruzada.....	38
4.3 Ciclos repetidos e estratégias diferentes.....	39
5. Conclusão Geral.....	41
6. Referências.....	42
7. Agradecimentos.....	45
8. Considerações Finais.....	46

INTRODUÇÃO GERAL

As plantas vivem em um ambiente dinâmico com constantes variações nas condições climáticas e possuem a capacidade de ajustar sua fisiologia e morfologia, em resposta a essas variações, determinadas pela plasticidade fenotípica (SCHLICHTING 1986; LAMBERS; OLIVEIRA 2019). A capacidade de responder a ciclos repetidos de estresse ocasionados por fatores abióticos e bióticos que as tornam mais tolerantes a uma exposição futura de estresse, tem sido classificada como o desenvolvimento de uma memória ao estresse (CONRATH et al., 2006; BRUCE et al., 2007; TANOU; FOTOPOULOS; MOLASSIOTIS, 2012; CRISP et al., 2016). O processo de memória compreende a aprendizagem e o armazenamento das experiências de estresse repetidos, envolvendo um conjunto de respostas classificadas como amadurecimento, *priming*, condicionamento ou aclimação (BALUŠKA; VOLKMANN; MENZEL, 2005; CRISP et al., 2016).

O conceito de *priming* refere-se ao desenvolvimento de respostas prévias, após uma primeira exposição a um evento de estresse, e podem envolver modificações epigenéticas (ROBERTSON & WOLF, 2012; BRUCE et al., 2007; FLETA-SORIANO & MUNNÉ-BOSH, 2016), ajustes bioquímicos, fisiológicos e morfológicos (BRUCE et al., 2007; WALTER et al., 2013). Essas respostas permitem que as plantas tenham uma maior capacidade para se aclimatar e tolerar períodos de estresse futuros ao longo do seu ciclo de vida (BRUCE et al., 2007).

Ao longo do ciclo de vida, as plantas podem ser expostas a um mesmo fator de estresse ou a um fator diferente e, neste caso, as respostas de tolerância são classificadas como tolerância cruzada (FLETA-SORIANO & MUNNÉ-BOSH, 2016). A tolerância cruzada refere-se à adaptação que as plantas possuem quando expostas a algum fator de estresse inicial, resultando na tolerância a uma condição de estresse posterior e diferente (GENOUD; METRAUX, 1999; PASTORI; FOYER, 2002). Deste modo, os mecanismos que as plantas respondem ao estresse anterior, permitem a tolerância cruzada a outro fator de estresse (WITZANY, 2006), aumentando sua capacidade e experiência a estes ciclos repetidos ou diferentes (TREWAVAS, 2009).

As respostas ao estresse são definidas por: i) fase inicial de alarme (planta ativa mecanismos e processos associados ao crescimento diminuem); ii) fase de resistência (planta modula a estrutura e função para reparar-se) e iii) fase de persistência (quando o estresse for

muito forte, a planta morre; e se o estresse diminuir, a planta recupera-se atingindo o ótimo estado fisiológico) (FLETA-SORIANO & MUNNÉ-BOSH, 2016).

Estudos evidenciam a capacidade que as plantas apresentam em modificar sua fisiologia e metabolismo em resposta às experiências anteriores (GOH; NAM; PARK, 2003; BRUCE et al., 2007; WALTER, et al., 2013; WANG et al., 2016; VALLIERE et al., 2019). Plantas de cana-de-açúcar submetidas a três ciclos repetidos de déficit hídrico apresentaram alterações fisiológicas, com aumento da condutância estomática e taxa fotossintética e morfológicas com um maior acúmulo de massa seca de raiz, razão raiz: parte aérea e maior produção de biomassa, evidenciando que a espécie melhorou seu desempenho devido aos eventos anteriores de estresse por déficit hídrico (MARCOS et al., 2018). Em plantas de tomate, Yang et al., (2020) verificaram que após o pré-tratamento por estresse de salinidade do solo, as plantas apresentaram tolerância cruzada quando submetidas ao estresse subsequente por déficit hídrico, obtendo melhor desempenho com aumento da taxa fotossintética e eficiência fotoquímica.

Embora a maioria dos estudos investiguem o efeito de tolerância cruzada em plantas cultivadas, vários estudos conduzidos com espécies arbóreas buscam avaliar os efeitos de estresses abióticos e, principalmente destacar a importância destes estudos para o desenvolvimento de projetos de restauração em ambientes degradados (TANOU; FOTOPOULOS; MOLASSIOTIS, 2012; WALTER et al., 2011; MARCHIORI et al., 2017; KATAM et al., 2020; MANTOAN et al., 2020; ALVES et al., 2020). Os efeitos de estresses abióticos relacionados a plasticidade fenotípica sob a experiência precoce de déficit hídrico e inundação em espécies exóticas e nativas foram avaliados por Wang et al., (2016) e os resultados observados indicaram que a exposição precoce altera as respostas das plantas em condições posteriores, melhorando a tolerância sob condições de estresse futuros. Desta forma, o habitat da espécie e o tipo de experiência ambiental foram pontos-chaves, pois afetam a capacidade da planta em modular a plasticidade subsequente em resposta a experiência inicial (WANG et al., 2016).

Devido ao crescente impacto das atividades humanas e a preocupação com a perda de biodiversidade e degradação de habitats, Valliere et al., (2019) verificaram que o pré-condicionamento de plantas perenes nativas à exposição ao déficit hídrico melhoram o desenvolvimento e a tolerância das plantas submetidas a este tipo de estresse, podendo obter um melhor desempenho em projetos de restauração. Já Alves et al., (2020) observaram em plântulas de *Dipteryx alata*, uma espécie nativa do Cerrado, que a exposição a ciclos

recorrentes de déficit hídrico resulta em menor sensibilidade, o que sugere a existência de um mecanismo de memória a seca. Mais ainda, a existência de uma memória ao estresse é destacada por Alves et al. (2020) como um próximo passo em estudos de ecofisiologia e conservação.

Em ambientes como as florestas ribeirinhas, podemos encontrar oscilações sazonais entre períodos de inundações (SILVA et al., 2012; WITTMANN et al., 2017) e déficit hídrico (HEGERL; HANLON; BEIERKUHNLEIN, 2011; WITTMANN et al., 2017). Nestes ambientes, alterações na topografia, relevo e solo, possuem fortes efeitos na composição, distribuição das espécies e estrutura das comunidades vegetais (OLIVEIRA-FILHO et al., 1994; BUDKE; JARENKOW; OLIVEIRA-FILHO, 2007). Em florestas subtropicais, Budke, Jarenkow & Oliveira-Filho (2008) verificaram a ocorrência diferencial de espécies de acordo com a topografia, em relação à margem do rio. Além disso, a estruturação em mosaico topográfico foi capaz de separar ambientes secos de inundados em pequenas escalas espaciais (JUNK; BAYLEY; SPARKS, 1989).

As florestas ribeirinhas subtropicais configuram-se como um excelente cenário para investigar as respostas das espécies as oscilações dos períodos chuvosos e secos, sendo de extrema importância para projetos que visam recuperar estes ambientes, através da inserção de espécies potenciais. Nesse sentido, uma espécie chave para o estudo de tolerância cruzada é *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), com ocorrência em fitofisionomias de restingas, floresta ombrófila mista, florestas ribeirinhas subtropicais em áreas frequentemente inundáveis (BUDKE et al., 2010) e em locais de baixa e média elevação (BUDKE; JARENKOW; OLIVEIRA-FILHO, 2008).

Desta forma, o objetivo do nosso trabalho foi investigar as respostas morfológicas e fisiológicas em plantas jovens de *Eugenia uniflora* submetidas a condições de estresse hídrico por eventos repetidos e alternados de déficit hídrico e inundação. As hipóteses testadas neste estudo são: i) a tolerância ao estresse hídrico durante o ciclo inicial de inundação (I) e déficit hídrico (D) envolverá mecanismos de regulação das trocas gasosas, com estratégias similares nas plantas submetidas a I e D; ii) o evento inicial de estresse por inundação irá conferir maior tolerância para o segundo evento de estresse por déficit hídrico comparado a condição contrária (déficit hídrico seguido de inundação) e (iii) a condição ambiental mais severa com redução do crescimento e regulação das trocas gasosas será observada nas plantas submetidas a dois ciclos repetidos de déficit hídrico.

Os resultados deste estudo permitem avaliar se as estratégias utilizadas por *E. uniflora* após os eventos iniciais de estresse hídrico podem conferir maior tolerância a um segundo evento de estresse hídrico, que pode ser o mesmo ou diferente. A compreensão das respostas morfofisiológicas será fundamental para avaliar os mecanismos de tolerância cruzada ao estresse hídrico em *E. uniflora*.

Esta dissertação contempla um capítulo, apresentado em formato de manuscrito científico, que será submetido ao periódico *New Phytologist* intitulado: Functional attributes to isolated, recurrent and alternating drought and flooding cycles in young *Eugenia uniflora* L. plants.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. D. F. B. et al. Evidence of drought memory in *Dipteryx alata* indicates differential acclimation of plants to savanna conditions. **Scientific reports**, v. 10, n. 16.455, 2020.
- BALUŠKA, F.; VOLKMANN, D.; MENZEL, D. Plant synapses: actin –based domains for cell-to-cell communication. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 3, p. 106–111, 2005.
- BRUCE, T. J. A. et al. Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, p. 603–608, 2007.
- BUDKE, J. C.; JARENKOW, J. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Relationships between tree component structure, topography and soils of a riverside forest, Rio Botucaraí, Southern Brazil. **Plant Ecology**, n. 189, p. 187–200, 2007.
- BUDKE, J. C.; JARENKOW, J. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Tree community features of two stands of riverine forest under different flooding regimes in Southern Brazil. **Flora**, v. 203, n. 2, p. 162–174, 2008.
- BUDKE, J. C.; JARENKOW, J. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Intermediary disturbance increases tree diversity in riverine forest of southern Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 19, n. 8, p. 2371–2387, 2010.
- CONRATH, U. et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, n. 10, p. 1062–1071, 2006.
- CRISP, P. A. et al. Reconsidering plant memory: intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. **Science Advances**, v. 2, n. 2, p. 1–14, 2016.
- FLETA-SORIANO, E.; MUNNÉ-BOSH, S. Stress Memory and the Inevitable Effects of Drought: A Physiological Perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 143, p. 1–6, 2016.
- GENOUD, T., MÉTRAUX, J. P. Crosstalk in plant cell signaling: structure and function of the genetic network. **Trends in Plant Science**, v. 4, n. 12, p. 503–507, 1999.
- GOH, C. H.; NAM, H. G.; PARK, Y. S. Stress memory in plants: a negative regulation of stomatal response and transient induction of rd22 gene to light in abscisic acid-entrained *Arabidopsis* plants. **Plant Journal**, v. 36, n. 2, p. 240–255, 2003.
- HEGERL, G. C., HANLON, H., BEIERKUHNLIN, C. Climate science: elusive extremes. **Nature Geoscience**, v. 4, p. 142–143, 2011.
- JUNK, W. J.; BAYLEY, P. B.; SPARKS, R. E. The flood pulse concept in river-floodplain Systems. p. 110–127, 1989. In: D.P. **Dodge Proceedings International Large River Symposium, Can. Spec. Publ. Fisheries and Aquatic Sciences**, Canada, 106.
- KATAM, R. et al. Proteomics, physiological, and biochemical analysis of cross tolerance mechanisms in response to heat and water stresses in soybean. **Plos one**, v. 15, n. 6, p. 1–29, 2020.
- LAMBERS, Hans; OLIVEIRA, Rafael S. **Plant Physiological Ecology**. Cham, Switzerland: Springer, 2019.

