

BRUNO LUAN ROSA

**ALTERAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS E METABÓLICAS EM RESPOSTA A
VARIÇÃO SAZONAL E MANIPULAÇÃO FONTE-DRENO EM *Acrocomia
aculeata* (JACQUIN) LODDIES EX MARTIUS (ARECACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

FLORESTAL
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Florestal**

T

633.851
2018
Rosa, Bruno Luan, 1988-
Alterações fotossintéticas e metabólicas em resposta a
variação sazonal e manipulação fonte-dreno em *Acrocomia
aculeata* (Jacquin) Loddies ex Martius (Arecaceae) / Bruno Luan
Rosa. – Florestal, MG, 2018.
ix, 42f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eduardo Gusmão Pereira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia (34 - 42f).

1. Macaúba. 2. *Acrocomia aculeata*. 3. Carboidratos. 4.
Fotoinibição. 5. Déficit hídrico. 6. Fisiologia e bioquímica de
plantas. I. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências
Agrárias e Tecnológicas. Mestrado em Manejo e Conservação de
Ecossistemas Naturais e Agrários. II. Título.


R788a

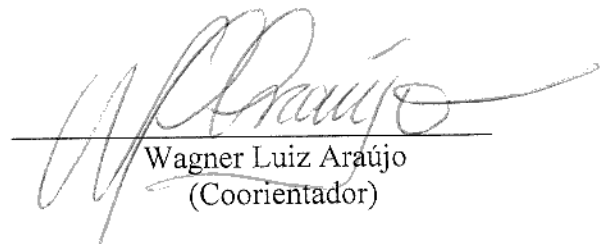
BRUNO LUAN ROSA

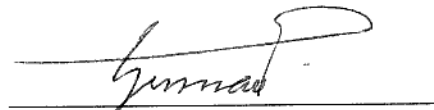
**ALTERAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS E METABÓLICAS EM RESPOSTA A
VARIAÇÃO SAZONAL E MANIPULAÇÃO FONTE-DRENO EM *Acrocomia
aculeata* (JACQUIN) LODDIES EX MARTIUS (ARECACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2018.


Kaci da Naomi Kuki


Wagner Luiz Araújo
(Coorientador)


Eduardo Gusmão Pereira
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me dar força e sabedoria a cada dia para ir à luta;

À minha mãe Marlene Rosa, mulher forte e guerreira que apesar de todos os problemas na vida sempre manteve a fé e soube firmemente educar os filhos;

Ao meu pai Renato Rosa, que com sua honestidade e humildade é um grande exemplo de homem do campo, seu amor e cuidado pelas plantas sempre será um grande exemplo para minha vida;

Aos meus irmãos, sobrinhos, tios, primos e a minha avó, sou muito grato a Deus por fazer parte desta família;

À minha namorada Tatiana Gonzaga Homem, obrigado por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, por me dar forças, pelos conselhos, obrigado por me fazer tão feliz;

Aos meus grandes amigos da UFV campus Florestal e da cidade de Florestal: Anna Elisa, Rose, Samuel, Talles, Camilla, Raiza, Fernando, Klever, Renata, Elisangela (*in memoriam*), Mairla, Nayara, Tiago, Natália, Alan, Bruno Fagundes, Adivânio, Gustavo, Ricardo, Rui, obrigado por toda ajuda e por tantos momentos de alegria, cresci muito na companhia de vocês;

Ao Prof. Eduardo Gusmão Pereira, grande orientador, conselheiro e amigo, obrigado pelo seu exemplo de dedicação e competência, por ter acreditado no meu trabalho e por tantos ensinamentos;

Ao Prof. Wagner Luiz Araújo e ao pessoal da Unidade de Crescimento de Plantas em Viçosa, especialmente a Kelly Detmann, obrigado pela orientação e auxílio nas análises metabólicas;

À Dr. Kacilda Naomi Kuki, pela sua simpatia e por seus valiosos conselhos;

À Universidade Federal de Viçosa, professores do programa de mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, técnicos e demais servidores, obrigada pelos ensinamentos e por tornarem este trabalho possível;

Ao povo brasileiro por financiarem a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

BRUNO LUAN ROSA, filho de Renato Rosa e Marlene Rosa, nasceu em Santa Luzia, MG, no dia 17 de fevereiro de 1988. Em março de 2011, iniciou o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa Campus Florestal, em Florestal, MG, graduando-se em janeiro de 2016. Em março deste mesmo ano, ingressou no programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, pela mesma Instituição.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	3
2.1 Aplicação dos tratamentos e coleta de dados.....	3
2.2 Análises fisiológicas.....	5
2.2.1 Status hídrico do solo e da planta.....	5
2.2.2 Avaliação das trocas gasosas e fluorescências da clorofila <i>a</i>.....	6
2.3 Análises fenológicas.....	7
2.4 Análises metabólicas.....	7
2.4.1 Determinação dos pigmentos fotossintéticos.....	7
2.4.2 Determinação de prolina e peróxido de hidrogênio.....	8
2.4.3 Determinação do sistema antioxidante enzimático.....	9
2.4.4 Determinação de carboidratos, malato, proteínas e aminoácidos.....	10
2.5 Análises estatísticas.....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
3.1 Efeito da remoção total de cachos e da sazonalidade sob a produção de carboidratos, proteínas, aminoácidos e malato.....	12
3.2 Efeito da remoção total de cachos e da sazonalidade sob a eficiência de dissipação energética do FSII.....	20
3.3 Efeito da remoção total de cachos e da sazonalidade sob as trocas gasosas e concentração de pigmentos.....	24
3.4 Impactos da redução da força dreno e da sazonalidade sob as relações hídricas da macaúba.....	28
3.5 Impacto da redução da força dreno e da sazonalidade sob a formação de espécies reativas de oxigênio e atividade antioxidante em folíolos de macaúba.....	30
3.6 A remoção dos cachos em macaúba pode possibilitar incrementos no número de folhas e cachos para safra seguinte.....	31
4. CONCLUSÃO.....	34
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- A = taxa de assimilação líquida de CO_2
- Clorofila a/b = Razão clorofila a/b
- C_i = concentração intercelular de CO_2
- CNE = carboidratos não estruturais
- E = taxa de transpiração
- EROs = espécies reativas de oxigênio
- A/E = Eficiência instantânea do uso da água
- ETR = taxa de transporte de elétrons
- F_0 = fluorescência inicial
- F_v/F_m = eficiência quântica máxima do FSII
- FSII = fotossistema dois
- FSI = fotossistema um
- g_s = condutância estomática
- TRA = teor relativo de água
- PCM = plantas com cachos mantidos
- PCR = plantas com cachos removidos
- TUS = teor de umidade do solo
- ϕ_{II} = rendimento quântico efetivo do FSII
- ϕ_{NPQ} = rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII
- ϕ_{NO} = rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII
- Ψ_w = potencial hídrico foliar

RESUMO

ROSA, Bruno Luan, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Alterações fotossintéticas e metabólicas em resposta a variação sazonal e manipulação fonte-dreno em *Acrocomia aculeata* (Jacquin) Loddies ex Martius (Arecaceae)**. Orientador: Eduardo Gusmão Pereira. Coorientador: Wagner Luiz Araújo.

A *Acrocomia aculeata* é uma palmeira oleaginosa que possui ampla distribuição geográfica na América latina, exibindo considerável produtividade mesmo em ambientes secos e com alta intensidade luminosa. Entretanto, pouco se sabe acerca das respostas fotossintéticas desta espécie em função do aumento da relação fonte-dreno e interação deste fator com estresses sazonais como a seca. O presente trabalho buscou caracterizar alterações fisiológicas e bioquímicas envolvidas na regulação da fotossíntese de plantas de macaúba com demanda reduzida de drenos em diferentes estações sazonais. O estudo foi conduzido com uma população natural de macaúba presente na região de Florestal, MG. Foram realizadas duas retiradas de todos os cachos emitidos pelas plantas, sendo a primeira em março de 2016 e a segunda entre os meses de outubro a dezembro de 2016. As análises de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, fenologia e análises metabólicas nos folíolos concentraram-se, principalmente, na estação seca (agosto de 2016) e chuvosa (fevereiro de 2017). Durante a estação chuvosa também foi realizada a quantificação dos carboidratos, proteínas e aminoácidos contidos nos tecidos do pecíolo, estipe e raiz. A remoção total dos cachos não resultou em diferenças nas trocas gasosas da macaúba. Plantas com cachos removidos apresentaram menor eficiência quântica efetiva do fotossistema II e aumento da dissipação de energia não fotoquímica de forma regulada durante a estação chuvosa. As alterações no processo de dissipação de energia corroboram com os resultados de acúmulo de carboidratos, uma vez que a concentração de amido nos folíolos aumentou significativamente com a remoção total dos cachos. O estipe da macaúba pode servir como dreno transitório de carboidratos, sendo detectado, na estação chuvosa, aumento das concentrações de amido no estipe de plantas com remoção total de cachos. Observou-se que a remoção total dos cachos pode aumentar o número de folhas, assim como o número de cachos emitidos para safra seguinte. A macaúba é capaz de modular, principalmente, mecanismos de dissipação energética em resposta a diminuição da força de drenos de carboidratos. Porém, sem apresentar redução na fixação de carbono em virtude da remoção do dreno ou dos efeitos sazonais, apesar da menor condutância estomática no período seco. Estes resultados sugerem que,

a maquinaria fotossintética, assim como o crescimento vegetativo e reprodutivo da macaúba, são regulados tanto pela seca sazonal quanto pelo metabolismo de carboidratos. No Entanto, a eficiência na utilização de energia luminosa, associada ao eficiente controle estomático e manutenção do metabolismo, reduzem as possibilidades de danos fotoinibitórios.

ABSTRACT

ROSA, Bruno Luan, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Photosynthetic and metabolic changes in response to seasonal variation and source-sink manipulation in *Acrocomia aculeata* (Jacquin) Loddies ex Martius (Arecaceae).** Adviser: Eduardo Gusmão Pereira. Co-Adviser: Wagner Luiz Araújo.

The *Acrocomia aculeata* is an oleaginous species that has a wide geographical distribution in Latin America, exhibiting considerable productivity even in dry environments with high irradiance. However, little is known about the photosynthetic responses of this species in response to the increase of the source-sink relationship and interaction of this factor with seasonal stresses such as drought. The present work aimed to characterize the physiological and biochemical changes involved in the regulation of photosynthesis of macaw palm trees with reduced sink demand in different seasonal seasons. The study was conducted with a natural macaw palm population present in the Florestal region, MG. Two removals were made of all the curls emitted by the trees, the first being in March 2016 and the second between October and December 2016. The analysis of gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, phenology and metabolic analyzes in leaflets were mainly concentrated in the dry season (August 2016) and rainy season (February 2017). During the rainy season also the quantification of the carbohydrates, proteins and amino acids contained in the tissues of the petiole, stipe and root was carried out. Total removal of the bunches did not result in differences in the gas exchange of macaw palm. Plants with removed bunches showed lower quantum efficiency of photosynthetic II and increased non - photochemical energy dissipation in a regulated way during the rainy season. The changes in the energy dissipation process corroborate with the results of carbohydrate accumulation, since the concentration of starch in the leaflets increased significantly with the total removal of the clusters. Macaw palm stipe may serve as transitional carbohydrate drainage, and in the rainy season an increase in starch concentrations was detected in the plant stipe with total removal of clusters. It was observed that the total removal of the bunches can increase the number of leaves, as well as the number of bunches emitted for the next harvest. The macaw palm is able to modulate, mainly, mechanisms of energy dissipation in response to the decrease of the force of drains of carbohydrates. However, there was no reduction in carbon fixation due to drainage removal or seasonal effects, despite the lower stomatal conductance in the dry period. These results suggest that the photosynthetic machinery, as well as the vegetative and reproductive growth of macaw palm, is

regulated by both seasonal drought and carbohydrate metabolism. However, efficiency in the use of light energy, coupled with efficient stomatal control and maintenance of metabolism, reduce the possibility of photoinhibitory damage.

1. INTRODUÇÃO

A palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacquin) Loddies ex Martius) se destaca pela capacidade de produção de óleo vegetal, a qual é equiparável a da palma africana, *Elaeis guineenses* (Motoike e Kuki, 2009). O número de estudos visando possibilitar a exploração racional do cultivo da macaúba tem crescido especialmente em Minas Gerais, onde as pesquisas foram impulsionadas pela criação da lei nº 19.485/2011 – Pró-Macaúba. Esta lei instituiu no Estado o incentivo ao cultivo, extração, comercialização e consumo dos produtos vegetais não apenas da macaúba, mas também das demais palmeiras oleaginosas.

A produção estimada da macaúba é de 16000-25000 kg de frutos por hectare, e deste total podem ser extraídos cerca de 6200 kg ha⁻¹ de óleo, 11500 kg ha⁻¹ de tortas e 3000 kg ha⁻¹ de carvão (Wandeck e Justo, 1982). Entretanto, Berton et al. (2013) relatam que o potencial de produção desta espécie pode chegar a 13000 kg ha⁻¹ de óleo vegetal. Sendo que os óleos oriundos desta espécie são, em sua maioria, multiuso e rentáveis, possuindo qualidades para atender a uma diversidade de setores como fármaco, cosmético, alimentício e energético (Pires et al., 2013; Berton et al., 2013; Ciconini et al., 2013; Motoike e Kuki, 2009; Bora e Rocha, 2004). Devido ao potencial uso da macaúba diversos estudos estão sendo realizados para possibilitar a domesticação da espécie (de Lanes et al., 2014; Falasca et al., 2017; Motoike et al., 2007; Pires et al., 2013).