- MANTOAN, L. P. B. et al. Rapid dehydration induces long-term water deficit memory in *sorghum* seedlings: advantages and consequences. **Environmental and Experimental Botanic**, v. 180, p. 1–10, 2020.
- MARCHIORI, P. E. R. et al. Physiological plasticity is important for maintaining sugarcane growth under water deficit. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 112, 2017.
- MARCOS, F. C. C. et al. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water deficit. **Journal of Plant Physiology**, v. 223, p. 9–18, 2018.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. Effect of flooding regime and understory bamboos on the physiognomy and tree species composition of a tropical semi deciduous forest in southeastern Brazil. **Vegetation**, 113, 99–124, 1994.
- PASTORI, G. M.; FOYER, C. H. Common components, networks, and pathways of cross tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated controls. **Plant Physiology**, v. 129, p. 460–468, 2002.
- ROBERTSON, A. L. & WOLF, D. E. The role of epigenetics in plant adaptation. **Trends in Evolutionary Biology**, v. 4, p.19–25, 2012.
- SCHLICHTING, C. D. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 17, p. 667–693, 1986.
- SILVA, A. C. et al. **Florestas inundáveis: ecologia, florística e adaptações das espécies**. Lavras: Ed. UFLA. 2012. ISBN: 978-85-8127-012-8.
- TANOU, G.; FOTOPOULOS, V.; MOLASSIOTIS, A. Priming against environmental challenges and proteomics in plants: update and agricultural perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v.3, n. 216, p. 1–5, 2012.
- TREWAVAS, A. What is plant behaviour? **Plant, Cell and Environment**, v. 32, n. 6, p. 606–616, 2009.
- VALLIERE, J. M. et al. Can we condition native plants to increase drought tolerance and improve restoration success? **Ecological Applications**, v. 29, n. 3, p. 1–13, 2019.
- YANG, X. et al. Photosynthetic response mechanism of soil salinity-induced cross-tolerance to subsequent drought stress in tomato plants. **Plants**, v. 9, n. 3, p. 1–15, 2020.
- WALTER, J. et al. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 32–40, 2011.
- WALTER, J. et al. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 94, p. 3–8, 2013.
- WANG, S, R, M. et al. Experience of inundation or drought alters the responses of plants to subsequent water conditions. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 1, p.176–187, 2016.
- WITTMANN, F. et al. The Brazilian freshwater wetlandscape: Changes in tree community diversity and composition on climatic and geographic gradients. **Plos One**, v. 12, p. 1–18, 2017.
- WITZANY, G. Plant communication from biosemiotic perspective. **Plant Signal, Behav** n. 1, p. 169–178, 2006.

**Functional attributes to isolated, recurrent and alternating drought and flooding cycles
in young *Eugenia uniflora* L. plants**

Poliana Louzada¹, Lucas Haiduki², Helena Chaves Tasca¹, Leandro Galon³, Elivane Salete
Capellesso¹, Tanise Luisa Sausen^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões,
Campus de Erechim.

² Laboratório de Ecologia e Sistemática Vegetal – ECOSSIS. Departamento de Ciências Biológicas.
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim.

³ Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim

Este manuscrito científico será submetido para a revista Scientific Reports
(Fator de Impacto 4,9). Revista científica com foco em fisiologia vegetal.

Abstract

- Subtropical riverine forests are characterized by short and frequent flood cycles, often alternating with periods of water deficit. These recurrent and alternating water stress events have become more frequent with climate change. In these forests, *Eugenia uniflora* occurs in areas that are often flooded.
- We investigate the effects of isolated, alternate and repeated cycles of drought and flooding on the morphological and physiological attributes of young *E. uniflora* plants.
- The plants were subjected to two subsequent water stress events, early and late events for 12 days. The water treatments were control (C), deficit (D) and flooding (F) in initial event. In the late event, the plants were subjected to alternate water treatments (DC, DF, FC and FD) and repeated treatments (DD and FF). A set of morphological and physiological attributes were evaluated in both events.
- The initial event was more severe for plants under D with reduction of gas exchange (A, g_s and E) due to stomatal and non-stomatal limitations and an increase in specific leaf area (SLA). In the late event, the effects of recurrent cycles were more pronounced than alternate cycles. Plants exposed to water deficit in the initial cycle recover gas exchange attributes when they return to control conditions (DC) and/or are subjected to flooding (DF). SLA presents reduction in DC and DF.
- The effects of repeated cycles were more accentuated for plants in DD with a marked reduction in gas exchange, SLA and lower stem and root diameter compared to isolated stress (D). Repeated flooding cycles (FF) lead to reduced gas exchange compared to the isolated (F) and alternating events (FC and FD).
- *Eugenia uniflora* is tolerant to periods of drought and flooding, especially to isolated events. Alternating drought/flood cycles resemble the most frequent environmental condition in riparian forests and the responses observed in morphological and physiological attributes seem to confirm cross tolerance to water stress.
- Understanding the morphological and physiological responses to recurrent and alternating events is critical in ecology and conservation studies. The ecophysiological attributes provide important information about a riparian forest structure and help in decision making in recovery projects for these environments.

Keywords: climate change, abiotic factors, cross-tolerance, ecophysiology, SLA.

1. Introdução

As florestas ribeirinhas abrangem um ambiente diverso e dinâmico devido a sua transição entre os ecossistemas terrestres e aquáticos (Naiman; Décamps; Pollock, 1993). A diversidade vegetal nestes ambientes é associada pela composição das plantas em escala regional e influenciada por gradientes climáticos, incluindo a sazonalidade hídrica e térmica, características de regiões com florestas inundáveis, como Amazônia, Mata Atlântica e Pantanal (Wittmann et al., 2017). Nas florestas ribeirinhas, a frequência e o regime de períodos de inundações e de secas geralmente apresentam um padrão sazonal com variação de dias a semanas ao longo do ano (Junk, et al., 2005; Damasceno-Junior et al., 2005; Budke et al., 2008; Silva et al., 2012). A sazonalidade hídrica regula a distribuição e diversidade vegetal (Junk, et al., 1989), com diferenças na ocorrência das espécies entre áreas não inundáveis comparadas as áreas de inundação sazonal e contínua (Díaz; Cabido et al. 1996; Nunes Da Cunha; Junk 1999; 2001).

A comunidade vegetal inserida em um ecossistema está sujeita a uma grande variação nas condições ambientais (Wang et al., 2016) e as plantas possuem habilidade de aclimação que determina a sua capacidade em responder às variações nas condições ambientais (Valladares et al., 2007; Fleta-Soriano; Munné-Bosch, 2016). Estresses abióticos, como déficit hídrico e inundação podem se tornar mais frequentes devido ao aumento da variabilidade ambiental perante as constantes mudanças climáticas (Hegerl et al., 2011; Valliere et al., 2019) e impactar na estrutura e funcionamento das comunidades vegetais.

Os períodos de inundação acarretam a redução da disponibilidade de oxigênio no solo saturado de água e as plantas podem apresentar, nessas condições um aumento da taxa de abscisão foliar, rápido aumento no crescimento caulinar, alterações na alocação de biomassa, desenvolvimento de lenticelas e aerênquima, como também redução da fotossíntese atribuído às limitações estomáticas (Coutts; Philipson 1978; Kozlowski 1984; Herrera et al. 2008; Mielke; Schaffer 2009; Parolin, 2009). Já as respostas ocasionadas pelo déficit hídrico envolvem modificações no crescimento, sobretudo no comprimento e diâmetro da raiz, na alocação de biomassa, com aumento da alocação entre raiz e parte aérea, devido ao menor investimento no crescimento da parte aérea, fechamento estomático e redução na fotossíntese causada por limitações estomáticas e não-estomáticas (Parolin, 2001; Luo, 2010; Mei et al., 2013; Marcos et al., 2018).

Durante as diferentes fases do ciclo de vida, as plantas são submetidas a condições de estresses hídrico, como períodos alternados de déficit hídrico e inundações (Parolin et al., 2010) e, possuem habilidade para lidar com essa variação na disponibilidade hídrica, mediante o desenvolvimento de respostas rápidas (Lande, 2009). Os efeitos de estresse hídrico sobre as plantas variam conforme a intensidade de duração do estresse e de sua genética, produzindo mudanças morfofisiológicas nas espécies vegetais (Bailey-Serres et al., 2008). A frequência irregular de períodos de déficit hídrico e inundação podem prejudicar o desenvolvimento e sobrevivência das plantas, resultando em efeitos diferenciados nas respostas a situações subsequentes de estresse hídricos (Miao; Zou; Breshears, 2009). Assim, as espécies vegetais podem apresentar mecanismos semelhantes de tolerância a essas condições, com espécies tolerantes ao déficit hídrico apresentando tolerância a inundação (Gomes; Kozlowski, 1980) e, conseqüentemente, espécies tolerantes a inundação podem ser tolerantes ao déficit hídrico (Fukao et al., 2011).

As condições de déficit hídrico e inundação divergem no contexto ambiental, porém as respostas morfológicas e fisiológicas apresentadas pelas plantas podem ser semelhantes, indicando que a exposição perante uma situação de estresse pode preparar a planta para exposição à uma condição diferente (Wang et al., 2016). Além disso, a exposição inicial de plantas perenes nativas ao déficit hídrico melhora o desenvolvimento e a tolerância das plantas submetidas a este tipo de estresse futuro (Valliere et al., 2019), enfatizando o efeito do pré-condicionamento.

O clima subtropical é caracterizado pela ocorrência de precipitações distribuídas ao longo do ano, com oscilações de períodos curtos de déficit hídrico e inundação (Hegerl; Hanlon; Beierkuhnlein, 2011; Silva et al., 2012; Wittmann et al., 2017), característicos de florestas ribeirinhas subtropicais (Budke et al., 2007; Silva et al., 2012). Nestes ambientes, a espécie *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) apresenta ocorrência em áreas frequentemente inundáveis (Budke et al., 2010). *E. uniflora* é uma espécie arbórea, nativa do Brasil e sua ocorrência é observada em diferentes formações vegetais da Mata Atlântica, incluindo restingas, floresta ombrófila mista, e em áreas de baixa e média elevação em florestas ribeirinhas subtropicais (Longhi, 1995; Budke et al., 2007, 2008).

Vários estudos têm investigado as respostas de *E. uniflora* sob condições de estresse por déficit hídrico e inundação (Nogueira et al., 2000; Anton et al., 2020; Mielke; Schaffer, 2010a; 2010b; 2011; Delevatti; Sausen, 2018; Artusi et al., 2020). Plantas de *Eugenia uniflora* apresentam tolerância ao déficit hídrico com um efetivo controle estomático e aumento dos

níveis de prolina (Nogueira et al., 2000; Anton et al., 2020). A tolerância ao estresse por inundação parcial e total a períodos de curto a médio prazo (10 e 15 dias) foi observada em plantas de *Eugenia uniflora*, com respostas clássicas como abscisão foliar e redução no crescimento e acúmulo de massa seca da raiz (Artusi et al., 2020).