O déficit hídrico pode resultar no abortamento excessivo de frutos, inclusive em palmáceas, sendo esta resposta observada, por exemplo, em plantas de dendê (Cros et al., 2013). Da mesma forma, a frutificação da macaúba também pode vir a ser reduzida por eventos de seca. Reduções significativas no número de cachos e frutos em macaúba podem ser observadas após períodos de intenso déficit hídrico, sendo esta característica também observada durante as primeiras frutificações da espécie (dados não publicados). No entanto, ainda não se sabe quais são as respostas desta espécie frente à demanda reduzida de órgãos drenos, e como este fator pode interagir com a sazonalidade. O entendimento desta interação pode ajudar a compreender o comportamento produtivo da macaúba, uma vez que tanto em cultivos racionais quanto no seu ambiente natural, a produção de frutos desta espécie pode vir a ser afetada por estresses abióticos ou bióticos (Bicalho et al., 2016; Eiserhardt et al., 2011; Lorenzi, 2010). A verificação do

comportamento desta espécie sob demanda reduzida de drenos pode ajudar a compreender processos como a retroinibição fotossintética por acúmulo de carboidratos e fotoinibição, ambos importantes para o estabelecimento da planta no campo (Demmig-Adams et al., 2017)

A retroinibição fotossintética pode estar associada a características intrínsecas à espécie, como a baixa produtividade, ou pode ser gerada por estresses sazonais, os quais também resultam em alterações no crescimento e produtividade (Demmig-Adams et al., 2006). Segundo Mondal et al. (1978), a remoção de drenos reprodutivos é uma forma clássica de manipular a relação fonte-dreno. Esta remoção pode fazer com que a planta reduza a atividade fotossintética através do feedback gerado pelo acúmulo de açúcares na fonte, o que também pode levar a mesma a apresentar processos fotoinibitórios (Li et al., 2007; Mialet-Serra et al., 2008). A fotoinibição é um processo que ocorre em plantas expostas à luminosidade excessiva, ou seja, quando a quantidade de energia que chega aos cloroplastos é maior que a utilizada para fixação de carbono, sendo também observada em plantas cuja produção de açúcares nos folíolos excede a capacidade de consumo e estoque pelos órgãos drenos (Adams et al., 2013). Este processo está relacionado a reduções na eficiência de conversão de energia luminosa através do FSII, diminuição da síntese de NADPH e ATP e aumento da dissipação de energia na forma não fotoquímica (Adams et al., 2013).

Órgãos fontes e drenos vegetais possuem sensibilidade diferenciada aos fatores ambientais (Fatichi et al., 2014). Por exemplo, luz e CO₂ tem efeito direto sobre a atividade de folhas fisiologicamente maduras (fonte), e efeito indireto sobre a atividade dos drenos, enquanto temperatura, nutrientes e água interferem diretamente na atividade dos drenos. Desta forma, com a ocorrência de déficit hídrico sazonal, a expansão dos drenos é afetada mais precocemente do que a fotossíntese, levando a planta a reduzir o crescimento e acumular carboidratos não estruturais (CNE) (Körner, 2003). Em seu ambiente natural, a macaúba é constantemente exposta ao déficit hídrico sazonal, o qual pode resultar na diminuição do turgor celular, diminuição do transporte de CNE, limitação da expansão da parede celular e síntese proteica (Sala et al., 2011; Woodruff e Meinzer, 2011). O déficit hídrico é um dos principais fatores estressantes que afetam a produtividade vegetal (Cornic, 2000; Demmig-Adams et al., 2017), o qual ocorre sazonalmente nas áreas de maior ocorrência de populações de macaúba. A sazonalidade obriga as plantas a modularem seu metabolismo de acordo com a disponibilidade hídrica (Fatichi et al., 2014). O estresse hídrico reduz o rendimento fotossintético, seja

pelo aumento da resistência estomática (Flexas et al., 2006), ou pela ocorrência de danos metabólicos (Lawlor e Cornic, 2002). Trabalhos anteriores relatam que o estresse hídrico pode conduzir a significativas reduções no rendimento fotossintético de diferentes espécies de palmeiras (Suresh et al., 2010; Gomes et al., 2008; Oliveira et al., 2002). Sendo assim, a interação do déficit hídrico com a remoção total dos cachos pode resultar em danos ainda maiores aos centros de reação do FSII (Adams et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi investigar, em condições de campo, como a alterações na relação fonte-dreno causada pela remoção de cachos e espádices interagem com a sazonalidade, e como esta interação pode modular as respostas fotossintéticas e metabólicas da macaúba no período de frutificação. Para Tanto, as seguintes hipóteses foram elaboradas: (1) A remoção total dos cachos em macaúba, aliada aos efeitos do déficit hídrico sazonal, acarretam reduções significativas na capacidade fotossintética da espécie; (2) a redução dos drenos reprodutivos somada ao déficit hídrico sazonal resulta no aumento de processos fotoinibitórios; (3) a macaúba apresenta acúmulo de carboidratos não estruturais (CNE) de forma transitória em outros tecidos, o que reduz o desbalanço causado pela remoção total dos cachos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa - *Campus Florestal* (UFV-CAF), situada no município de Florestal, região metropolitana de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais. O clima é classificado como tropical com estação seca (Köppen Geiger Aw), com precipitação média anual de 1500 mm, sendo duas estações ao ano bem definidas, verão (chuvoso) e inverno (seco). A temperatura varia entre 15°C a 30°C (CLIMA TEMPO, 2016).

2.1 Aplicação dos tratamentos e coleta de dados

O experimento foi realizado numa população natural de macaúba ocorrente em área de pastagem (latitude 19° 52' 32.16" S e longitude 44° 24' 47.52" W) com altitude em torno de 870 m do nível do mar. Ao todo, 10 plantas adultas de macaúba com cerca de 5 m de altura e em plena produção foram selecionadas para coleta de dados. Para reduzir a influência ambiental e temporal nas avaliações, foram selecionadas plantas próximas entre si, com características produtivas homogêneas, facilitando assim a análise em blocos ao acaso. Vale ressaltar que, devido à grande variabilidade genética, as plantas utilizadas neste experimento passaram por uma pré-seleção, sendo as suas

características fenológicas monitoradas anteriormente. Desta forma, só as que apresentavam características homogêneas em termos de número de frutificações, produtividade, tamanho e lançamento de folhas foram utilizadas neste trabalho. Das dez plantas, cinco foram mantidas intactas como tratamento controle (plantas com cachos mantidos - PCM), ao passo que as cinco restantes foram submetidas ao tratamento de remoção total de cachos (plantas com cachos removidos - PCR). Em março de 2016, cachos contendo frutos no estágio de rápido e intenso crescimento foram removidos (Montoya et al., 2016), já durante os meses de outubro a dezembro do mesmo ano, foi realizada a retirada de todas as espádices antes da ocorrência da antese.

Para coleta de dados de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foi padronizado o horário de 8:00 as 10:00 da manhã, período diário de maior atividade fotossintética segundo Pires et al. (2013). Para tal fim, foram utilizados folíolos da parte média da terceira folha completamente expandida acima do local de inserção do cacho aparentemente mais produtivo. As coletas de material para análises metabólicas foram realizadas em folíolos da mesma região onde foram realizadas as análises fisiológicas, porém no horário de 12:00 as 13:00. As análises fisiológicas e coletas de material vegetal nos folíolos foram realizadas na estação seca (agosto de 2016) e chuvosa (fevereiro de 2017). Entretanto, a coleta de tecido do pecíolo, estipe e raiz foi realizada apenas no período chuvoso, entre as 12 e 14 horas, ao final do experimento, para verificar a possibilidade de criação de reservas transitórias. A coleta no estipe foi realizada a 1,5 m acima do solo, a cerca de 10 cm de profundidade no estipe, sendo o tecido externo mais lignificado descartado, e o mais interno contendo maior quantidade de tecido parenquimático utilizado nas análises. A coleta de tecido do pecíolo foi realizada na mesma folha das análises fisiológicas, já o tecido radicular foi coletado de 20 a 40 cm de profundidade em três pontos na projeção da copa da palmeira. Após a coleta, todo o material foi imediatamente armazenado em nitrogênio líquido a - 80 °C.

A radiação fotossinteticamente ativa (RFA), determinada ao meio dia com o céu sem nuvens através do radiômetro modelo HD 2102.2 (Delta OHM, Brasil), variou entre 1623 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no mês de agosto de 2016 (estação seca) a 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no mês de fevereiro de 2017 (estação chuvosa). A precipitação total em 2016, segundo a estação do INMET instalada no campus da UFV-Florestal, foi 1633 mm. Já para o ano de 2017, no período de janeiro a julho, a precipitação total foi de 550 mm. A temperatura média da região onde o experimento foi instalado girou em torno dos 21

°C. A precipitação na estação seca atingiu valores abaixo de 2 mm mensais para os meses de julho e agosto de 2016 (Figura 1).

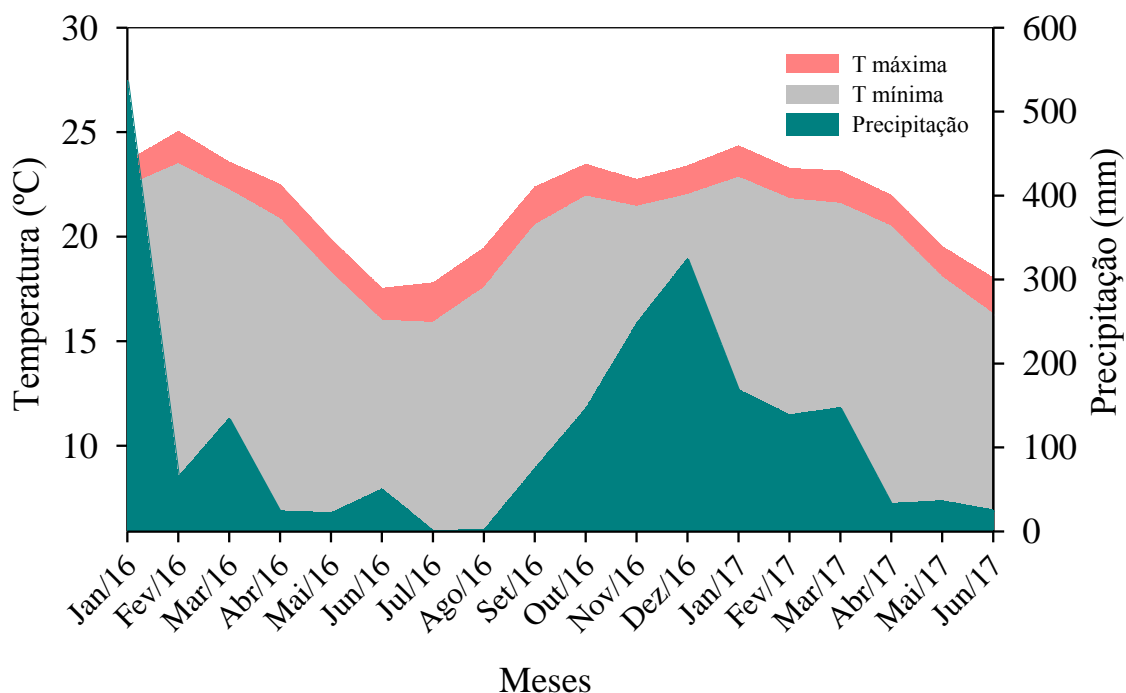


Figura 1: Climatograma com médias mensais da precipitação, temperatura máxima (T máxima) e temperatura mínima (T mínima) do período de estudo. Os dados foram fornecidos pela estação do INMET A535 localizada no campus da UFV Florestal-MG.

2.2 Análises fisiológicas

2.2.1 Status hídrico do solo e da planta

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi avaliado com auxílio de uma câmara de pressão portátil digital, modelo SKPM 1400/80 (Skye Instruments Ltd, UK). A determinação do Ψ_w foliar foi feita na antemãhã (5:00 am) utilizando folíolos opostos aos das medições de trocas gasosas na terceira folha acima da inserção do cacho, na parte média da folha. Os folíolos foram seccionados na base e a nervura central foi exposta com auxílio de lâmina afiada, sendo a folha enrolada e inserida no suporte de borracha na câmara de pressão.