Com base na ocorrência da espécie em áreas frequentemente inundadas de florestas ribeirinhas subtropicais e pela presença de períodos frequentes e alternados de déficit hídrico e inundação característicos dessas formações florestais, o objetivo do nosso trabalho foi simular essas condições ambientais, a fim de investigar as respostas morfológicas e fisiológicas em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas a eventos repetidos de déficit hídrico e inundação. As nossas hipóteses são: i) a tolerância ao estresse hídrico durante o ciclo inicial de inundação (I) e déficit hídrico (D) envolverá mecanismos de regulação das trocas gasosas, com estratégias similares nas plantas submetidas a I e D; ii) o evento inicial de estresse por inundação irá conferir maior tolerância para o segundo evento de estresse por déficit hídrico comparado a condição contrária (déficit hídrico seguido de inundação) e (iii) a condição ambiental mais severa com redução do crescimento e regulação das trocas gasosas será observada nas plantas submetidas a dois ciclos repetidos de déficit hídrico.

2. Material e Métodos

2.1 Espécie de estudo e preparação do Experimento

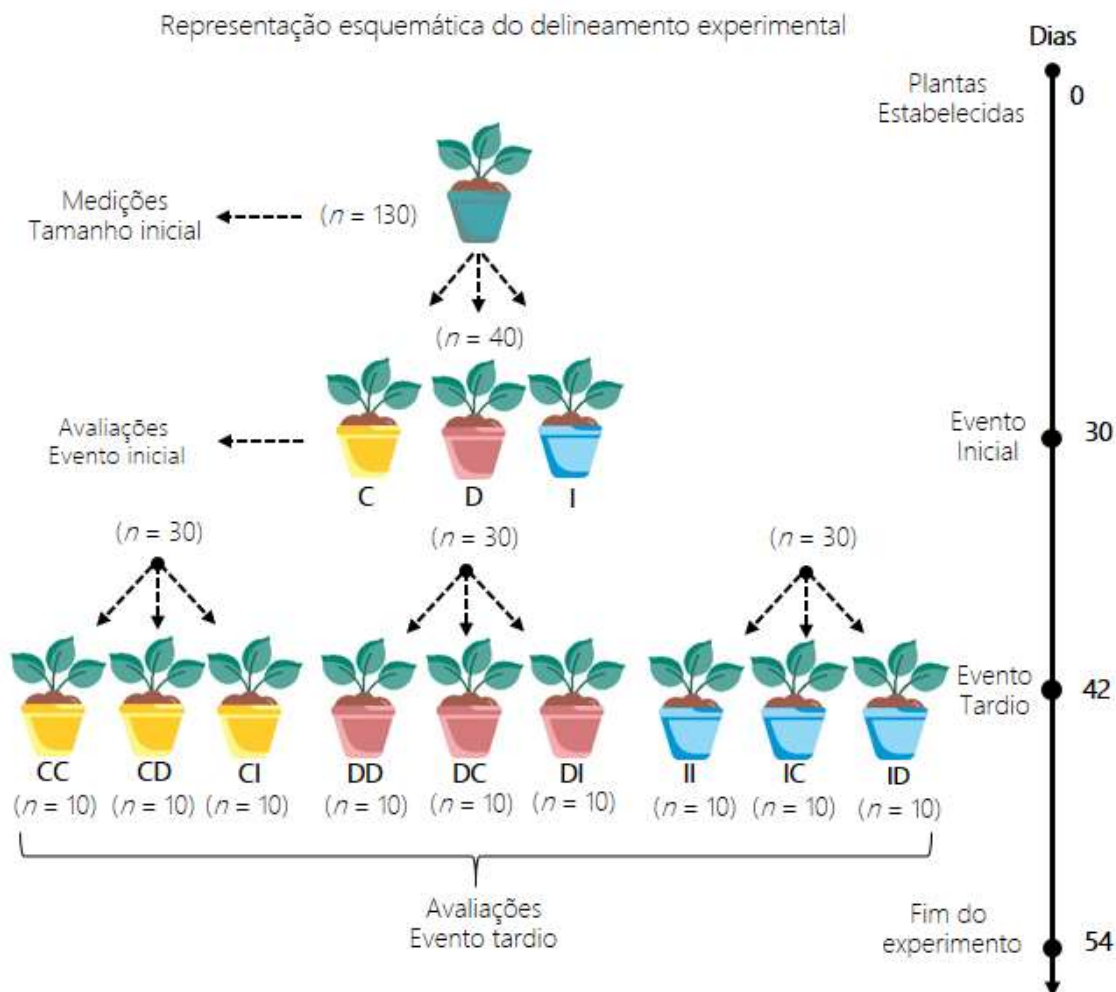
O experimento foi realizado entre janeiro e fevereiro de 2020, no Laboratório de Ecologia e Sistemática vegetal – ECOSSIS, localizado na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim. As plântulas de *Eugenia uniflora* foram adquiridas de viveiro comercial com dois meses de idade, e após aclimação durante 3 meses as condições ambientais do laboratório foram transferidas para tubetes de 175 cm³, preenchidos com substrato comercial e vermiculita (3:1). Durante todo período, as plantas foram irrigadas a cada dois dias e mantidas em 85% da capacidade de vaso. Durante o período experimental as plantas foram mantidas sob temperatura média de 25.58 ± 2.42 °C e umidade relativa do ar de $63.85 \pm 8.69\%$.

2.2 Delineamento Experimental

O experimento consistiu em dois eventos de estresse hídrico, denominados de evento inicial e tardio, conforme metodologia proposta por Wang et al. (2016). Para cada um dos eventos, as plantas foram submetidas a três tratamentos hídricos: controle (C), inundação (I) e déficit (D). Para os eventos de estresse (inicial e tardio), as plantas de cada tratamento hídrico foram mantidas pelo período de 12 dias, conforme o regime de inundações em clima subtropical (Budke et al., 2008; Samojeden et al., 2018). Ao término de cada um dos eventos de estresse (inicial e tardio), foram retiradas 10 plantas de cada tratamento para determinação dos atributos morfológicos e fisiológicos (repetições biológicas). Para o experimento foram utilizadas o total de 130 plantas.

Para o evento inicial de estresse foram utilizados 40 indivíduos para cada tratamento hídrico: controle (C), déficit (D), inundação (I) (Figura 1). As plantas permaneceram no evento inicial por 12 dias e, após o término do evento inicial, foram avaliados 10 indivíduos de cada um dos tratamentos hídricos (C, D e I). Foram distribuídos os 30 indivíduos restantes de cada tratamento hídrico do evento inicial (C, D e I) para o evento tardio de estresse que compreende os tratamentos hídricos: controle-controle (CC), controle-déficit (CD) e controle-inundação (CI); déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI); inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID). Cada tratamento consiste de 10 indivíduos (unidade experimental). As plantas permaneceram por mais 12 dias no evento tardio e ao término deste período foram realizadas as avaliações dos atributos morfológicos e fisiológicas.

Figura 1 - Delineamento experimental para plantas de *Eugenia uniflora* L. expostas aos tratamentos hídricos no evento inicial de estresse: controle (C), inundação (I) e déficit (D) sobre eventos subsequentes de estresse, inundação e déficit tardios. Controle-controle (CC), controle-déficit (CD) e controle-inundação (CI); déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI); inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID). Para cada tratamento hídrico no evento inicial e tardio de estresse foram avaliadas 10 plantas.



2.3 Tratamentos hídricos

Para simular o tratamento de inundação foram utilizadas caixas de polietileno com volume de 35 litros, sendo que o nível da inundação permaneceu acima da superfície do solo (até o colo da raiz da planta). Para os tratamentos de inundação foi utilizada água da chuva, sendo a mesma coletada a partir do mês de julho e armazenada em um tambor de 100 L. A concentração média de oxigênio dissolvido (OD) na água foi de $3.15 \pm 0.12 \text{ mg L}^{-1}$, avaliada ao longo do experimento utilizando um medidor multiatributos portátil (Horiba@R U-50 mult-analyser).

Para o tratamento de déficit hídrico foi suspensa a irrigação durante os 24 dias do experimento, sendo 12 dias para cada evento (inicial e tardio). A disponibilidade de água nos tratamentos controle e déficit foi monitorada a cada dois dias ao longo de todo período experimental por meio da pesagem dos vasos e determinação do conteúdo gravimétrico de

água no solo. Para o tratamento controle, as plantas foram mantidas irrigadas em dias alternados e mantidas em 79% da capacidade de vaso ($119.20 \pm 7.58 \text{ g g}^{-1}$).

2.4 Atributos funcionais

As avaliações dos atributos morfológicos e fisiológicos foram realizadas após a aclimatação das plantas (tempo zero) e após cada um dos dois eventos de tratamentos hídricos (evento inicial e evento tardio).

2.4.1 Atributos morfológicos

A altura da parte aérea (H, cm) foi avaliada do colo até o meristema apical caulinar e o comprimento da raiz (CR, cm), da região do colo até o meristema apical radicular utilizando régua graduada (mm). O diâmetro da parte aérea (DPA, mm), foi mensurado a dois centímetros acima do colo da raiz e o diâmetro da raiz (DR, mm) a dois centímetros abaixo do colo da raiz com um paquímetro digital. O número de folhas (NF) foi avaliado por contagem. Após as medições, as folhas, caules e raízes foram separadas e pesadas para determinação da massa fresca (MF) e, posteriormente secas individualmente em estufa com circulação de ar a 60 °C para obtenção da massa seca das folhas (MSF, g), massa seca do caule (MSC, g) massa seca da parte aérea (MSPA= MSC+MSF, g), massa seca da raiz (MSR, g) e massa seca total (MST= MSPA+MSR, g). A alocação de biomassa foi avaliada pela razão raiz: parte aérea (razão R: PA), razão massa seca parte aérea: massa seca total (MSF: MST, g) e a razão massa seca da raiz: massa seca total (MSR: MST, g).

A área foliar (AF, cm²) foi avaliada utilizando a folha mediana completamente expandida de cada planta (mesma utilizada nas medições de trocas gasosas), com obtenção de uma imagem digital das folhas com a ferramenta ImageJ 1.6 (Ferreira; Rasband, 2012). Para a determinação da área foliar específica (AFE, cm² /g⁻¹), foi calculada a razão entre a área foliar e a massa foliar (AFE = AF:MSF). O conteúdo relativo de água na planta (CRA) foi calculado, considerando $CRA = (MST - MFT) * 100 / MFT$.

2.4.2 Atributos fisiológicos

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas na folha madura completamente expandida utilizando um analisador de gases infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCA PRO (Analytical Development Co, Ltd, Hoddesdon, UK). O fluxo de fótons fotossinteticamente ativo foi de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a umidade relativa mantida entre 50 e 60%. A concentração de CO_2 dentro da câmara de medição foi fixada em 400 ppm. As medições foram realizadas no período das 8 horas às 10 horas da manhã. A partir da taxa de assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e a concentração intracelular de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) foram calculadas a eficiência de carboxilação (A/C_i) pela razão entre a taxa fotossintética (A) e a concentração intracelular de CO_2 (C_i), a eficiência no uso de água (A/E) e a eficiência intrínseca do uso de água (A/g_s).