O teor relativo de água (TRA) foi mensurado em folíolos opostos aos utilizados nas análises fisiológicas. Para o cálculo do TRA foi utilizada 2,25 cm² de área foliar, a determinação da massa túrgida foi realizada após um período de 24 h em água deionizada a 15°C, e a massa seca calculada após secagem em estufa de circulação forçada a 65°C por 48 h. O TRA foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\text{TRA} = (\text{massa fresca} - \text{massa seca}) / (\text{massa túrgida} - \text{massa seca})$$

A umidade atual do solo foi obtida a partir de amostras de solo retiradas a 20 cm de profundidade. A secagem foi realizada em estufa de circulação forçada a 105 °C por 24 horas e os cálculos realizados segundo manual EMBRAPA (1979) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Umidade} = 100 (a - b) / b$$

Onde:

a = massa amostra úmida (g)

b = massa amostra seca (g)

2.2.2 Avaliação das trocas gasosas e fluorescências da clorofila *a*

A avaliação das trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* no campo foi realizada em folíolos destacados, devido à altura em que as folhas se encontravam nas plantas. Tal metodologia foi empregada com base em testes realizados previamente às medições. Após o corte dos folíolos, não foi observado exsudação de seiva ou resina na região do corte, o que poderia comprometer os padrões de trocas gasosas (Rossato et al., 2010; Santiago e Mulkey 2003). Baseando-se nos testes, verificou-se que a fotossíntese de folíolos destacados de macaúba estabiliza-se em torno de 2 minutos após a remoção, em adição, a queda da atividade fotossintética em função do fechamento estomático é observada após sete a dez minutos da remoção dos folíolos. Segundo Santiago e Mulkey (2003), os efeitos da excisão sob as trocas gasosas, podem ser minimizados, quando a coleta de dados é realizada no tempo máximo de 10 minutos após o corte. Desta forma, todas as medições foram realizadas em no máximo cinco minutos após a remoção dos folíolos. Foram feitas medições da taxa fotossintética líquida (*A*), condutância estomática (*g_s*) e transpiração (*E*), utilizando o analisador de gás infravermelho modelo LI-6400xt (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, EUA). As medições foram realizadas entre 8:00 e 10:00 da manhã com o equipamento configurado para fornecer 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz artificial e 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , em temperatura e umidade ambiente. Foram utilizados nas análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* os folíolos da parte média da terceira folha inserida acima da inserção do cacho (vide tópico 2.1).

A fluorescência da clorofila *a*, do tecido vegetal exposto à radiação fotossinteticamente ativa (RFA) com intensidade de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 40 segundos, foi determinada simultaneamente as medições de trocas gasosas com auxílio do fluorômetro de pulso modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Após o período de iluminação foi aplicado pulso de luz saturante para a determinação e

cálculo das variáveis: Fluorescência em steady state (F) e fluorescência máxima do tecido vegetal iluminado (F_m). As variáveis de rendimento quântico efetivo do FSII no tecido vegetal iluminado ($\phi_{II} = (F_m - F)/F_m$), rendimento quântico de dissipação regulada de energia do FSII ($\phi_{NPQ} = F/F_m - F/F_m$) e rendimento quântico de dissipação não regulada de energia do FSII ($\phi_{NO} = F/F_m$) foram calculadas segundo Genty et al. (1989). A Taxa aparente de transporte de elétrons ($ETR = 0,5 \times 0,84 \times \phi_{II} \times RFA$), onde $0,5$ = fração da distribuição de energia de excitação no FSII, $0,84$ = fração de luz absorvida pelas folhas e RFA = radiação fotossinteticamente ativa, foi calculada segundo (Melis et al., 1987). Posteriormente, o tecido dos folíolos foi aclimatado ao escuro por trinta minutos com a utilização de uma pinça. Após esse período foi determinada a fluorescência inicial (F_0) e a fluorescência máxima (F_m), utilizando-se luz de medição menor que $1,0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e pulso de luz saturante de $12000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por $0,8$ segundos, respectivamente. A partir destes dados, foi determinada a eficiência quântica máxima do FSII ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) segundo Butler e Kitajima (1975). Ressalta-se que, durante o período de aclimação ao escuro, os folíolos foram mantidos em uma bandeja contendo papel umedecido para evitar a desidratação.

2.3 Análises fenológicas

Periodicamente foi analisado o crescimento vegetativo através da quantificação do número de folhas por planta. No início do experimento foi quantificado o número de cachos por planta e identificado o respectivo estágio de desenvolvimento dos frutos. Já nas frutificações ocorridas durante e após o término do experimento de campo foram quantificadas as emissões de cachos florais por planta.

2.4 Análises metabólicas

2.4.1 Determinação dos pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos foram determinados por espectrofotometria através do método de extração de pigmentos utilizando acetona (80%), conforme metodologia descrita por (Lichtenthaler e Wellburn, 1983). Áreas de 2 cm^2 de tecido foliar, com massa em torno de 60 mg , coletada ao meio dia (vide tópico 2.3), em ambas as estações (seca e chuvosa), foram maceradas com nitrogênio líquido, em ambiente escuro, com auxílio de pistilo e almofariz congelados. Logo após foi adicionado $1,5 \text{ ml}$ de acetona 80% e o extrato recolhido em recipientes de 2 ml e armazenado no gelo. Após esta etapa os

recipientes contendo as amostras foram vortexados, em seguida submetidos a banho ultrassônico contendo água gelada por 10 minutos, e após isto centrifugados por 10 minutos a 12000 g a 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para novos tubos, sendo o pellet submetido à nova extração com mais 1,5 ml de acetona 80%. A junção das duas extrações foi diluída com acetona 80% até completar um volume final de 7 ml. As leituras foram realizadas nas absorvâncias de 663, 646 e 470 nm em espectrofotômetro (modelo Shimadzu, UV-1800). As concentrações de clorofilas e carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$) foram calculadas por meio das seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = C_a = 12,21 A_{663} - 2,81 A_{646}$$

$$\text{Clorofila } b = C_b = 20,13 A_{646} - 5,03 A_{663}$$

$$\text{Carotenóides (xantofilas + outros carotenos)} = (1000 A_{470} - 3,27 C_a - 104 C_b)/229$$

2.4.2 Determinação de prolina e peróxido de hidrogênio

As concentrações de H_2O_2 foram estimadas segundo metodologia proposta por Velikova et al. (2000). Foram macerados 0,1 g de tecido do folíolo em nitrogênio líquido com auxílio de almofariz e pistilo congelado, sendo em seguida adicionado 1 mL de TCA 1% (ácido tricloroacético). Logo após foi realizada a centrifugação por 15 min a 12.000g a 4°C. Posteriormente, 0,250 mL do sobrenadante foram adicionados a 0,5mL de solução de fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0, 0,250 mL de TCA 0,1% e 1 mL de Iodeto de potássio 1 M. Para leitura foi utilizado espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) no comprimento de onda de 390 nm. As concentrações de peróxido foram determinadas através da curva padrão, segundo metodologia descrita por Velikova et al. (2000).

A concentração da prolina foi determinada segundo Bates et al. (1973) pelo método da ninhidrina. O material vegetal (vide tópico 2.3), $0,1 \text{ g}^{-1}$ de tecido do folíolo seco em estufa a 70°C, foi homogeneizado em 2,5 ml de ácido sulfossalicílico 3% e o resíduo removido por centrifugação a 12000 g por 10 minutos a 25 °C. Em seguida, o sobrenadante foi reservado em novo recipiente, sendo o pellet submetido a mais 2,5 ml de ácido sulfossalicílico 3% e a centrifugação. O sobrenadante coletado nas duas extrações foi homogeneizado em um único recipiente, retirando-se uma alíquota de 1 ml, seguindo reação com 1 ml de ninhidrina ácida e 1 ml de ácido acético glacial por uma hora a 100 °C. Em seguida a reação foi interrompida em banho de gelo, logo após, foi adicionado 2 ml de tolueno, seguido de vórtex e descanso por 30 minutos em

temperatura ambiente para separação das fases. Após a separação, procedeu-se a leitura a 520 nm em 1 ml coletado da fase superior, sendo o tolueno utilizado como branco.

2.4.3 Determinação do sistema antioxidante enzimático

Foram determinadas as atividades das enzimas catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD) em folíolos armazenados previamente em nitrogênio líquido (vide tópico 2.1). Para extração, 0,1 g⁻¹ de massa fresca foi macerada com auxílio de almofariz e pistilo congelado em 1 ml de meio de extração contendo tampão fosfato de potássio (TFK) 50mM pH7, EDTA 2mM, ascorbato 20 mM, triton 0,1%, PVPP 200%, DTT 14 mM e H₂O.

A atividade da enzima APX foi determinada com a adição de 20μL de extrato em 1 ml do meio de reação contendo TFK 50 mM pH 7, H₂O₂ 0,1 mM, ascorbato 0,5 mM e H₂O. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 290 nm após adição de H₂O₂ a 25°C, sendo observado o decréscimo da absorbância durante dez minutos. Para o cálculo da atividade da APX foi utilizado coeficiente de extinção molar do ascorbato (2,8 mM⁻¹ cm⁻¹) (Nakano e Asada, 1981).

A atividade da CAT foi determinada em 20μL de extrato adicionados a 1ml de meio de reação contendo TFK 50 mM, H₂O₂ 12,5 mM e H₂O. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 240 nm após adição de H₂O₂ a 25°C, sendo observado o decréscimo da absorbância durante dez minutos. Para os cálculo foi utilizado o coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio (39,4 mM⁻¹ cm⁻¹)(Havir e McHale, 1987).

Para atividade da SOD foram utilizados 2 μL do extrato vegetal, sendo o meio de reação composto de TFK 50 mM, metionina 13 mM, nitro blue tetrazolium 75 μM, EDTA 0,1 mM, riboflavina 2 μM e H₂O. Em duas placas de ELISA foram adicionados 2 μL do extrato em 98 μL do meio de reação em cada poço, sendo também adicionado em cada placa 2 brancos contendo 2 μL tampão de extração mais 98 μL meio de reação para SOD. As placas foram incubadas por 10 minutos a luz fluorescente em caixas adaptadas, uma das placas foi coberta com papel alumínio e a outra exposta a luz. Após dez minutos foi feita a leitura no escuro a 560 nm em leitor de ELISA.

As unidades de CAT, APX e SOD por minuto foram calculadas com base na quantidade de proteínas solúveis determinadas pelo método de Bradford (mais detalhes na seção seguinte).

2.4.4 Determinação de carboidratos, malato, proteínas e aminoácidos

Nos folíolos, a determinação de açúcares, amido, malato, proteínas e aminoácidos, foram realizados em folíolos coletados nos meses de Agosto de 2016 (estação seca) e fevereiro de 2017 (estação chuvosa), nas mesmas folhas onde foram determinadas as variáveis fotossintéticas (vide tópico 2.1). Nos tecidos do estipe, pecíolo e raiz, foram determinados apenas açúcares, amido, proteínas e aminoácidos na estação chuvosa, com o objetivo de identificar acúmulo de reservas em resposta ao tratamento de remoção total de cachos.

Amostras de tecidos, proveniente do folíolo, bainha, estipe e raiz foram moídas em pistilo com auxílio de nitrogênio líquido. As amostras foram submetidas à extração etanólica a quente, sendo determinado na fração solúvel às concentrações de açúcares, aminoácidos e malato, e na fração insolúvel as concentrações de amido e proteínas (Mialet-Serra et al., 2005; Silva et al., 2016; Stitt et al., 1989). Um folíolo de cada unidade experimental, previamente armazenado a - 80 °C foi macerado com nitrogênio líquido, em ambiente escuro, com auxílio de pistilo e cadinho congelados. Após a maceração, o tecido do folíolo foi mantido em nitrogênio líquido, sendo dele retirado cerca de 25 mg, os quais foram quantificados em balança semi-analítica de precisão. As amostras de 20 mg foram adicionados 300 µL de etanol 98%, seguido de agitação por 20 minutos a temperatura de 80° C, logo após, transferiu-se os tubos para centrifuga a 14000 rpm por 5 minutos, ao final retirou-se o sobrenadante, transferindo-o para outro tubo. No pellet, realizou-se mais duas extrações, a segunda utilizando 300 µL de álcool 80% e na terceira 300 µL de álcool 50%, sendo em ambas novamente realizada agitação por 20 minutos a temperatura de 80° C e centrifugação a 14000 rpm por 5 minutos, ao final todos os sobrenadante foram transferidos para um único tubo. O pellet e o sobrenadante originado das extrações foram armazenados a temperatura de -20° C.

Para determinação da sacarose, glicose e frutose, foi utilizada solução contendo tampão HEPES/KOH 1 M pH 7,0 diluído 1/10 antes do uso; 60 mg / ml de ATP; 36 mg / ml de NADP e 16 µL de G6PDH (centrifugada a 13400 rpm por 2 minutos para remoção do sobrenadante de sulfato de amônio). Em uma placa de ELISA, foram adicionados 160 µL da solução tampão e 50 µL de extrato etanólico em cada poço, seguido de leitura da absorbância para estabilização da linha de base. Com a linha de base estabilizada, foram adicionados, em cada poço, 5 µL da enzima hexokinase para quantificação da glicose. Após a estabilização, adicionou-se em cada poço, 5 µL da

enzima fosfoglucose isomerase para quantificação da frutose. Ao final, após estabilização da curva de frutose, foram adicionados 5 µL da enzima invertase para quantificação da sacarose. As leituras foram realizadas a cada minuto no comprimento de onda de 340 nm. Para determinação dos valores corretos de sacarose, o NADPH encontrado foi dividido por dois. A seguinte equação foi empregada para determinar a quantidade de NADPH equivalente nas amostras:

$$\text{NADPH } (\mu\text{mol}) = (\text{Absorbância máxima} - \text{Absorbância mínima}) / (2,85 * 6,22)$$

As concentrações de aminoácidos foram determinadas pelo método da ninidrina. Foram utilizados como reagentes, solução de citrato de sódio (Na-Citrato 1M + ácido ascórbico 0,2% a pH 5,2), ninidrina 1% diluída em etanol 70% e Glicina 1 mM para determinação da curva padrão diluída e etanol 70%. Em cada poço da placa, foram adicionados 50 µL de solução de citrato de sódio, 50 µL da amostra (exceto na curva padrão) e 100 µL de ninidrina. Após isto, a placa foi incubada a 95°C por 20 minutos, em seguida foi realizada centrifugação e os conteúdos dos poços transferidos para uma nova placa. A leitura foi realizada nos comprimentos de onda de 550 e 570 nm.