2.5 Análise dos dados

As diferenças entre os tratamentos hídricos (controle - C, déficit - D e inundação - I) no evento inicial para os atributos morfológicos e fisiológicos foram analisadas por meio de Análises de Variância – *One way*, comparando cada atributo morfológico e fisiológico entre os tratamentos hídricos do evento inicial (C, D e I), seguida de Teste Tukey.

Os efeitos dos eventos iniciais de D e I na tolerância cruzada (DI, DC, ID, IC) e os efeitos dos ciclos repetidos no evento tardio (DD e II) foram avaliados por meio de Análises de Variância – *One way*, comparando cada atributo morfológico e fisiológico entre os tratamentos hídricos do evento tardio com o evento inicial, considerando o seguinte conjunto de tratamentos: D, DC, DI e DD e I, IC, ID e II, seguida de teste Tukey. Realizamos a análise de Kruskal Wallis para os atributos (comprimento da raiz, PWC e razão folha:total) que não apresentaram distribuição normal dos dados e, para os demais parâmetros foi utilizado Análises de Variância – *One way*.

Para verificar se ocorre segregação entre os tratamentos hídricos dos eventos iniciais e tardios e avaliar os atributos morfológicos e fisiológicos foram realizadas análises de componentes principais (PCA) considerando o conjunto de atributos avaliados e separadas para os atributos morfológicos e os fisiológicos. Todas as análises foram realizadas no ambiente estatístico R (R Core Team, 2020).

3. Resultados

Após a exposição aos eventos inicial e tardio de estresse hídrico (D e I), não foi observada mortalidade das plantas. No evento inicial de déficit hídrico, a suspensão da irrigação acarretou uma redução de 37.32 % da capacidade de vaso, enquanto no evento tardio, as plantas submetidas a dois ciclos repetidos de déficit hídrico apresentaram uma redução de 42.15% da capacidade de vaso.

No evento inicial de inundação (I) e déficit hídrico (D), os atributos morfológicos que apresentaram diferenças entre os tratamentos hídricos foram para AFE ($F_{2,27}= 7.56$; $p < 0.01$) e CRA ($F_{2,27}= 25.97$; $p < 0.001$). A AFE foi maior em plantas sob D, enquanto o CRA foi menor em relação aos tratamentos I e C (Tabela 1). Os demais atributos morfológicos não diferiram entre os tratamentos (Tabela 1).

Os atributos fisiológicos que diferiram entre os tratamentos no evento inicial foram *A* ($F_{2,26}= 15.27$; $p < 0.001$), *gs* ($F_{2,26}= 11.93$; $p < 0.001$), *E* ($F_{2,26}= 16.61$; $p < 0.001$) e *A/Ci* ($F_{2,26}= 12.52$; $p < 0.001$), com as plantas sob D apresentando menores valores em relação as plantas sob I e C (Tabela 1). Os demais atributos fisiológicos não apresentaram diferença entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1: Atributos morfológicos e fisiológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos de déficit (D), controle (C) e inundação (I) durante o evento inicial. Médias seguidas pelo desvio padrão (n= 10). Letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0.05$).

Atributos	Tratamentos hídricos			<i>p</i>
	C	D	I	
H (cm)	10.74 ± 3.82 a	11.22 ± 4.22 a	9.52 ± 3.07 a	0.584
DPA (mm)	1.21 ± 0.22 a	1.13 ± 0.17 a	1.20 ± 0.14 a	0.562
CR (cm)	14.68 ± 2.11 a	13.03 ± 0.99 a	13.75 ± 1.12 a	0.062
DR (mm)	1.41 ± 0.19 a	1.37 ± 0.14 a	1.38 ± 0.24 a	0.91
AFE (cm²/g⁻¹)	84.94 ± 13.02 b	103.21 ± 20.33 a	79.23 ± 6.30 b	<0.01*
MSR (g)	0.10 ± 0.03 a	0.10 ± 0.02 a	0.10 ± 0.04 a	0.928
MSPA (g)	0.27 ± 0.05 a	0.26 ± 0.05 a	0.28 ± 0.09 a	0.831
MST (g)	0.37 ± 0.07 a	0.36 ± 0.07 a	0.37 ± 0.11 a	0.919

R: PA (g)	0.39 ± 0.10 a	0.38 ± 0.05 a	0.36 ± 0.12 a	0.806
F: T	0.51 ± 0.03 a	0.49 ± 0.04 a	0.52 ± 0.06 a	0.293
R: T	0.27 ± 0.05 a	0.28 ± 0.03 a	0.26 ± 0.06 a	0.703
CRA	69.82 ± 5.34 b	52.99 ± 7.38 a	66.34 ± 2.89 b	<0.001*
A (μmol m⁻²s⁻¹)	5.07 ± 2.29 b	1.16 ± 0.76 a	5.00 ± 1.76 b	<0.001*
gs (mmol m⁻²s⁻¹)	0.08 ± 0.03 b	0.02 ± 0.01 a	0.11 ± 0.06 b	<0.001*
Ci (μmol mol⁻¹)	330.17 ± 23.17 a	340.17 ± 51.55 a	348.52 ± 26.13 a	0.515
E (mmol m⁻²s⁻¹)	1.39 ± 0.44 b	0.44 ± 0.18 a	1.96 ± 0.85 b	<0.001*
A/Ci	0.02 ± 0.01 b	0.00 ± 0.00 a	0.02 ± 0.01 b	<0.001*
A/E	3.54 ± 0.67 a	2.46 ± 1.27 a	2.75 ± 0.90 a	0.055
A/gs	65.81 ± 13.16 a	61.44 ± 34.94 a	55.35 ± 20.66 a	0.628

Altura (H), diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro da raiz (DR), número de folhas (NF), área foliar específica (AFE), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), proporção raiz/ parte aérea (R: PA), proporção da massa seca foliar/ massa seca total (F:T), proporção da massa seca da raiz/ massa seca total (R:T), conteúdo relativo de água na planta (CRA), taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E), concentração intracelular de CO₂ (Ci), eficiência de carboxilação (A/ Ci), eficiência no uso da água (A/E) e eficiência intrínseca do uso da água (A/gs).

3.1 Respostas ao Déficit hídrico

As plantas submetidas ao evento tardio de déficit hídrico (DD) apresentaram menor diâmetro do caule ($F_{3,37} = 5.96$; $p < 0.01$) e da raiz ($F_{3,37} = 12.99$; $p < 0.001$), do CRA ($F_{3,37} = 35.05$; $p < 0.001$) e maior AFE ($F_{3,37} = 28.28$; $p < 0.001$) comparada as plantas submetidas ao evento inicial de déficit hídrico (D) (Figuras 3a, b, c e d). As plantas que foram submetidas a condições controle (DC) no evento tardio, isto é, que voltaram a receber a irrigação apresentaram redução na AFE ($F_{3,37} = 28.28$; $p < 0.01$) e aumento nos atributos fisiológicos, A ($F_{3,15} = 15.64$; $p < 0.001$), gs ($F_{3,15} = 7.65$; $p < 0.03$), E ($F_{3,15} = 6.92$; $p < 0.01$) (Figuras 3a, c e g) e A/Ci ($F_{3,15} = 14.79$; $p < 0.001$) comparadas as plantas D (Figuras 4a).

As plantas que após evento inicial de déficit hídrico foram expostas à inundação no evento tardio (DI) apresentaram aumento no CRA ($F_{3,37} = 35.05$; $p < 0.028$) (Tabela 2) e A ($F_{3,15} = 15.64$; $p < 0.049$) (Figura 3a) comparadas as plantas em D.

Os demais atributos morfológicos e fisiológicos não apresentaram diferença entre os tratamentos que foram submetidos ao déficit hídrico no evento inicial (Tabela 2 e Tabela 3).

Figura 2: Atributos morfológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos hídricos de déficit (D) no evento inicial de estresse, déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI) no evento tardio de estresse. (a) diâmetro da parte aérea (DPA), (b) diâmetro da raiz (DR), (c) conteúdo relativo de água na planta (CRA) e (d) área foliar específica (AFE). As barras em linha vertical representam o desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos.

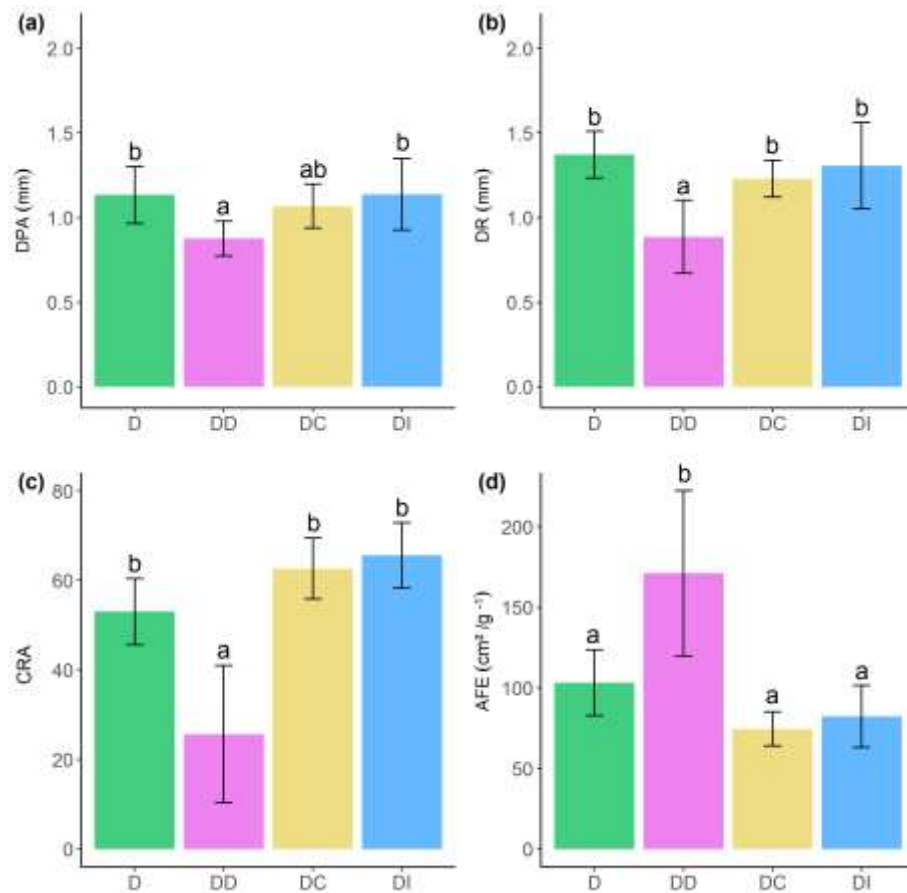
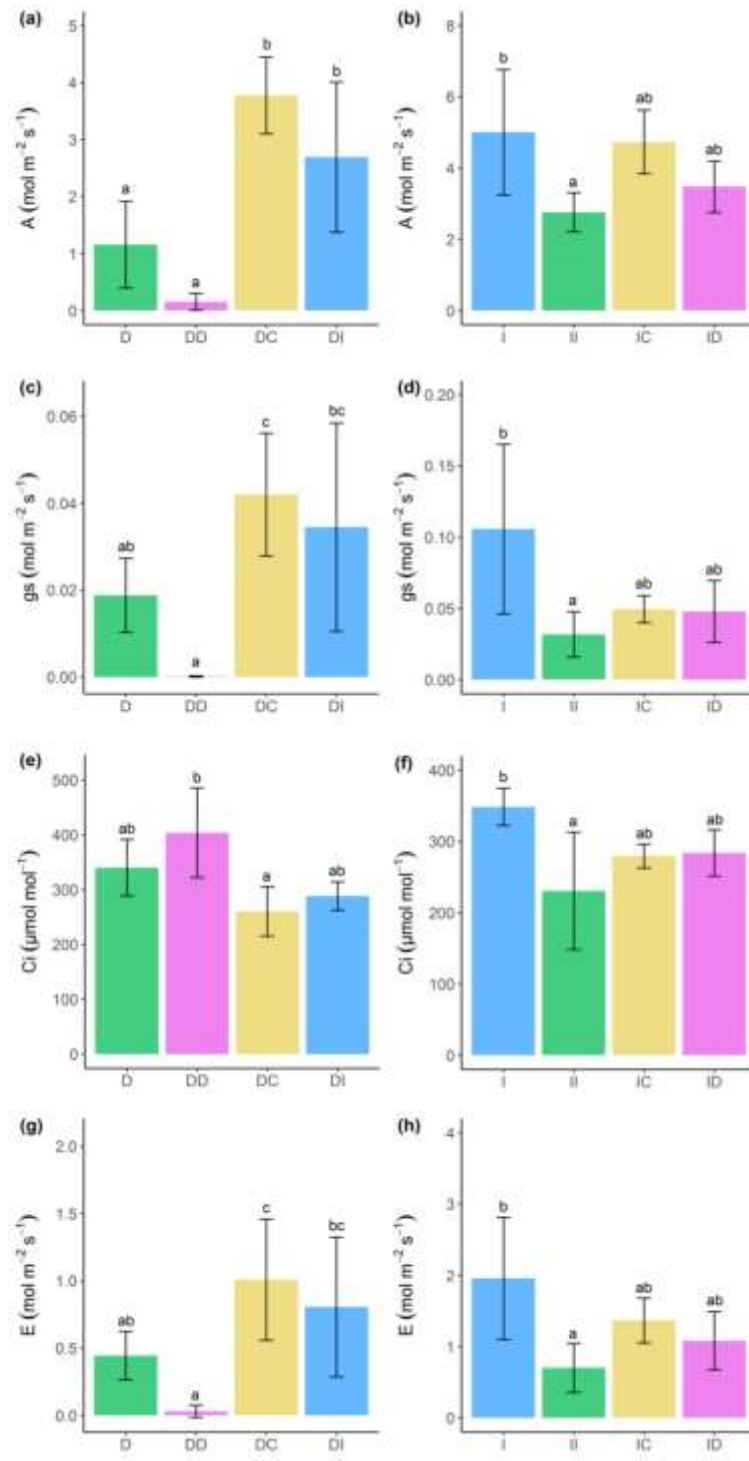
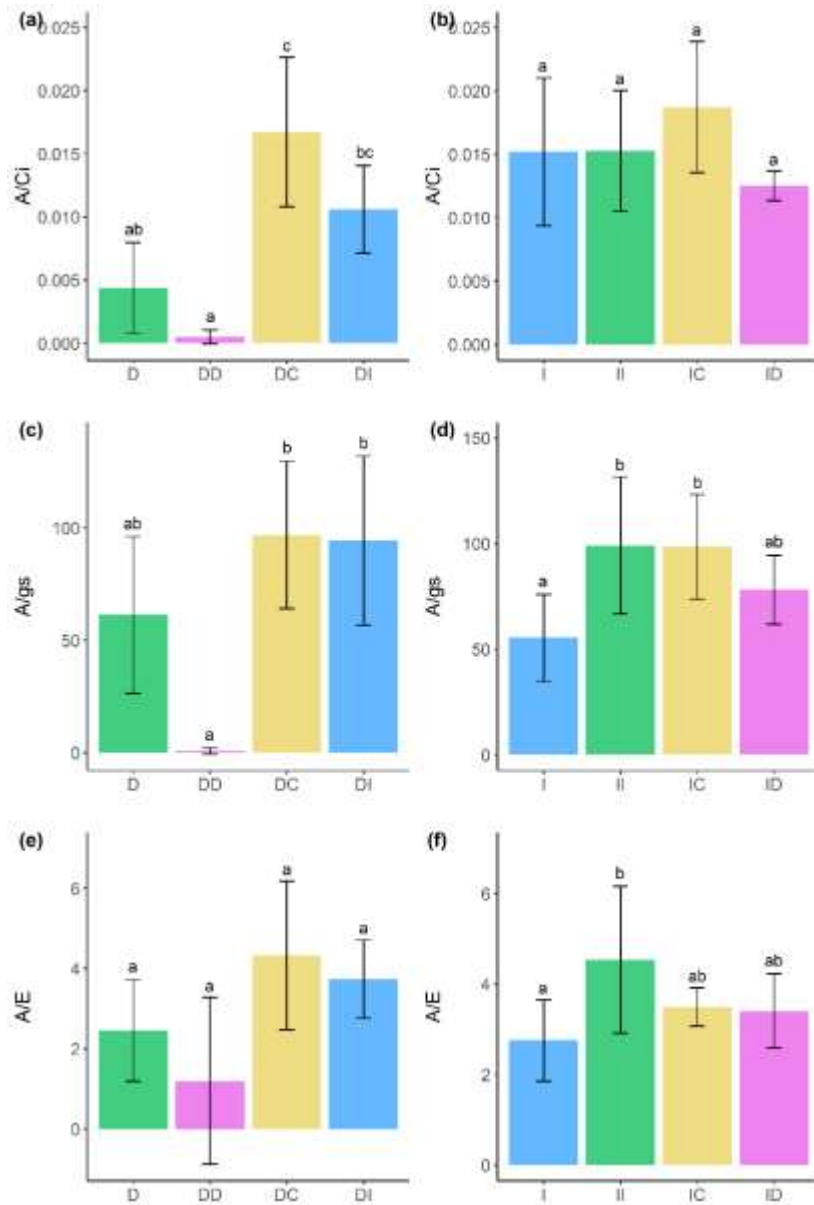


Figura 3: Atributos fisiológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos eventos iniciais de déficit hídrico (a, c, e e g) e de inundação (b, d, f e h). (a e b) Taxa fotossintética (A), (c, d) condutância estomática (gs), (e e f) concentração intracelular de CO_2 (C_i) e (g e h) taxa transpiratória (E). As barras em linha vertical representam o desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos.



Tratamentos hídricos de déficit (D) e inundação (I) no evento inicial de estresse; déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC), déficit-inundação (DI), inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID) no evento tardio de estresse.

Figura 4: Atributos fisiológicos em plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos eventos iniciais de déficit hídrico (a, c e e) e de inundação (b, d e f). (a e b) Eficiência de carboxilação (A/C_i), (c e d) eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) e (e e f) eficiência no uso da água (A/E). Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos.



Tratamentos hídricos de déficit (D) e inundação (I) no evento inicial de estresse; déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC), déficit-inundação (DI), inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID) no evento tardio de estresse. As barras em linha vertical representam o desvio padrão.

Tabela 2: Resultados da ANOVA *one-way* para plantas de *Eugenia uniflora* no evento tardio após evento inicial de déficit hídrico. Tratamentos compreendem déficit hídrico (D) no evento inicial; déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI) durante o evento tardio, ($p \leq 0.05$).

Parâmetros	<i>p value</i>		
	D x DD	D x DC	D x DI
H (cm)	0.905	0.959	0.687
DPA (mm)	<0.01*	0.794	0.999
CR (cm)	1.00	1.00	1.00
DR (mm)	<0.001*	0.349	0.858
AFE (cm²/g⁻¹)	<0.001*	<0.01*	0.087
MSR (g)	0.956	0.994	0.984
MSPA (g)	0.168	0.916	0.999
MST (g)	0.244	0.954	0.999
R:PA (g)	0.194	0.854	0.962
F:T	0.450	1.00	1.00
R:T	0.202	0.866	0.903
CRA	< 0.001*	0.143	0.028*
A (μmol m⁻²s⁻¹)	0.274	< 0.001*	0.049*
gs (mmol m⁻²s⁻¹)	0.155	0.033*	0.273
Ci (μmol mol⁻¹)	0.310	0.090	0.470

<i>E</i> (mmol m⁻²s⁻¹)	0.221	0.035*	0.323
<i>A/Ci</i>	0.067	<0.01*	0.084
<i>A/E</i>	0.597	0.205	0.589
<i>A/g_s</i>	0.057	0.304	0.448

Altura (H) diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro da raiz (DR), número de folhas (NF), área foliar específica (AFE), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), proporção raiz/ parte aérea (R: PA), proporção da massa seca foliar/ massa seca total (F:T), proporção da massa seca da raiz/ massa seca total (R:T), conteúdo relativo de água na planta (CRA), taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (gs), concentração intracelular de CO₂ (Ci), taxa transpiratória (*E*) e eficiência de carboxilação (*A/ Ci*), eficiência no uso da água (*A/E*) e eficiência intrínseca do uso da água (*A/g_s*).

Tabela 3: Atributos morfológicos e fisiológicos de plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos de déficit (D) no evento inicial; déficit-déficit (DD), déficit-controle (DC) e déficit-inundação (DI) durante o evento tardio. Valores correspondem a médias seguidas pelo desvio padrão (n= 5-10).

Atributos	Tratamentos hídricos			
	D	DD	DC	DI
H (cm)	11.22 ± 4.22	10.28 ± 1.12	10.53 ± 2.89	9.72 ± 3.31
DPA (mm)	1.13 ± 0.17	0.88 ± 0.10	1.07 ± 0.13	1.14 ± 0.21
CR (cm)	13.03 ± 0.99	13.26 ± 1.04	12.98 ± 0.47	13.39 ± 1.72
DR (mm)	1.37 ± 0.14	0.89 ± 0.22	1.23 ± 0.11	1.31 ± 0.25
NF	13.70 ± 3.20	9.80 ± 1.99	13.40 ± 5.60	15.45 ± 10.02
AFE (cm² /g⁻¹)	103.21 ± 20.33	171.07 ± 51.21	74.58 ± 10.51	82.27 ± 19.18
MSR (g)	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.09 ± 0.03
MSPA (g)	0.26 ± 0.05	0.19 ± 0.06	0.24 ± 0.07	0.28 ± 0.12
MST (g)	0.36 ± 0.07	0.29 ± 0.08	0.34 ± 0.10	0.37 ± 0.14
R:PA (g)	0.38 ± 0.05	0.50 ± 0.10	0.43 ± 0.09	0.39 ± 0.22

F:T	0.49 ± 0.04	0.44 ± 0.07	0.48 ± 0.05	0.48 ± 0.14
R:T	0.28 ± 0.03	0.33 ± 0.05	0.30 ± 0.05	0.27 ± 0.09
CRA	52.99 ± 7.38	25.62 ± 15.34	62.61 ± 6.81	65.54 ± 7.30
A (μmol m⁻²s⁻¹)	1.16 ± 0.76	0.15 ± 0.15	3.77 ± 0.67	2.69 ± 1.32
gs (mmol m⁻²s⁻¹)	0.02 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.02
Ci (μmol mol⁻¹)	340.17 ± 51.55	403.80 ± 81.83	260.25 ± 45.14	288.17 ± 25.89
E (mmol m⁻²s⁻¹)	0.44 ± 0.18	0.03 ± 0.04	1.01 ± 0.45	0.81 ± 0.52
A/Ci	0.00 ± 0.00	0.001 ± 0.001	0.01 ± 0.003	0.01 ± 0.003
A/E	2.46 ± 1.27	1.20 ± 2.08	4.33 ± 1.85	3.74 ± 0.97
A/gs	61.44 ± 34.94	0.77 ± 1.34	96.86 ± 32.68	94.41 ± 37.57

Altura (H) diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro da raiz (DR), número de folhas (NF), área foliar específica (AFE), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), proporção raiz/ parte aérea (R: PA), proporção da massa seca foliar/ massa seca total (F:T), proporção da massa seca da raiz/ massa seca total (R:T), conteúdo relativo de água na planta (CRA), taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), concentração intracelular de CO₂ (Ci), taxa transpiratória (E) e eficiência de carboxilação (A/ Ci), eficiência no uso da água (A/E) e eficiência intrínseca do uso da água (A/gs).