Na determinação das concentrações de malato em folíolos foi utilizada solução contendo KOH 0,2 M pH 9, Triazolyl blue tetrazolium (MTT) 10 mM, phenazine ethosulfate (PES) 20 mM, NAD⁺ 60 mM, triton x 100 10% e água. Para diminuir a oxidação pitadas de polivinilpolipirrolidona (PVPP) também foram adicionadas as amostras. Na placa, foram adicionados 80 µL desta solução mais 2 µL da amostra, sendo em seguida realizada leitura para estabilização da linha de base por 5 minutos a 570 nm. Após estabilização, foram adicionados 10 µL da enzima malato desidrogenase (MDH), sendo continuada a leitura a 570 nm até completa estabilização. A determinação da concentração do malato foi determinada com base em curva padrão, a qual foi realizada com a adição de sal de ácido málico (L-Malic Acid disodium salt).

Para solubilização de amido, foi adicionado ao pellet 400 µL de solução 0,1 M de hidróxido de sódio, sendo a solução mantida sob agitação a 95 °C por 30 minutos. Após esta etapa, a solução foi neutralizada com a adição de 70 µL de ácido acético 1 M. À alíquotas de 40 µL do pellet hidrolisado foram adicionados 60 µL de solução de degradação de amido, a qual continha 500 µL α-amiloglucosidase, 5 µL α-amylase e acetato de sódio 0,5 M a pH 4,9 para hidrólise do amido, a placa foi incubada durante 1 h a 55°C, após esta etapa foi realizada a centrifugação da mesma a 200 RPM. Na placa

centrifugada foram adicionados 250 μL de solução contendo tampão 0,1 M (HEPES, KOH 1M, MgCl_2 30 mM a pH 7 diluído 1:10), 60 mg/ml ATP, 36 mg/ml NADP e 16 μL de G6PDH. A leitura dos açúcares foi realizada, após adição de 5 μL de hexokinase, no comprimento de onda de 340 nm.

Para quantificação das proteínas insolúveis nos folíolos, o pellet foi lavado com etanol 70% até não apresentar coloração verde. Alíquotas de 1,5 μL do pellet hidrolisado com NaOH foram adicionadas aos poços da placa de ELISA, sendo também adicionado na mesma alíquotas de 3 μL de solução contendo albumina bovina (BSA) para determinação da curva padrão. Nos poços contendo as amostras e a curva padrão de BSA, foram adicionados 180 μL de solução Bradford 1/5, em seguida mediu-se a absorbância a 595 nm. A determinação da concentração de proteínas foi realizada a partir da curva padrão de BSA. Procedeu-se o mesmo método para quantificação de proteínas na fase solúvel.

Para todas as análises realizadas nesta seção foi utilizado leitor de ELISA (modelo SpectraMax 340PC384, Molecular Devices).

2.5 Análises estatísticas

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 2x2 (dois manejos da frutificação, dois períodos sazonais), sendo 4 tratamentos, 5 repetições e um total de 10 unidades experimentais. Todos os dados foram submetidos à análise variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Para todas as análises estatísticas foi utilizado o software R statistical.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito da remoção total de cachos e da sazonalidade sob a produção de carboidratos, proteínas, aminoácidos e malato

As concentrações de amido em folíolos foram significativamente maiores nas PCR (13,65 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em relação à PCM (11,26 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) (Fig.2A). As concentrações de frutose e glicose não diferiram significativamente em resposta aos efeitos sazonais, remoção total de cachos ou interação entre estes fatores. Já para a sacarose, foram observados valores significativamente maiores nos folíolos de PCM (29,25 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em relação às PCR (22,49 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) (Fig.2D). Estes resultados

sugerem que a remoção total dos cachos pode conduzir ao acúmulo de amido nos folíolos de macaúba, com conseqüente redução do transporte de açúcares para os drenos na forma de sacarose.

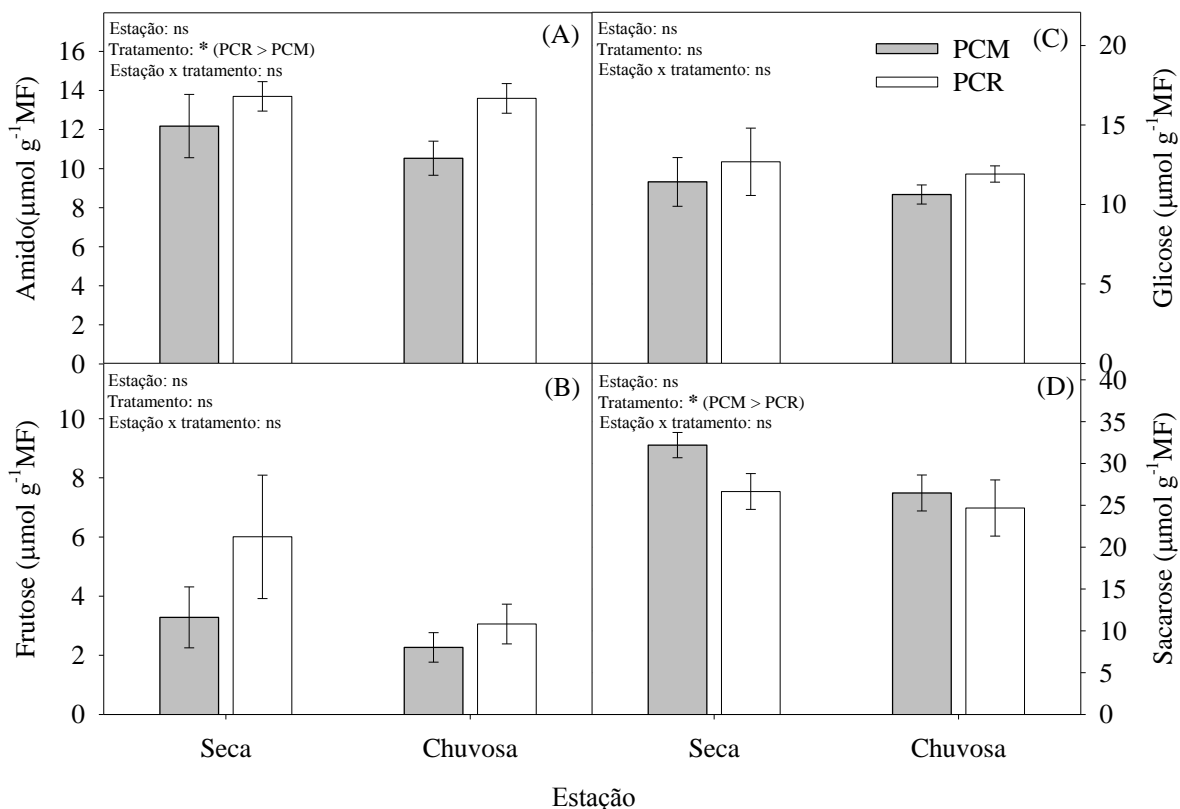


Figura 2: Concentrações de amido (A), frutose (B), glicose (C) e sacarose (D) encontradas nos folíolos de plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM □) e com cachos removidos (PCR □). Legendas: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

Ao contrário das variáveis de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila *a*, o efeito do déficit hídrico sazonal não afetou significativamente as concentrações de açúcares, aminoácidos e proteínas nos folíolos (Fig 2 e 4). Segundo Hagedorn et al. (2016) e Muller et al. (2011), o déficit hídrico do solo pode elevar a concentração de açúcares solúveis na planta, os quais atuam na manutenção do turgor celular e garantem a resiliência das plantas a este estresse. Lawlor e Cornic (2002) sugerem que o aumento nos níveis de hexoses sob estresse hídrico pode induzir mecanismos de ajustamento osmótico como forma de retardar o estresse. Entretanto, os níveis de açúcares solúveis em macaúba não apresentaram modificações em resposta à seca sazonal.

A remoção total dos cachos resultou no aumento significativo da concentração de amido nos folíolos e no estipe. A concentração de amido encontrada na profundidade de 10 cm no estipe, a 1,5 metros acima do solo, em PCR, foi praticamente o dobro do observado em PCM. Em PCR a quantidade de amido encontrada nos folíolos (13,59 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) não diferiu significativamente da quantidade encontrada no estipe (13,19 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) (Fig.3A). Nos folíolos, a concentração de amido foi significativamente maior em PCR em comparação a concentração de amido encontrada nas PCM (10,53 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) (Fig.3A). Já no pecíolo e na raiz, não foram encontradas diferenças significativas entre PCM e PCR (Fig.3A). Analisando os diferentes tecidos dentro de PCM, maior teor de amido foi encontrado nos folíolos em relação aos demais tecidos (Fig.3A). Estipe, pecíolo e raiz não diferiram entre si de forma significativa, em relação ao acúmulo de amido em PCM. Já em PCR, a concentração de amido de folíolos e estipe foram maiores que a concentração encontrada no pecíolo e na raiz (Fig 3A).

Não foram encontradas diferenças significativas entre PCM e PCR quando analisamos as concentrações de açúcares solúveis na folha, pecíolo, estipe e raiz. As maiores concentrações de glicose foram encontradas no folíolo, estipe e raiz, sendo a menor concentração encontrada no pecíolo (Fig 3C). As concentrações de frutose foram significativamente maiores nos folíolos em relação às raízes, com valores intermediários observados no pecíolo. Já no estipe, as concentrações de frutose não foram detectáveis (Fig 3B). A maior concentração de sacarose foi encontrada nos folíolos, já os demais tecidos não apresentaram diferenças significativas em termo de sacarose (Fig 3D). Pode-se dizer que, em PCR, a sacarose é translocada para o estipe onde é rapidamente convertida a hexoses, as quais são utilizadas para síntese de amido e estoque neste órgão. Já a menor concentração de amido observada no estipe das PCM, pode sinalizar aumento do investindo na manutenção e crescimento dos frutos, ou seja, mais sacarose está sendo transportada para os frutos, o que deprime o acúmulo de CNE no estipe.

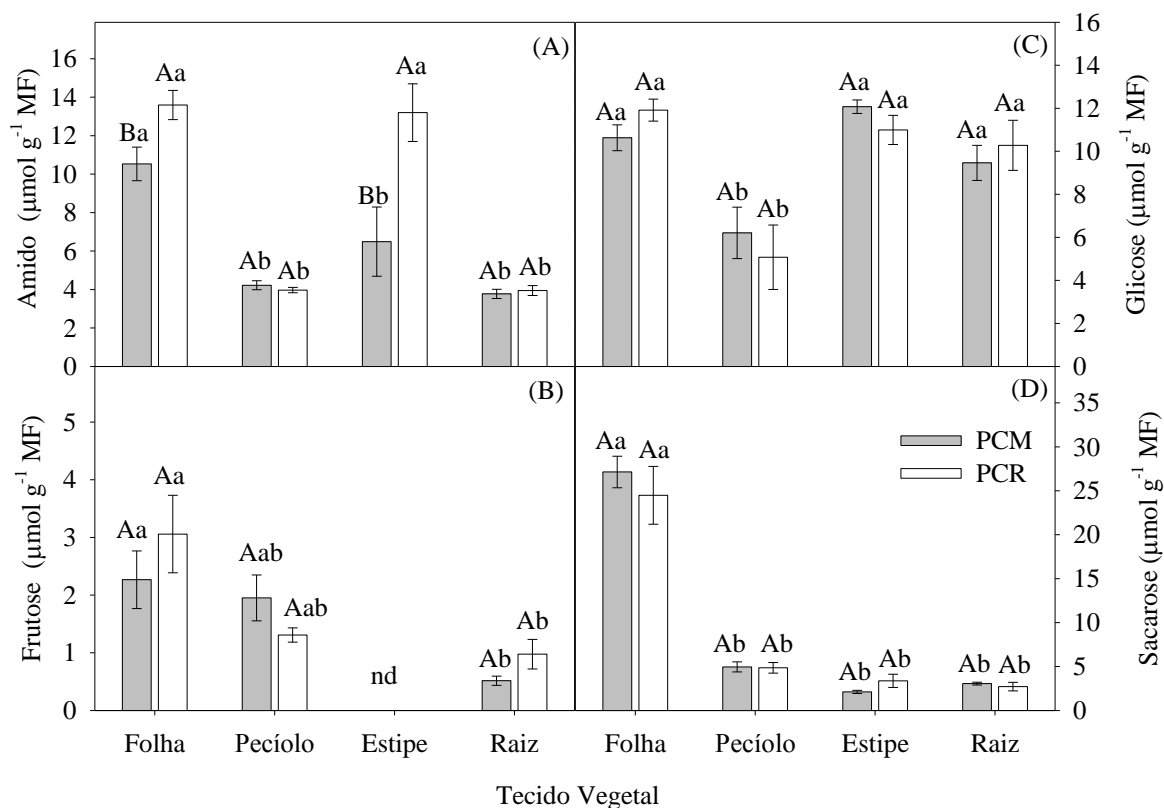


Figura 3: Concentrações de carboidratos não estruturais (CNE) encontrados nos tecidos da folha, pecíolo, estipe e raiz. (A) amido, (B) frutose, (C) glicose e (D) Sacarose em plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM \blacksquare) e com cachos removidos (PCR \square). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Letras maiúsculas diferentes significam diferenças entre os tratamentos PCM e PCR em um mesmo tecido. Letras minúsculas diferentes significam diferenças entre as concentrações de cada tecido (Teste Tukey ($P < 0.05$)).