3.2 Respostas associadas a Inundação

Os efeitos do evento inicial de inundação nas plantas submetidas aos tratamentos hídricos nos eventos tardios (IC, ID e II) foram observados apenas nos atributos fisiológicos (Tabela 4). As plantas submetidas ao ciclo repetido de inundação (II) apresentaram redução em *A* ($F_{3,19} = 3.85$; $p < 0.026$), *gs* ($F_{3,19} = 5.47$; $p < 0.01$), *Ci* ($F_{3,19} = 8.55$; $p < 0.001$), *E* ($F_{3,19} = 5.82$; $p < 0.01$) e aumento em *A/gs* ($F_{3,19} = 5.31$; $p = 0.015$) e *A/E* ($F_{3,19} = 3.33$; $p = 0.029$) (Figuras 3b, d, f, h e 4d e f). A redução em *A/gs* também foi observada entre as plantas em IC e ID ($F_{3,19} = 5.31$; $p = 0.029$; $F_{3,19} = 5.31$; $p = 0.389$) (Figura 4d).

Nos atributos morfológicos não foram observadas diferenças entre os tratamentos (Tabela 4 e Tabela 5).

Tabela 4: Resultados da ANOVA *one-way* para plantas de *Eugenia uniflora* no ciclo tardio após evento inicial de inundação. Tratamentos compreendem inundação (I) no evento inicial; inundação-inundação (II) inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID) durante o evento tardio ($p \leq 0.05$).

Parâmetros	<i>p value</i>		
	I x II	I x IC	I x ID
H (cm)	0.993	0.812	0.999
DPA (mm)	0.989	0.635	0.928
CR (cm)	0.945	0.877	0.993
DR (mm)	0.966	0.930	0.983
NF	0.591	0.998	0.842
AFE (cm² /g⁻¹)	0.885	0.240	0.243
MSR (g)	0.900	0.822	0.998
MSPA (g)	0.999	0.999	0.972
MST (g)	0.997	0.991	0.978
R:PA (g)	0.847	0.677	0.998
F:T	0.864	0.999	0.999
R:T	0.839	0.641	0.998
CRA	0.541	0.541	1.00
A (μmol m⁻²s⁻¹)	0.026*	0.984	0.237
gs (mmol m⁻²s⁻¹)	0.01*	0.255	0.160
Ci (μmol mol⁻¹)	< 0.01*	0.072	0.098

<i>E</i> (mmol m⁻²s⁻¹)	< 0.01*	0.752	0.225
A/Ci	0.999	0.643	0.805
A/E	0.029*	0.396	0.527
A/g_s	0.015*	0.029*	0.389

Altura (H) diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro da raiz (DR), número de folhas (NF), área foliar específica (AFE), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), proporção raiz/ parte aérea (R: PA), proporção da massa seca foliar/ massa seca total (F:T), proporção da massa seca da raiz/ massa seca total (R:T), conteúdo relativo de água na planta (PWC), taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (g_s), concentração intracelular de CO₂ (Ci), taxa transpiratória (*E*) e eficiência de carboxilação (*A*/ Ci), eficiência no uso da água (*A*/*E*) e eficiência intrínseca do uso da água (*A*/g_s).

Tabela 5: Atributos morfológicos e fisiológicos de plantas de *Eugenia uniflora* submetidas aos tratamentos de inundação (I) no evento inicial, inundação-inundação (II), inundação-controle (IC) e inundação-déficit (ID) durante o evento tardio. Valores são médias seguidas pelo desvio padrão (n=10).

Atributos	Tratamentos hídricos			
	I	II	IC	ID
H (cm)	9.52 ± 3.07	9.92 ± 3.52	10.85 ± 3.20	9.33 ± 3.61
DPA (mm)	1.20 ± 0.14	1.18 ± 0.20	1.12 ± 0.15	1.16 ± 0.11
CR (cm)	13.75 ± 1.12	13.48 ± 1.85	14.24 ± 1.19	13.61 ± 1.49
DR (mm)	1.38 ± 0.24	1.34 ± 0.29	1.32 ± 0.24	1.33 ± 0.16
NF	16.30 ± 4.27	14.00 ± 2.83	16.60 ± 4.35	14.80 ± 4.59
AFE (cm² /g⁻¹)	79.23 ± 6.30	75.90 ± 9.51	70.52 ± 11.93	70.49 ± 12.03
MSR (g)	0.10 ± 0.04	0.09 ± 0.03	0.08 ± 0.04	0.09 ± 0.03
MSPA (g)	0.28 ± 0.09	0.28 ± 0.11	0.28 ± 0.07	0.25 ± 0.06
MST (g)	0.37 ± 0.11	0.37 ± 0.13	0.36 ± 0.10	0.35 ± 0.09

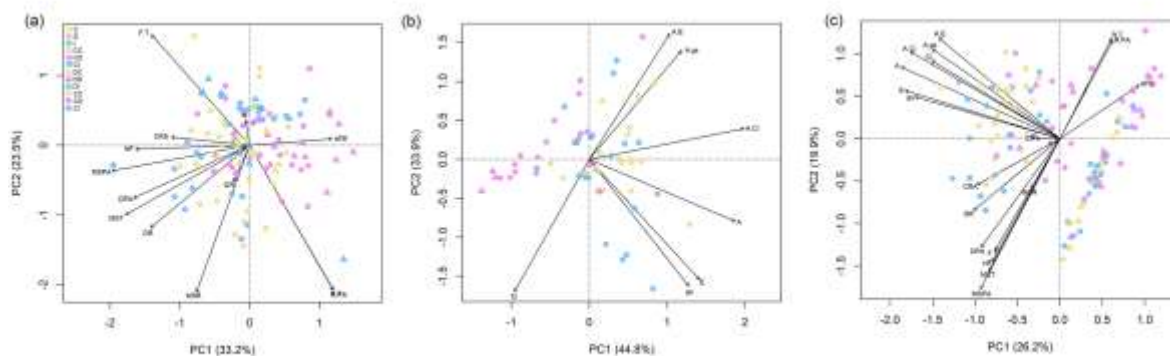
R: PA (g)	0.36 ± 0.12	0.31 ± 0.12	0.30 ± 0.12	0.37 ± 0.11
F: T	0.52 ± 0.06	0.50 ± 0.07	0.52 ± 0.05	0.52 ± 0.06
R: T	0.26 ± 0.06	0.24 ± 0.06	0.23 ± 0.08	0.26 ± 0.06
CRA	66.34 ± 2.89	61.60 ± 12.67	69.67 ± 3.93	65.98 ± 4.91
A (μmol m⁻²s⁻¹)	5.00 ± 1.76	2.76 ± 0.55	4.73 ± 0.89	3.48 ± 0.72
gs (mmol m⁻²s⁻¹)	0.11 ± 0.06	0.03 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02
Ci (μmol mol⁻¹)	348.52 ± 26.13	230.44 ± 82.48	279.57 ± 16.80	283.79 ± 32.47
E (mmol m⁻²s⁻¹)	1.96 ± 0.85	0.70 ± 0.35	1.37 ± 0.31	1.08 ± 0.41
A/Ci	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.005	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.001
A/E	2.75 ± 0.90	4.54 ± 1.62	3.49 ± 0.43	3.40 ± 0.82
A/gs	55.35 ± 20.66	99.11 ± 32.43	98.46 ± 24.78	78.14 ± 16.34

Altura (H) diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro da raiz (DR), número de folhas (NF), área foliar específica (AFE), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), proporção raiz/ parte aérea (R: PA), proporção da massa seca foliar/ massa seca total (F:T), proporção da massa seca da raiz/ massa seca total (R:T), conteúdo relativo de água na planta (PWC), taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (gs), concentração intracelular de CO₂ (Ci), taxa transpiratória (*E*) e eficiência de carboxilação (*A/ Ci*), eficiência no uso da água (*A/E*) e eficiência intrínseca do uso da água (*A/gs*).

3.3 Evento inicial e tardio

A PCA considerando tanto o conjunto de atributos morfológicos e fisiológicos como separada para cada conjunto de atributos foi capaz de segregar os tratamentos hídricos destacando a separação dos tratamentos que compreendem o déficit hídrico no evento inicial (D) ou tardio (DD). O aumento na AFE observado nas plantas que foram submetidas ao déficit hídrico (D e DD) destaca-se na PCA (Figura 5a e c). Na PCA dos atributos fisiológicos foi observado o maior valor de explicação dos eixos 1 e 2, com 78.7% (Figura 5b).

Figura 5: Análise de componentes principais para ordenação em cada conjunto de atributos morfológicos e fisiológicos para todos os tratamentos hídricos dos eventos inicial e tardio nas plantas de *Eugenia uniflora*. Atributos morfológicos (a), fisiológicos (b) e atributos morfológicos e fisiológicos (c).



4. Discussão

Neste estudo simulamos as condições hídricas que são características de florestas ribeirinhas subtropicais, manipulando em condições controladas, períodos curtos (12 dias) isolados e, posteriormente recorrentes e alternados de inundação do solo e de déficit hídrico. Nos últimos anos esses períodos de seca/alto volume de precipitação têm se tornado mais frequentes, o que pode influenciar tanto na ocorrência das espécies como em estratégias de conservação e recuperação de florestas ribeirinhas. Por este motivo nós utilizamos a espécie *Eugenia uniflora* como uma espécie arbórea chave para investigar os mecanismos de tolerância cruzada ao estresse hídrico.

4.1 Regulação estomática e aumento da área foliar específica durante primeiro evento de déficit hídrico

Plantas de pitanga expostas ao evento inicial foram tolerantes a períodos curtos (12 dias) de inundação e déficit hídrico do solo, mas o conjunto de atributos morfológicos e fisiológicos avaliados destacaram que os efeitos mais severos foram observados nas plantas sob déficit hídrico. O período de 12 dias de inundação não acarretou diferenças com relação as plantas controle. Esses resultados refutam a primeira hipótese deste estudo, visto que as

estratégias de tolerância nas plantas sob inundação não acarretam alterações nos atributos de trocas gasosas ou alocação de crescimento avaliados neste estudo.

Porém, nas plantas submetidas ao déficit hídrico observou-se que os principais efeitos foram a redução da fotossíntese associada ao fechamento estomático em resposta a menor disponibilidade de água e expressa pela redução em CRA. Com o fechamento dos estômatos observou-se também uma redução da taxa de transpiração (E), da concentração intracelular de CO_2 (C_i) e, conseqüentemente, da eficiência de carboxilação (A/C_i). As respostas observadas nas plantas de pitanga são consideradas respostas clássicas ao déficit hídrico e destacam o controle estomático também observado por Nogueira et al. (2000) em cultivares de pitanga.

A regulação estomática em plantas tolerantes a seca melhora a eficiência do uso da água, permitindo a manutenção da fixação de CO_2 durante o período de estresse hídrico (Lawlor; Cornic, 2002). Conseqüentemente, quando ocorre o fechamento estomático, a assimilação CO_2 pela planta é limitada, explicando a redução na fotossíntese (Chaves, 1991; Lawlor, 2002).

Após 12 dias de suspensão da irrigação observou-se uma redução média de apenas 31 % no CRA, evidenciando o efetivo controle estomático para evitar excessiva perda de água. A redução no CRA indica que com a suspensão da irrigação e a menor disponibilidade de água no solo, o *status* hídrico das plantas também é reduzido. Respostas relacionadas ao conteúdo relativo de água, potencial hídrico da folha, resistência estomática, taxa de transpiração e temperatura da folha são fatores importantes que influenciam o status hídrico das plantas (Farooq et al., 2009). O estresse hídrico ocasiona mudanças no potencial de água na folha e conteúdo relativo de água na planta, devido a uma sinalização entre raiz e folha, mediada pelo ácido abscísico (ABA) através do xilema para regulação estomática (Medrano et al., 2002; Zhang et al., 2006)

Além da redução nas trocas gasosas, uma resposta interessante observada neste estudo foi o aumento na AFE de plantas sob déficit hídrico. Atributos foliares como a área foliar específica e massa foliar específica fornecem importantes informações sobre tamanho e espessura das folhas. Muitos estudos têm encontrado que a espessura foliar pode ser uma importante característica na eficiência de aquisição de recursos, na retenção de água e assimilação de CO_2 (Wright et al., 2004; Bhusal et al., 2020; Aspelmeier; Leuschner, 2016). Folhas mais grossas (menor AFE) foram observadas em plântulas de *Prunus sargentii* e *Larix kaempferi* sob condições de déficit hídrico e foram consideradas características importantes para a tolerância à seca em árvores (Bhusal et al., 2020).

Todavia, semelhante aos resultados deste estudo, Aspelmeier e Leuschner (2016) também observaram uma maior AFE em diferentes genótipos sob condições de déficit hídrico. Folhas de maior tamanho (maior AFE) requerem menor investimento de carbono para manutenção, o que poderia justificar a menor alocação de carbono para folhas sob condições de déficit hídrico (Wang; Leuning, 1998; Palmroth et al., 1999). Assim, a maior AFE observada pode compensar a redução observada na taxa fotossintética. O aumento da AFE em decorrência de altas temperaturas e sob déficit hídrico também pode estar associado com uma estratégia da planta, obtendo folhas mais finas para dissipar o calor (Craufurd et al., 1999).

4.2 Tolerância cruzada

A segunda hipótese de estudo é que as experiências iniciais de estresse hídrico (D e I) irão conferir tolerância a estresses futuros, sobretudo na condição de inundação seguida pelo déficit hídrico (ID). De fato, a experiência hídrica inicial parece influenciar as respostas ao evento futuro, semelhante ao observado por Valliere et al. (2019). Nas plantas submetidas a um período anterior de inundação, a condição futura de déficit hídrico não acarreta a redução das trocas gasosas, como observado nas plantas submetidas a um evento inicial de déficit hídrico e associado com limitações estomáticas e não-estomáticas. Cabe destacar que não foram observadas diferenças nos atributos morfológicos e fisiológicos no evento inicial entre C e I. Porém, plantas em D apresentaram respostas típicas ao déficit hídrico (menor A , g_s , C_i e E).

Em um trabalho conduzido com feijão, considerada uma espécie sensível à inundação, Posso et al. (2020) observou que um período rápido de 1 dia de inundação acarreta a redução da fotossíntese e prejudica a recuperação do processo fotossintético das plantas após a drenagem de água do solo. No nosso estudo não foi observada a redução da taxa de assimilação de CO_2 após 12 dias do evento inicial de inundação, mas nós observamos que após 12 dias de drenagem de água no solo (IC e ID), a taxa de assimilação do CO_2 e de transpiração apresentaram menores valores associadas com menor abertura estomática, apesar da ausência de diferença significativa. Essa resposta indica que o evento inicial de inundação prepara para o período de menor disponibilidade de água, mas as plantas não apresentam a mesma taxa fotossintética observada nos eventos iniciais de C e I. É importante destacar que os eventos tardios de controle e déficit hídrico (IC e ID, respectivamente) parecem se

assemelhar nas condições experimentadas pelas plantas, visto que envolvem a drenagem do excesso de água e reoxigenação do solo.

As respostas das plantas ao evento pós-inundação, como oxigenação e secagem do solo podem desempenhar um papel importante para determinar quais espécies são mais competitivas em ambientes sazonalmente alagados (Crawford; Braendle, 1996). A única diferença durante o período pos-inundação foi uma maior eficiência intrínseca no uso da água expressa pelo atributo A/gs , nas plantas em IC.

Nas plantas submetidas ao déficit hídrico no evento inicial que foi marcado por um efetivo controle estomático reduzindo as trocas gasosas, no evento tardio com o restabelecimento da irrigação (DC e DI) observou-se o aumento das trocas gasosas (A e E) associados com o aumento da condutância estomática (gs). Nossos resultados indicam que as limitações estomáticas e não-estomáticas responsáveis pela redução em A no evento inicial, destacados pela redução em gs e A/Ci respectivamente, não foram críticas para a capacidade de recuperação da fotossíntese com o restabelecimento da irrigação. Adicionalmente, os valores observados em DC e DI são semelhantes as plantas em C e I do evento inicial, o que sugere a recuperação das trocas gasosas.

Um resultado interessante observado tanto nas plantas DI como nas plantas em DC foi a acentuada redução na AFE, com valores semelhantes aos demais tratamentos (C e I). A diminuição da AFE está relacionada a saída do déficit hídrico, para os tratamentos DC e DI. Estes novos estados hídricos da planta, fazem com que ela não precise investir em área foliar para dissipar calor, mas sim, investir em folhas mais grossas, que envolvem um maior custo e alocação de carbono para parte aérea (Liu; Stützel, 2004).

Os resultados observados nos tratamentos de ciclos alternados indicam a tolerância cruzada ao estresse hídrico. Em condições naturais de florestas ribeirinhas subtropicais, as características do clima subtropical são marcadas pela presença de chuvas bem distribuídas ao longo de todo ano. Dessa forma nós acreditamos que os tratamentos ID, IC, DI e DC se assemelham as condições que as plantas são frequentemente expostas. A análise do conjunto de atributos fisiológicos avaliados neste estudo permite afirmar que *E. uniflora* rapidamente recupera a taxa de assimilação de carbono após um período de restrição hídrica e, adicionalmente, quando períodos secos ocorrem após um período de chuvas mais intensas, a fotossíntese não é reduzida.

4.3 Ciclos repetidos e estratégias diferentes

Em florestas ribeirinhas as plantas são submetidas a períodos frequentes de inundação que podem variar de 5 a 15 dias em clima subtropical (Budke et al., 2008). Por este motivo nossa terceira hipótese de estudo é que ciclos repetidos de déficit hídrico serão mais severos comparados a ciclos repetidos de inundação, visto que as espécies parecem mais adaptadas a frequência de inundações do que de secas.

De fato, os dois eventos repetidos de déficit (DD) parecem mais críticos, pois além da redução acentuada nos atributos de trocas gasosas no evento inicial de D, no evento tardio também se observou novas repostas para os atributos morfológicos, com menor crescimento das plantas sob DD, indicados pelo menor diâmetro do caule e da raiz. As plantas sob déficit hídrico apresentam reduções no crescimento e fixação de carbono, alterando sua produtividade, o que pode ser crucial para sua sobrevivência (Palliotti et al., 2014). Com a exposição prolongada ao déficit hídrico observou-se redução mais acentuada no CRA e nas trocas gasosas, que pode ser responsável pelo menor crescimento, observado no diâmetro do caule e da raiz. Em espécies arbóreas, variações no diâmetro do caule são considerados importantes indicadores da capacidade de estabelecimento das plantas em condições naturais.

Adicionalmente observa-se que as plantas em DD apresentam um contínuo aumento na AFE. Essa resposta parece ser determinante para a tolerância da pitanga a períodos isolados e repetidos de déficit hídrico e foi destacada na PCA. A maior AFE já foi observada no ciclo isolado parece indicar uma importante resposta plástica da espécie, ajustando o tamanho das folhas de acordo com o investimento de carbono, sobretudo em períodos de menor capacidade de assimilação de CO₂.

Para os eventos repetidos de inundação (II) observou-se uma redução da fotossíntese associada com fechamento dos estômatos. A exposição prolongada indica que a limitação de oxigênio no solo (II) é responsável pela redução na condutividade hidráulica das raízes, reduzindo o fluxo de água da planta, limitando a fotossíntese (Pedersen et al., 2020). Todavia, apesar da redução observada nos atributos fisiológicos em II nós não observamos diferença nos atributos morfológicos avaliados neste estudo, o que indica que essa condição ambiental parece ser menos crítica que períodos recorrentes de déficit hídrico.

5. Conclusão Geral

Os resultados observados neste estudo indicam que os eventos recorrentes de estresse hídrico são as condições mais críticas, sobretudo nas respostas fisiológicas, para *Eugenia uniflora*. Estes resultados são particularmente importantes considerando o contexto de mudanças climáticas globais que envolvem períodos de restrição hídrica mais severa e de eventos frequentes de chuvas mais intensas seguidos por períodos secos de maior duração. Os eventos repetidos de déficit hídrico tendem a ser mais críticos para espécie visto que ocasionaram redução nos atributos de trocas gasosas e de crescimento das plantas.