Juntas, macaúba e dendê compartilham características semelhantes em termos de partição de carboidratos não estruturais ao longo do corpo da planta. Legros et al. (2009) relatam que plantas de dendê com drenos removidos aumentam significativamente os teores de amido no estipe, sendo a glicose o açúcar mais abundante encontrado nos tecidos de plantas controle. Outras características análogas, observadas em plantas de dendê e macaúba, é o fato da limitação dos drenos resultar no aumento do número de folhas e inflorescências (Fig. 11 e 12), além de suprimir o abortamento de frutos (dados não mostrados). Tais modificações evidenciam que plantas de macaúba, com baixa demanda de drenos, podem criar vias para consumir o excedente de fotoassimilados produzidos pela folha, o que representa um ajuste efetivo para regularização da relação fonte-dreno. Sem dúvida, uma das respostas mais interessantes observadas tanto na macaúba, quanto no dendê (Legros et al., 2009), foi à

capacidade das plantas com menor demanda de drenos aumentarem o armazenamento de amido no estipe. Este aumento caracteriza este órgão como o principal amortecedor dos possíveis desbalanços na relação fonte-dreno em macaúba. Legros et al. (2009) observaram que a concentração de CNE em folíolos de dendê não é alterada pela remoção dos frutos, sendo o oposto observado na macaúba.

A taxa de síntese de produto final (sacarose, amido, aminoácidos) determina a taxa em que fosfato inorgânico (Pi) é reciclado de volta às reações da fotossintéticas. A partição de assimilados na folha pode ser regulada pelo transporte de gliceraldeído-3-fosfato (3-PGA) e Pi, sendo que a redução deste transporte resulta no aumento do 3-PGA no cloroplasto, ativação da enzima ADP-Glucose pirofosforilase e aumento da síntese de amido no mesmo. O resultado da diminuição da ciclagem de Pi é que mais carbono fica retido no cloroplasto, aumentando a síntese de amido (Paul e Foyer, 2001).

Em muitas espécies, a síntese do amido é promovida quando ocorre restrição da síntese de sacarose. Entretanto, a síntese de amido nos folíolos pode possibilitar a manutenção da taxa fotossintética por mais tempo, principalmente, quando recursos como luz e CO₂ não são limitantes (Paul e Foyer, 2001). Na macaúba, as alterações nas concentrações de açúcares solúveis foram pequenas em relação às mudanças no conteúdo de amido dos folíolos. Tais processos levaram a aceitação de que o excesso de amido no folíolo também participa da regulação do feedback fotossintético nessa espécie. Em diversos trabalhos, correlações positivas entre aumento da concentração do amido foliar e a diminuição da eficiência do FSII são observadas, e podem ser caracterizadas por significativas reduções no Fv/Fm e ϕ_{II} (Adams et al 2013; Duan 2008; Urban 2007). O feedback negativo da atividade fotossintética pelo acúmulo de amido pode variar de acordo com a espécie vegetal. Espécies que armazenam mais amido e produzem menos sacarose, são apontadas como mais inibidas por esse feedback (Huber et al., 1992). Entretanto, espécies que possuem baixa acumulação de amido também já demonstraram inibição fotossintética em resposta à remoção de drenos (Paul e Foyer, 2001).

A remoção total dos cachos em macaúba resultou no aumento da síntese de amido nos folíolos, e conseqüente diminuição da síntese de sacarose nas mesmas (Fig 2 A e B). Entretanto, a taxa fotossintética em macaúba não foi inibida por feedback negativo, provavelmente devido a criação de rotas alternativas de consumo de carboidratos, como a utilização do estipe para armazenamento temporário de amido (Fig. 3A). Além disso, as alterações no rendimento fotoquímico demonstram mecanismos

eficientes de dissipação energética, o que evita a possibilidade de ocorrência de danos oxidativos a maquinaria fotossintética (Fig. 6). Segundo Paul e Pellny (2003), o aumento do suprimento de carbono em plantas pode induzir a expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na utilização e estoque de carboidratos. Com base nesta afirmação, é plausível sugerir que o estoque de carboidratos pode ser uma característica de macaúbas quando não estão frutificando.

Para sobreviver a períodos estressantes, organismos vegetais tendem a modular a sua capacidade fotossintética intrínseca, apresentando para isso alterações significativas na captura, estoque de carbono e crescimento, o que também pode favorecer a tolerância a estresses abióticos (Demmig-Adams et al., 2017; Hagedorn et al., 2016; Fatichi et al., 2014). Segundo Demmig-Adams et al. (2017), para garantirem a sobrevivência, plantas podem apresentar alterações em componentes fotossintéticos, alterações no transporte vascular dos folíolos, modificações na relação fonte-dreno, criação de drenos alternativos, dentre outros. Tais alterações corroboram com a evidência de que a capacidade fotossintética não é regulada somente em resposta a fatores ambientais como luz e água, e assim o transporte e o consumo dos produtos fotossintéticos também atuam como importantes reguladores (Demmig-Adams et al., 2017). Diversas espécies armazenam carboidratos de forma transitória, o que pode favorecer o equilíbrio das relações fonte-dreno em situações estressantes (Silpi et al., 2007). Em palmáceas como coco e dendê, já foram demonstrados acúmulos significativos de CNE em outras partes do vegetal, por exemplo, no estipe (Legros et al., 2009; Mialet-Serra et al., 2008).

Mialet-serra et al. (2005) destacam que a sacarose é a principal reservas de carboidratos no coco, sendo a mesma encontrada principalmente no estipe. Neste trabalho, observou-se que a macaúba apresentou um comportamento distinto do coco, em que os carboidratos são armazenados principalmente na forma insolúvel, como amido, encontrado em maiores concentrações no estipe de plantas com restrição de drenos (Fig. 3A). Entretanto, o baixo armazenamento de carboidratos observado nas raízes é uma característica análoga às duas espécies.

Diferentemente do armazenamento de amido foliar, o qual ocorre em curto prazo para enfrentar flutuações diurnas na assimilação de C (Kozlowski, 1992), o armazenamento de CNE em órgãos não fotossintéticos permite a resiliência de plantas após longos períodos estressantes (Hagedorn et al., 2016; Mialet-Serra et al., 2008). Segundo Mialet-Serra et al. (2005), coqueiros adultos em condições favoráveis podem conter cerca de 30kg de CNE. Em outras monocotiledôneas C3, o acúmulo de CNE

pode sustentar o crescimento e ser retranslocado para o crescimento dos frutos (Blum, 1997; Dingkuhn et al., 2005). Embora, em condições favoráveis para o cultivo, a função fisiológica do armazenamento de carboidratos no coco permanece desconhecida, não foram observadas mobilizações significativas para o crescimento vegetativo. Entretanto, observou-se que a eficiência do uso da radiação reduziu 50% com a retirada dos frutos, mostrando que, durante a fase reprodutiva, a frutificação é um importante mecanismo para equilibrar a relação fonte-dreno e evitar danos fotoinibitórios (Mialet-Serra et al., 2008). Assim como no coco, a frutificação da macaúba também assume papel importante na eficiência de utilização de energia. Nossos resultados demonstram que plantas de macaúba em plena frutificação dissipam mais energia para etapa fotoquímica e menos energia na forma não fotoquímica (Fig. 6).

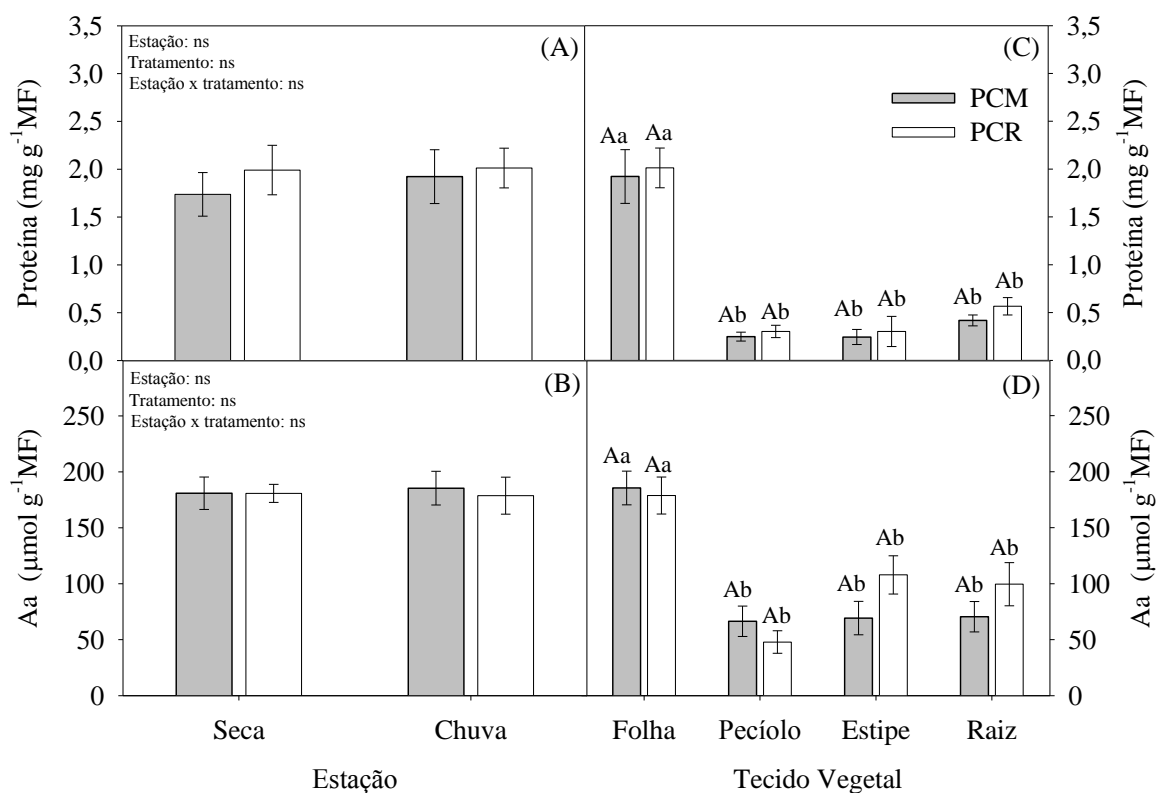


Figura 4: Concentrações de Proteínas (A) e (B) Aminoácidos (Aa) em folíolos. Concentrações de proteínas (C) e (D) aminoácidos em diferentes tecidos vegetais de plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM \square) e com cachos removidos (PCR \square). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Letras maiúsculas diferentes significam diferenças entre os tratamentos PCM e PCR em um mesmo tecido, letras minúsculas diferentes significam diferenças entre as concentrações de cada tecido (Teste Tukey ($P < 0.05$)) (gráficos B e D). Legendas gráficos A e B: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Para mais detalhes vide figura 6.

As concentrações de proteínas e aminoácidos não apresentaram diferenças significativas entre PCM e PCR. Para estes metabólitos, foram encontradas diferenças apenas entre os tecidos da planta, sendo a maior concentração observada na folha (Fig. 4).

As concentrações de malato nos folíolos foram significativamente afetadas pelo efeito isolado da remoção total dos cachos e da sazonalidade, não sendo observadas respostas significativas das plantas a interação entre estes fatores (Fig. 5). O maior acúmulo de malato em PCM, na estação seca, pode ter sido influenciado pelo déficit hídrico sazonal. O aumento da concentração de malato em PCM, durante a estação seca, além de possibilitar o escoamento de poder redutor e redução de danos oxidativos, pode indicar aumentos na intensidade da respiração celular nestas plantas (Plaxton e Podestá, 2006).

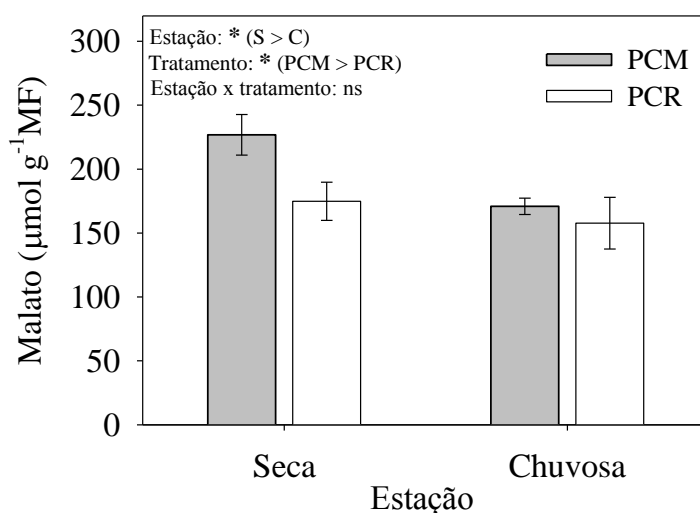


Figura 5: Concentrações de malato em folíolos de plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM □) e com cachos removidos (PCR □). Legenda: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

Segundo Alric e Johnson (2017), vias metabólicas alternativas podem ser tão importantes quanto às reações primárias e possibilitam a sobrevivência de plantas a condições adversas. Mudanças ambientais podem regular rapidamente algumas vias de transporte de metabolitos. Essas alterações podem equilibrar a transferência de elétrons fotossintéticos, evitando assim a formação de EROs e garantindo a manutenção saudável da produção de ATP e NADPH para fixação de CO_2 (Alric e Johnson, 2017). O transporte de malato entre cloroplasto e mitocôndria é considerado uma destas vias. A redução de oxaloacetato a malato consome o NADPH, possibilitando assim a

regeneração do receptor final da cadeia de transporte de elétrons (CTE) NADP⁺ (Alric e Johnson, 2017).