6. Referências

- ANTON, D. B. et al. Characterization and expression analysis of P5CS (Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthase) gene in two distinct populations of the Atlantic Forest native species *Eugenia uniflora* L. **Molecular Biology Reports**, v. 46, p. 1033–1043, 2020.
- ARTUSI, A. C. et al. Respostas morfofisiológicas ao alagamento em espécies arbóreas de florestas ribeirinhas subtropicais brasileiras. **Iheringia Série Botânica**, v. 75: p. 1–7, 2020.
- ASPELMEIER, S.; LEUSCHNER, C. Genotypic variation in drought response of silver birch (*Betula pendula* Roth): leaf and root morphology and carbon partitioning. **Trees**, v. 20, p. 42–52, 2006.
- BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK L. A. C. J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 1, n. 59, p. 313-339, 2008.
- BHUSAL, N. et al. Responses to drought stress in *Prunus sargentii* and *Larix kaempferi* seedlings using morphological and physiological parameters. **Forest Ecology and Management**, v. 465, p. 1–12, 2020.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.
- BUDKE, J. C.; JARENKOW, J. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Relationships between tree component structure, topography and soils of a riverside forest, Rio Botucaraí, Southern Brazil. **Plant Ecology**, n. 189, p. 187-200, 2007.
- BUDKE, J. C.; JARENKOW, J. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Tree community features of two stands of riverine forest under different flooding regimes in Southern Brazil. **Flora**, v. 203, n. 2, p. 162-174, 2008.
- BUDKE, J. C.; JARENKOW, J. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Intermediary disturbance increases tree diversity in riverine forest of southern Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 19, n. 8, p. 2371-2387, 2010.
- CHAVES, M. M. Effects of Water Deficits on Carbon Assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, n. 234, p. 1–16, 1991.
- COUTTS, M. P., & PHILIPSON, J. J. Tolerance of tree roots to waterlogging. Ii. Adaptation of sitka spruce and lodgepole pine to waterlogged soil. **New phytologist**, v. 80, n. 1, p. 71–77, 1978.
- CRAUFURD, P. Q. Effect of Temperature and Water Deficit on Water-Use Efficiency, Carbon Isotope Discrimination, and Specific Leaf Area in Peanut. **Crop Science**, v. 39, n. 1, p. 136–142, 1999.
- CRAWFORD, R. M. M.; BRAENDLE, R. Oxygen deprivation stress in a changing environment. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 295, p. 145–159, 1996.
- DAMASCENO-JUNIOR, G. A. et al. Structure, distribution of species and inundation in a riparian forest of Rio Paraguai, Pantanal, Brazil. **Flora**, v. 200, n. 2, p. 119–135, 2005.
- DELAVATTI, H. A.; SAUSEN, T. L. Efeitos da Inundação em Espécies Arbóreas Nativa e Exótica. **Perspectiva**, v. 42, n. 157, p. 29-35, 2018.

- DÍAZ, S. AND CABIDO, M. Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. **Journal of Vegetation Science**, v. 8, p. 463-474, 1997.
- FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy Sustainable Development**, v. 29, p. 185–212, 2009.
- FERREIRA T, RASBAND WS (2012) ImageJ 1.46r user guide. U. S. National Institutes of Health, Maryland: Bethesda, 2012.
- FLETA-SORIANO, E.; MUNNÉ-BOSH, S. Stress Memory and the Inevitable Effects of Drought: A Physiological Perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 143, 2016.
- FUKAO, T.; YEUNG, E.; BAILEY-SERRES, J. The submergence tolerance regulator SUB1A mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice. **The Plant Cell**, v. 23, p. 412-427, 2011.
- GOMES, A. R. S.; KOZLOWSKI, T. T. Effects of flooding on *Eucalyptus camaldulensis* and *Eucalyptus globulus* seedlings. **Oecologia**, v. 46, n. 2, p. 139-142, 1980.
- HERRERA, A. et al. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis in trees of a tropical seasonally flooded forest. **Physiologia Plantarum**, v.134, n. 1, p. 41–48, 2008.
- HEGERL, G. C., HANLON, H., BEIERKUHNLEIN, C. Climate science: elusive extremes. **Nature Geoscience**. v. 4, p. 142–143, 2011.
- HERZOG, M. et al. Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat – a review of root and shoot physiology. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, p. 1068–1086, 2016.
- JUNK, W. J. et al. Biodiversity and its conservation in the Pantanal of Mato Grosso, Brazil. **Aquatic Sciences**, v. 28, p. 278–309, 2005.
- KOZLOWSKI, T. T. Plant Responses to Flooding of Soil. **BioScience**, v. 34, n. 3, p. 162–167, 1984.
- LANDE, R. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 22, p. 1435-1446, 2009.
- LAWLOR, D.W. Limitation to Photosynthesis in Water-stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP. **Annal of Botany**, v. 89, p. 871-875, 2002.
- LAWLOR, D.W; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant Cell Environment**., v. 25, p. 275-294, 2002.
- LIU, F.; STÜTZEL, H. Biomass Partitioning, Specific Leaf Area, and Water Use Efficiency of Vegetable Amaranth (*Amaranthus* Spp.) in Response to Drought Stress. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 15-27, 2004.
- LONGHI, R. A. **Livro das árvores: Árvores e Arvoretas do Sul**. 2.ed. Porto Alegre: L&PM, p.175, 1995.
- LUO, L. J. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 13, p. 3509-3517, 2010.

- MARCOS, F. C. C. et al. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water deficit. **Journal of Plant Physiology**, v. 223, p. 9–18, 2018.
- MEI, X. R. et al. Improving Water Use Efficiency of Wheat Crop Varieties in the North China Plain: Review and Analysis. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 12, n. 7, p. 1243-1250, 2013.
- MEDRANO, H. et al. Regulation of Photosynthesis of C3 Plants in Response to Progressive Drought: Stomatal Conductance as a Reference Parameter. **Annals of Botany**, v. 89, n. 7, p. 897–905, 2002.
- MIAO, S.; ZOU, C. B & BRESHEARS, D. D. Vegetation Responses to Extreme Hydrological Events: Sequence Matters. **The American Naturalist**, v. 173, v. 1, p. 113-118, 2009.
- MIELKE, M.S.; SCHAFFER, B. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and pigment indexes of *Eugenia uniflora* L. in response to changes in light intensity and soil flooding. **Tree Physiology**, v. 30, ed. 2, p. 45-55, 2010a.
- MIELKE, M. S.; SCHAFFER, B. Photosynthetic and growth responses of *Eugenia uniflora* L. seedlings to soil flooding and light intensity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, n. 2, p. 113-121, 2010b.
- MIELKE, M.S.; SCHAFFER, B. Effects of soil flooding and changes in light intensity on photosynthesis of *Eugenia uniflora* L. seedlings. **Acta Physiology Plant**, v. 33, 1661-1668, 2011.
- NAIMAN, R. J.; DECAMPS, H.; POLLOCK, M. The role of riparian corridors in maintaining regional biodiversity. **Ecological Applications**, v. 3, n. 2, p. 209-212, 1993.
- NOGUEIRA, R.J.M.C, et al. Comportamiento estomático y tensión de agua en el xilema de dos genotipos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) cultivados bajo estrés hídrico. **Investigación agraria: Producción y Protección Vegetal**, v. 14, n. 3, p. 213-225, 2000.
- NUNES DA CUNHA, C.; JUNK, W. J. 1999. Composição florística de capões e cordilheiras: localização das espécies lenhosas quanto ao gradiente de inundação no Pantanal de Poconé, MT – Brasil. In: EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (ed.), Anais do II Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal, Manejo e Conservação. **EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Corumbá, Brasil, pp. 17–28.
- NUNES DA CUNHA, C.; JUNK, W. J. Distribution of woody plant communities along the flood gradient in the Pantanal of Poconé, Mato Grosso, Brazil. **International Journal of Ecology and Environmental Sciences**, v., n. 2, p. 63-70, 2001.
- PALLIOTTI, A. et al. Morpho-structural and physiological response of container-grown Sangiovese and Montepulciano cvv. (*Vitis vinifera*) to re-watering after a pre-veraison limiting water deficit. **Functional Plant Biology**, v. 41, p. 634-647, 2014.
- PALMROTH, S. et al. Structural adaptation rather than water conservation was observed in Scots pine over a range of wet to dry climates. **Oecologia** v. 121, p. 302-309, 1999.
- PAROLIN, P. *Senna reticulata*, a pioneer tree from Amazonian várzea floodplains. **Botanical Review**, v. 67, n. 2, p. 239–254, 2001.
- PAROLIN, P. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. **Annals of Botany**, v. 103, n. 2, p. 359-376, 2009.

- PAROLIN, P. et al. Drought responses of flood-tolerant trees in Amazonian floodplains. **Annals of Botany**, v. 105, p. 129-139, 2010.
- PEDERSEN, O. et al. Regulation of root adaptive anatomical and morphological traits during low soil oxygen. **New Phytologist**, v. 229, n.1, p. 42–49, 2020.
- POSSO, D. A. et al. Short-term root flooding and recovery conditions—affected photosynthetic process of common bean plants. **Theor. Exp. Plant Physiology**, v. 32, p. 287-300, 2020.
- R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.
- SAMOJEDEN, C. G. et al. Light environment influences the flood tolerance in *Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S.Mill. **Acad Bras Cienc**, v. 90: p. 2945–2953, 2018.
- SILVA, A. C. et al. **Florestas inundáveis: ecologia, florística e adaptações das espécies**. Lavras: Ed. UFLA. 2012. ISBN: 978-85-8127-012-8.
- VALLADARES, F.; GIANOLI, E.; GOMEZ, J. M. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. **New Phytologist**, v. 176, p. 749-763, 2007.
- VALLIERE, J. M. et al. Can we condition native plants to increase drought tolerance and improve restoration success? **Ecological Applications**, v. 29, n. 3, p. 1-13, 2019.
- WANG, Y.P.; LEUNING, R. A. Two-leaf model for canopy conductance, photosynthesis and partitioning of available energy. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 91, p. 89–111, 1998
- WANG, S, R, M. et al. Experience of inundation or drought alters the responses of plants to subsequent water conditions. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 1, p.176-187, 2016.
- WITTMANN, F. et al. The Brazilian freshwater wetlandscape: Changes in tree community diversity and composition on climatic and geographic gradients. **Plos One**, v. 12, p. 1-18, 2017.
- WRIGHT, I. J. et al. The worldwide leaf economics spectrum. **Nature**, v. 428, p. 821–827, 2004.
- ZHANG, J. et al. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. **Field Crops Research**, v. 97, p.111-119, 2006.

7. Agradecimentos

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de mestrado e a FAPERGS (Fundação de Amparo à pesquisa no estado do Rio Grande do Sul) pela concessão das bolsas de iniciação científica.

8. Considerações Finais

As mudanças climáticas são responsáveis por grandes impactos na natureza, como a perda de biodiversidade em habitats naturais e manejados. Desta forma, é primordial a realização de estudos ecofisiológicos para avaliar quais espécies podem ser indicadas para recuperação de áreas, considerando tanto o aspecto de estrutura e funcionamento da comunidade florestal como as condições ambientais.

As florestas ribeirinhas, enfrentam não só o impacto das mudanças climáticas, mas também das ações antrópicas, o que torna nosso estudo particularmente importante, sobretudo para recomendação de espécies em projetos de restauração, com base na compreensão das respostas ecofisiológicas a uma combinação de diferentes condições hídricas.

Dessa forma, este estudo indica a utilização de *E. uniflora* em locais com sazonalidade hídrica marcada. Porém, o conjunto de atributos morfológicos e fisiológicos avaliados indica em condições de restrição hídrica mais longa, a redução da fotossíntese e do crescimento podem ser limitantes para o sucesso no estabelecimento de plantas jovens. Adicionalmente, os resultados evidenciaram que a experiência hídrica inicial prepara as plantas para um evento futuro, indicando a tolerância cruzada ao estresse hídrico.