3.2 Efeito da remoção total de cachos e da sazonalidade sob a eficiência de dissipação energética do FSII

Apesar da remoção total de cachos e espádices ocasionarem aumento da concentração de amido nos folíolos (Fig. 2A), o rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) manteve-se estável entre os tratamentos (Fig. 6B). Entretanto, observou-se que a seca sazonal é um fator que influencia significativamente a utilização energética da macaúba, sendo a média geral de F_v/F_m e ETR reduzidas durante a estação seca (Fig. 6 B e C).

Alguns trabalhos apresentam correlações positivas entre o acúmulo de amido foliar e a redução da eficiência do FSII (Goldschmidt e Huber, 1992; Roden e Ball, 1996; Urban e Alphonsout, 2007; Duan et al., 2008). Neste contexto, observou-se que o aumento dos níveis de amido em folíolos, de forma isolada, não alteraram as variáveis de fluorescência da clorofila *a* da macaúba. Porém a interação entre acúmulo de amido e sazonalidade resultou em alterações significativas nas variáveis de rendimento quântico efetivo do FSII (ϕ_{II}) (Fig. 6D) e de dissipação regulada de energia não fotoquímica (ϕ_{NPQ}) (Fig. 6F). A redução destas variáveis também foi observada em outras espécies expostas a demanda reduzida de drenos, como manga (Urban et al., 2004), citrus (Rivas et al., 2007) e pêssago (Duan et al., 2008; Li et al., 2007). Na estação chuvosa, o ϕ_{II} foi maior nas PCM e menor em PCR, já na estação seca não foram observadas diferenças significativas entre PCM e PCR. As PCM tiveram o ϕ_{II} significativamente maior na estação chuvosa e menor na estação seca, entretanto PCR não apresentaram diferenças entre as estações (Fig. 6D).

A fotossíntese líquida (*A*) manteve-se estável independente da condição analisada (Fig. 7A). Entretanto, as plantas de macaúba apresentaram aumento significativo dos valores de F_o na estação seca em relação à chuvosa (Fig. 6A), o que corrobora com a ligeira, porém significativa, redução de F_v/F_m durante a estação seca (Fig. 6B).

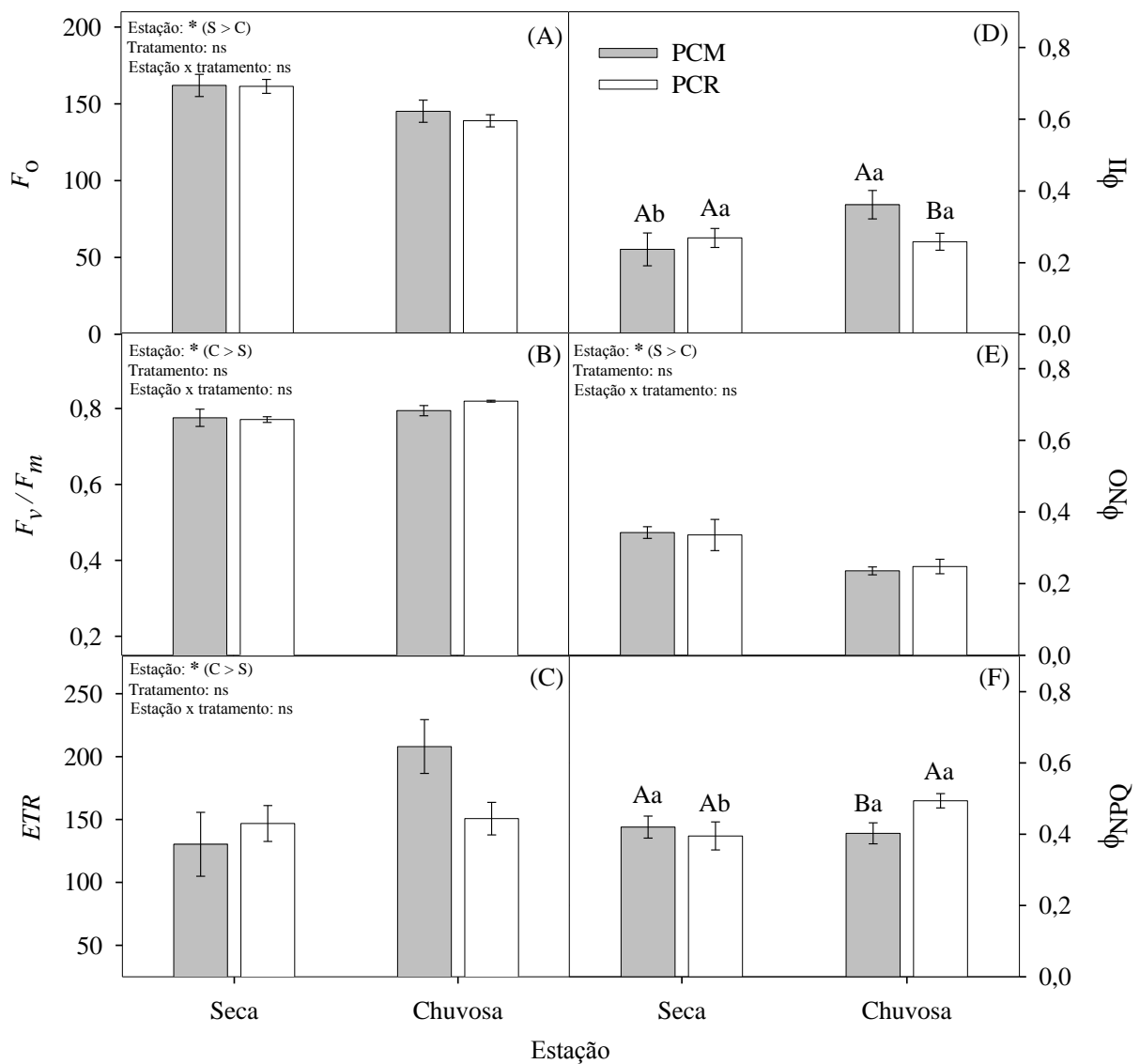


Figura 6: (A) Fluorescência mínima (F_o), (B) eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m), (C) taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), (D) eficiência quântica efetiva do FSII (ϕ_{II}), (E) eficiência quântica de dissipação não regulada de energia não fotoquímica (ϕ_{NO}), (F) eficiência quântica de dissipação regulada de energia não fotoquímica (ϕ_{NPQ}). As colunas cinza representam o tratamento plantas com cachos mantidos (PCM \square) e as colunas brancas representam o tratamento plantas com cachos removidos (PCR \square). Quando há interação entre tratamentos e estação: letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre as médias dos parâmetros obtidos nas PCM e PCR, dentro de cada estação; letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas das médias dos parâmetros obtidos nas PCM e PCR entre as estações chuvosa e seca (Teste Tukey; $P < 0.05$). Quando não houver interação, o efeito significativo do fator isolado será representado na parte superior ou inferior direita de cada gráfico. Legendas: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições.

Os aumentos em F_o e ϕ_{NO} seguido de reduções em F_v/F_m e ETR podem estar relacionados a ocorrência de fotoinibição dinâmica durante a estação seca (Adams et al., 2013). Segundo Björkman e Demmig (1987), os valores de F_v/F_m encontrados em folhas não estressadas de plantas vasculares giram em torno de 0,80 a 0,83. Porém, apesar da média de F_v/F_m durante a estação seca sugerir a presença de estresse e possibilidade de fotoinibição, a estabilidade das concentrações de H_2O_2 , e atividade de enzimas antioxidantes da macaúba (Fig. 10), demonstram que não houve danos oxidativos significativos. Duan et al. (2007) observaram que, em pêssago, a remoção de frutos resultou em limitações não estomáticas a fotossíntese, com aumentos significativos em F_o indicando a ocorrência de danos aos centros de reação do FSII. Provavelmente, por ser uma espécie tropical, e por apresentar constante lançamento de folhas, a reduzida demanda de drenos reprodutivos na macaúba não resultou em alterações significativas na F_o , F_v/F_m , ETR e ϕ_{NO} (Fig. 6A).

O processo fotoinibitório pode ser caracterizado por danos oxidativos ao centro de reação do FSII, principalmente associados à proteína D1 (Goh et al. 2012), sendo o persistente aumento do conteúdo de zeaxantina considerado também uma característica deste processo (Demmig-Adams e Adams, 2006). A característica desta espécie em não apresentar maiores danos oxidativos pode estar relacionada a outros mecanismos de proteção, como aumento da dissipação de energia luminosa por via térmica, modificações anatômicas e movimentos foliares que diminuem a absorção de energia (Yano e Terashima, 2001; Demmig-Adams e Adams, 2006)

A estação chuvosa, além de possibilitar maior crescimento vegetativo, é também o período onde os frutos da macaúba estão em seu estágio de máxima expansão e maior demanda por fotoassimilados (Montoya et al., 2016). A remoção total dos cachos reduziu o ϕ_{II} na estação chuvosa, mostrando que a demanda energética dos drenos reprodutivos exerce um papel fundamental sob a atividade fotoquímica da macaúba. Os maiores valores de ϕ_{II} , observados em PCM no período chuvoso, podem estar relacionados à maior demanda dos frutos por fotoassimilados. O fato da interação entre os fatores estudados reduzir apenas o ϕ_{II} em PCM na estação seca, pode ser explicado tanto pela demanda dos drenos, quanto pelo déficit hídrico sazonal. O estresse hídrico por si só reduz a eficiência do FSII (Fig. 6B), este fato, aliado ao estágio de desenvolvimento dos frutos na seca, corroboram com os menores valores de ϕ_{II} . Desta forma, pode-se afirmar que a demanda dos frutos em macaúba é capaz de aumentar a

eficiência de dissipação energética através do FSII. Registra-se que tal comportamento ocorre apenas na estação chuvosa, a qual concentra o florescimento e início do desenvolvimento dos frutos.

Na estação chuvosa ocorreu aumento do ϕ_{NPQ} em PCR em relação à PCM, não sendo encontrada diferenças significativas entre estes tratamentos na estação seca. Já as PCM não apresentaram diferenças significativas entre as estações (Fig. 6F). As respostas do ϕ_{NPQ} (Fig. 6F) corroboram com os resultados do ϕ_{II} (Fig. 6D). A dissipação fotoquímica e não fotoquímica são processos competitivos, desta forma, a redução do ϕ_{II} em PCR na estação chuvosa (Fig. 6D) foi compensada, ao menos em parte, pelo aumento do ϕ_{NPQ} (Fig. 6F). Já o aumento do ϕ_{II} ocorrido em PCM, na estação chuvosa, resultou na diminuição do ϕ_{NPQ} nesta mesma estação (Fig. 6 D e F). Para manter a dissipação energética equilibrada na estação chuvosa as PCR elevaram a dissipação de energia através do ϕ_{NPQ} (Fig. 6F).

A dissipação térmica através do ciclo das xantofilas é considerada uma das primeiras linhas de defesa em plantas e pode aumentar significativamente em resposta à remoção de frutos (Duan et al., 2008). Essa mesma característica ficou evidente neste trabalho pela elevação em ϕ_{NPQ} observada em PCR na estação chuvosa. A manipulação da relação fonte-dreno em macaúba, através da poda de órgãos reprodutivos, pode modular os mecanismos de dissipação energética, principalmente, na fase inicial de frutificação. Estas alterações na etapa fotoquímica proporcionaram certa proteção ao aparato fotossintético da macaúba contra danos oxidativos. Além de caracterizar o efeito dos drenos reprodutivos sob a atividade fotossintética, a modulação destes mecanismos mostra que a macaúba consegue dissipar o excesso de energia de forma regulada, o que também é importante na diminuição do excesso e formação de EROs. A interação entre os tratamentos e a sazonalidade não afetou o ϕ_{NO} , ou seja, a associação do déficit hídrico com a reduzida demanda de drenos reprodutivos, não conduziu a fotoinibição, as plantas de macaúba aqui avaliadas, contradizendo uma das hipóteses deste trabalho (Fig 6E). O aumento desta variável durante a estação seca corrobora com os maiores valores encontrado para F_o e redução de F_v/F_m . É plausível sugerir que ocorreu maior extensão de danos fotoquímicos ao FSII na estação seca, ocasionados possivelmente pela limitação hídrica. A maior dissipação energética via ϕ_{NO} pode resultar em danos aos centros de reação do FSII e comprometimento da etapa fotoquímica, uma vez que neste

caso há uma grande formação do estado tripleto da clorofila ($^3\text{Chl}^*$) (Kramer et al., 2004).

3.3 Efeito da remoção total de cachos e da sazonalidade sob as trocas gasosas e concentração de pigmentos

Não foram observadas diferenças significativas nas variáveis de trocas gasosas entre PCM e PCR (Fig. 7), apesar da remoção total de cachos aumentar a concentração de amido nos folíolos (Fig. 2A). Diversos trabalhos demonstram que a redução da força drenó pode acarretar acúmulo de carboidratos na folha, o que eleva a relação fonte-dreno e pode resultar em retroinibição fotossintética (Duan et al., 2008; Paul e Foyer, 2001; Stitt, 1991).

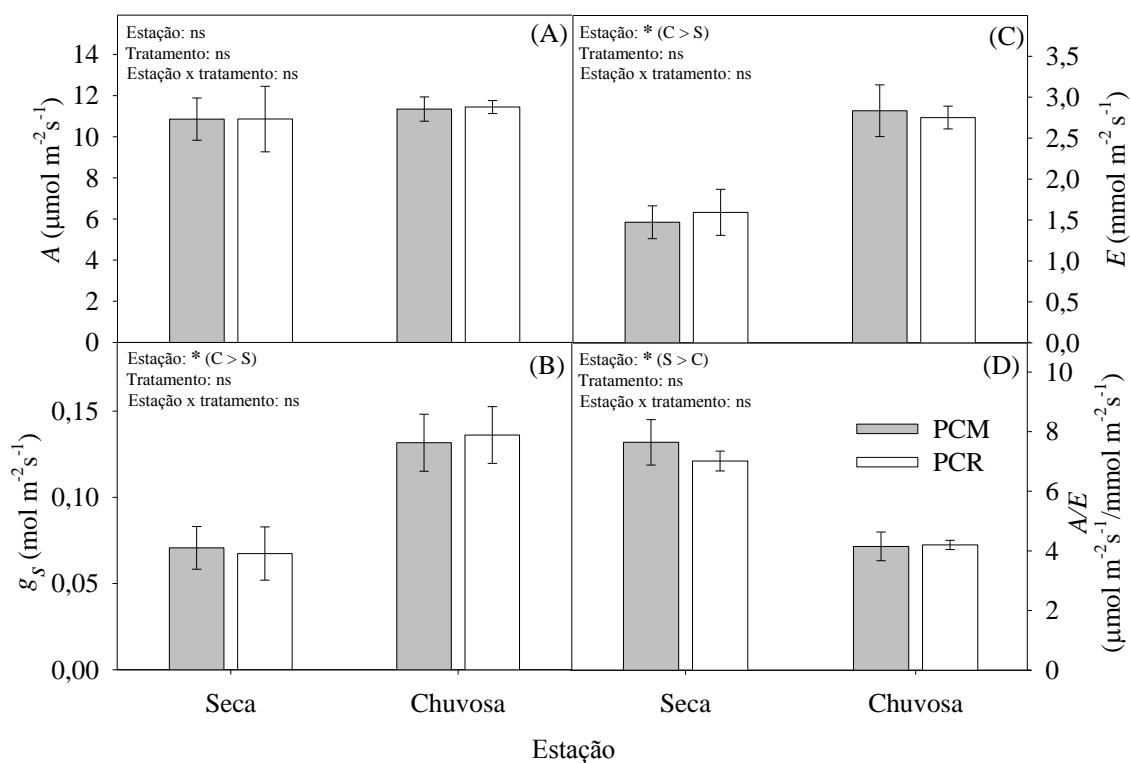


Figura 7: Influência da remoção total de cachos e da sazonalidade sob a fotossíntese líquida A (A), condutância estomática g_s (B), transpiração foliar E (C) e eficiência instantânea do uso da água A/E (D) em folíolos de macaúbas com cachos mantidos (PCM \square) e com cachos removidos (PCR \square). Legenda: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

Apesar de não ser uma resposta unânime entre a maioria das espécies, a retroinibição por acúmulo de CNE deve ser cuidadosamente investigada, principalmente em espécies altamente produtivas, visto que o feedback por acúmulo de CNE também

pode desencadear processos fotoinibitórios (Adams et al., 2013; Demmig-Adams et al., 2017; Ort e Baker, 2002).

A fotossíntese pode ser inibida pela diminuição da força dos drenos, e estimulada quando a capacidade de acúmulo e utilização de açúcares aumenta, sendo a manipulação fonte-dreno uma das principais formas de estudo deste processo (Mondal et al., 1978). A maioria das evidências desta regulação é baseada na correlação entre acúmulo de carboidratos foliar e inibição fotossintética (Adams et al., 2013). Porém, a diminuição ou remoção de drenos pode também resultar no armazenamento temporário de carboidratos em diferentes órgãos da planta (Herold, 1980). Tal fato foi observado nas macaúbas aqui analisadas (Fig. 3). Em adição, algumas espécies podem não apresentar inibição fotossintética devido à diminuição da força dreno e acumulação de carboidratos foliares (Stitt, 1991). Neste contexto, os resultados deste trabalho sugerem que a macaúba não apresenta retroinibição fotossintética por acúmulos de CNE nos folíolos. Sendo tal característica observada também em plantas de dendê estudadas anteriormente por Legros et al. (2009).

A coordenação entre a produção de carboidratos nas fontes (folhas expandidas) e sua translocação para utilização e/ou armazenamento nos drenos é de crucial importância para o crescimento da planta. O aumento excessivo de carboidratos nos folíolos pode inibir a taxa fotossintética através de uma cascata de eventos, os quais envolvem: aumento de hexoses no citosol e redução do pool de fosfato inorgânico (Pi) citossólico; redução das trocas de gliceraldeído-3-fosfato (3-PGA) entre cloroplasto e citosol; ativação da enzima ADP-glicose pirofosforilase no cloroplasto e formação de grandes grãos de amido, causando comprometimento físico do mesmo (Stitt e Zeeman, 2012).

A conseqüente redução das concentrações de sacarose em PCR não influenciou a atividade fotossintética da macaúba. A sacarose é o principal açúcar translocado na maioria dos vegetais, sendo a sua síntese realizada no citosol a partir da conversão de 3-PGA a frutose-1,6-bisfosfato (Fru-1,6-bisP) e em seguida a frutose-6-fosfato (Fru-6-P). A Fru-6-P é convertida a glicose-6-fosfato (Gli-6-P), depois a Gli-1-P, que é, em seguida, convertida a uridina-difosfoglicose (UDP-G), a qual é associada à Fru-6-P pela sacarose fosfato sintase (SPS) formando sacarose. Desta forma, todo este processo é dependente do transporte de 3-PGA através de translocadores de Pi contidos no envelope cloroplastídico (Stitt e Zeeman, 2012). Segundo Herold (1980), a inibição da síntese de sacarose resulta na diminuição da ciclagem de Pi e do transporte de 3-PGA, o

que pode levar a inibição fotossintética. A redução da síntese de sacarose está ligada ao aumento da frutose-2,6-bisfosfato no citosol, a qual pode levar a inibição da enzima Frutose-1,6-bisfosfatase, redução da frutose-6-fosfato e decréscimo da liberação de Pi (Paul e Foyer, 2001; Paul e Pellny, 2003; Stitt, 1991). Segundo Hurry et al. (2000), a redução de Pi ocasionada pela baixa síntese de sacarose pode também ocasionar, a longo prazo, alterações na expressão de genes fotossintéticos. Desta forma, após ser sintetizada, a sacarose deve ser translocada para células de órgãos dreno. Essa translocação garante a utilização contínua de monossacarídeos na síntese de sacarose, evita a síntese de amido nos folíolos, bem como a possibilidade da ocorrência de retroinibição fotossintética (Wardlaw, 1990).

Segundo Da Matta et al. (2008), a remoção de frutos parece comprometer a atividade fotossintética em café através da redução da condutância estomática. Tal característica estaria associada à baixa atividade de órgãos drenos gerando mudanças na concentração intercelular de CO₂ (C_i), a qual pode conduzir ao fechamento parcial dos estômatos (Wunsche et al., 2005). Entretanto, essa característica não foi observada em macaúba, uma vez que os parâmetros de trocas gasosas permaneceram estáveis entre PCM e PCR (Fig. 4). Não obstante, g_s , E e A/E apresentaram diferenças significativas entre as estações seca e chuvosa (Fig. 7). A g_s durante a estação seca ($0,068 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foi menor que na estação chuvosa ($0,13 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), no entanto, sem decréscimo nas taxas de fotossíntese (Fig. 7A e B). Isso mostra que a reduções em g_s nem sempre estão ligadas a redução em A nesta espécie. O aumento da resistência estomática durante a estação seca ocasionou reduções em E , culminando também na elevação da A/E durante a seca (Fig. 7 C e D). Diversos estudos relatam a influência do estresse hídrico sobo aumento da resistência estomática e diminuição fotossintética (Flexas et al., 2006, 2002; Cornic, 2000; Suresh et al., 2010; Stitt, 1991). Os resultados de trocas gasosas sugerem que a macaúba apresenta eficientes mecanismos de controle estomático, reagindo rapidamente às alterações hídricas do ambiente para conservar água, manter o pleno funcionamento da maquinaria fotossintética e da carboxilacão.

Observou-se que as concentrações de clorofilas e carotenoides não foram afetadas pela remoção total dos cachos, nem mesmo pelo déficit hídrico sazonal (Fig. 8). Aliados ao complexo antena, os carotenoides atuam protegendo o aparelho fotossintético contra foto-oxidação, caracterizando tais pigmentos como agentes antioxidantes (Keunen et al., 2013). Em geral, a atividade protetora dos carotenoides está associada, principalmente, a dissipação térmica pelo ciclo das xantofilas. Este

mecanismo de proteção utiliza, principalmente, a zeaxantina para dissipar de forma eficiente o excesso de energia das clorofilas excitadas na forma de calor (Demmig-Adams e Adams, 2006). O ϕ_{NPQ} é um dos principais mecanismos envolvidos na evitação do processo fotoinibitório, ademais, o incremento desta variável pode indicar elevação do conteúdo de zeaxantina aliado ao complexo antena (Demmig-Adams e Adams, 2006). Apesar do aumento da variável ϕ_{NPQ} no tratamento PCR indicar aumento da dissipação térmica pelo ciclo das xantofilas, não foram detectadas alterações significativas nas concentrações de carotenoides totais (Fig. 8C). De modo similar, a remoção de drenos reprodutivos em citros também não resultou em alterações significativas na produção de pigmentos fotossintéticos, mesmo com elevações nas concentrações foliares de CNE (Rivas et al., 2007).

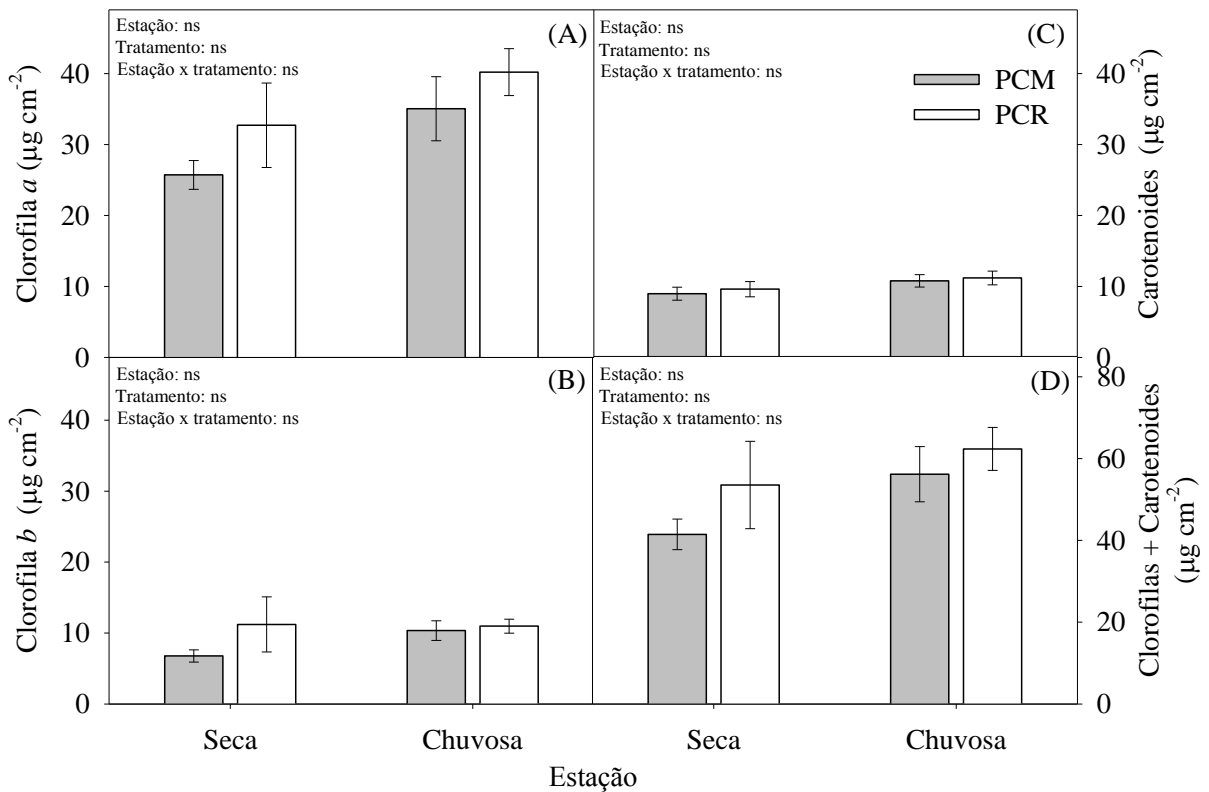


Figura 8: Concentrações de clorofilas *a* (A), clorofila *b* (B), carotenoides (C) e clorofilas mais carotenoides (D) em plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM \blacksquare) e com cachos removidos (PCR \square). Legendas: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

A macaúba apresenta 3,4 vezes mais clorofila *a* em relação à clorofila *b*, o que consequentemente resultou na elevação da razão clorofila *a/b*. Sem dúvida, a elevação

da razão clorofila *a/b* nos folíolos de macaúba pode ser caracterizada como uma aclimatação a condições de alta irradiância (Dörken e Lepetit, 2018). Salienta-se ainda que, esta aclimatação, pode ter favorecido a absorção e dissipação eficiente de energia na macaúba, por exemplo, reduzindo a absorção excessiva de energia e consequentemente a formação de EROs.

3.4 Impactos da redução da força dreno e da sazonalidade sob as relações hídricas da macaúba

A remoção de drenos reprodutivos, assim como sua interação com a sazonalidade, não resultou em alterações no potencial hídrico foliar (Ψ_w), concentrações de prolina, teor relativo de água (*TRA*) e teor de umidade do solo (*TUS*). (Fig. 9). Entretanto, o Ψ_w apresentou diferenças significativas entre a estação seca (-0,36 MPa) e à chuvosa (-0,11 MPa) (Fig. 9A). Também houve aumento significativo nas concentrações de prolina em folíolos na estação seca (19,10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) em relação à estação chuvosa (14,32 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) (Fig. 9B). O *TRA* e *TUS* também foram significativamente reduzidos durante a estação seca (Fig. 9 C e D).

Apesar da diferença encontrada no Ψ_w entre as estações seca e chuvosa, observou-se que a macaúba possui a capacidade de manter o Ψ_w elevado em condições de campo, mesmo no período seco, após cerca de dois meses consecutivos sem precipitação. Segundo Mota e Cano (2016), em condições controladas, a fotossíntese da macaúba apresenta significativas reduções quando o potencial hídrico atinge valores próximos a -1,5 MPa, chegando a atingir valores próximos a zero em Ψ_w em torno de -2 MPa. Entretanto, para que o potencial hídrico atingisse valores próximos a -2 MPa, em casa de vegetação, foram necessários cerca de 50 dias de suspensão da irrigação (Mota e Cano, 2016). Em outras espécies de palmáceas como dendê (Suresh et al., 2010; Silva et al., 2017) e pupunha (Oliveira et al., 2002), o potencial hídrico chega a atingir valores próximos a -2 MPa cerca de 10 dias após o início da aplicação do déficit hídrico, momento este em que a fotossíntese é reduzida a taxas próximas a zero. O Ψ_w observado nas macaúbas deste experimento manteve-se em níveis menos negativos, provavelmente, em função das análises serem realizadas em plantas em condições naturais, sem limitações do crescimento radicular.

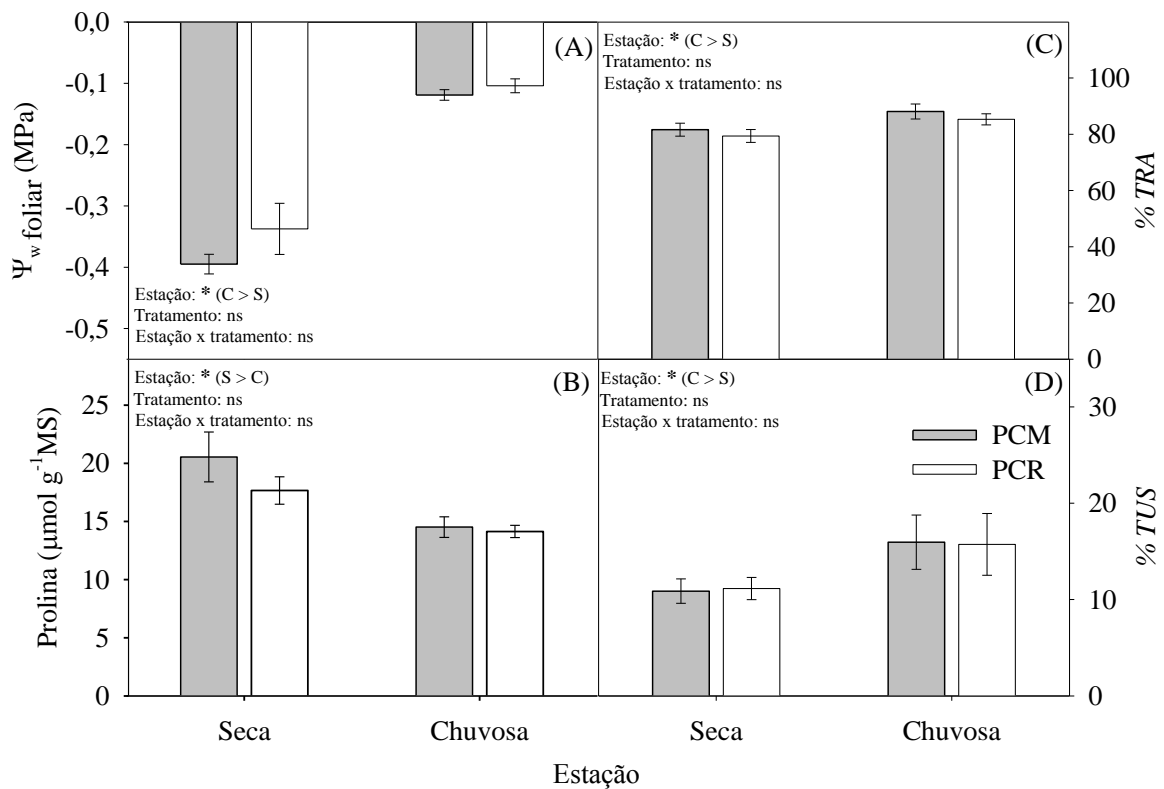


Figura 9: Potencial hídrico foliar (Ψ_w , A), concentração de prolina em folíolos (B), teor relativo de água foliar (TRA, C), teor de umidade do solo (TUS, D) de plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM \blacksquare) e com cachos removidos (PCR \square). Legendas: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

A redução do Ψ_w durante a estação seca corrobora com o aumento da concentração de prolina nos folíolos (Fig. 9B). O aumento da prolina nos tecidos foliares favorece a manutenção da turgescência durante a seca, sendo considerado um mecanismo de ajustamento osmótico importante para a manutenção da atividade metabólica celular em plantas sob deficiência hídrica (Al-Khayri e Al-Bahrany, 2004; Zandalinas et al., 2018). A prolina pode também ter desempenhado um importante papel como antioxidante nas macaúbas aqui avaliadas. O aumento da biossíntese desse aminoácido, em condições de estresse, pode garantir a homeostase de EROs nos tecidos, possibilitando também, através do seu catabolismo, a rápida recuperação do crescimento após o estresse. Por exemplo, a prolina pode atuar diretamente na remoção das EROs já formadas, como o oxigênio singleto, radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio. Além disso, a própria rota biossintética da prolina, pode possibilitar a redução da formação de EROs através do consumo do excesso de poder redutor (NADPH), o que possibilita a renovação do pool de NADP⁺ e manutenção da taxa de transporte de elétrons (Hayat et

al., 2012; Szabados e Saviouré, 2010). Desta forma, a acumulação de prolina, durante o estresse, pode manter estáveis proteínas e complexos proteicos presentes no cloroplasto e no citosol, o que garante proteção ao aparato fotossintético (Szabados e Saviouré, 2010). Com base nestas afirmações, pode-se dizer que o aumento da concentração de prolina, observado nos folíolos das macaúbas, durante a estação seca, foi um dos mecanismos que possibilitaram a manutenção das taxas fotossintéticas e a homeostase das EROs. O fechamento estomático ocasionado pelo déficit hídrico é um dos primeiros mecanismos que limitam a disponibilidade de carbono para fotossíntese (Flexas e Medrano, 2002). Entretanto, a atividade fotossintética da macaúba foi mantida mesmo com o fechamento estomático (Fig. 7B). A manutenção do *TRA* acima de 80% (Fig. 9C), mesmo na seca, possibilitou a continuidade da atividade fotossintética através da manutenção da atividade da Rubisco. Sendo demonstrado por Flexas et al. (2006) que a atividade da Rubisco é mantida mesmo após a queda de 50% do *TRA* e limitação de 75% da atividade estomática.

3.5 Impacto da redução da força dreno e da sazonalidade sob a formação de espécies reativas de oxigênio e atividade antioxidante em folíolos de macaúba

O efeito isolado da remoção total dos cachos e da sazonalidade, como também a interação entre estes fatores, não afetaram a atividade das enzimas APX, CAT e SOD em macaúba (Fig 10 A, B e C). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de H_2O_2 (Fig 10D). Aumentos significativos na atividade de enzimas antioxidantes, assim como na concentração de H_2O_2 , foram observados em plantas de pêsego com menor carga de frutificação (Duan et al., 2008). Quando a taxa fotossintética é comprometida por algum tipo de estresse, diversos processos podem ser ativados para evitar e remover o excesso de formação de EROs, como ciclo das xantofilas (Demmig-Adams e Adams 2006), aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Asada 1999), ajustes do complexo coletor de luz (Horton et al., 2005), fluxo cíclico de elétrons (Niyogi, 2017), dentre outros. Entretanto, a macaúba manteve as taxas fotossintéticas independente do tratamento ou da estação sazonal (Fig.6A). A capacidade de manter a fotossíntese e dissipar parte da energia de forma não fotoquímica regulada, quando exposta a demanda reduzida de drenos e seca sazonal (Fig. 6F), resultou com que, possivelmente, menos energia fosse direcionada para formação de EROs.

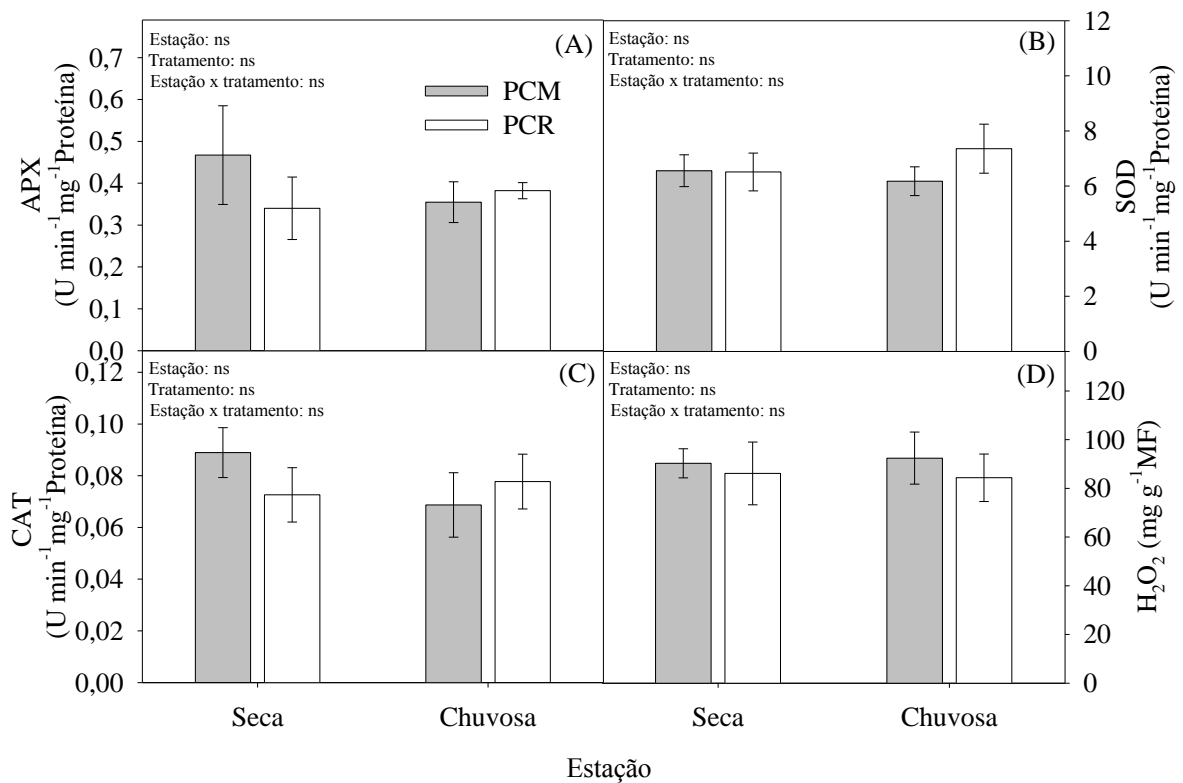


Figura 10: Atividade de enzimas (A) ascorbato peroxidase (APX), (B) superóxido desmutase (SOD), (C) Catalase (CAT) e concentrações de (D) peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em folíolos de plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM \blacksquare) e com cachos removidos (PCR \square). Legendas: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey (P < 0.05). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

Além dos mecanismos de dissipação energética e proteção enzimática, diversos metabólitos como a prolina, açúcares solúveis e pigmentos, podem estar associados à proteção antioxidante em folíolos de macaúba durante o déficit hídrico sazonal. Segundo Keunen et al. (2013) os açúcares também são capazes de proteger o cloroplasto e estabilizar a fotossíntese em condições estressantes, principalmente a família de oligossacarídeos da rafinose. Alguns trabalhos relatam que após a aplicação de estresses combinados, como seca e alta temperatura, o acúmulo de sacarose também pode proteger os componentes fotossintéticos (Rizhsky et al., 2004; Zandalinas et al., 2018). Aparentemente, a atividade enzimática antioxidante dessa espécie foi mantida estável nas condições aplicadas neste trabalho, o que significa que outros mecanismos podem ter auxiliado na manutenção da homeostase de EROs.

3.6 A remoção dos cachos em macaúba pode possibilitar incrementos no número de folhas e cachos para safra seguinte

A remoção total dos cachos em macaúba aumentou o número de cachos florais emitidos pelas PCR tanto na primeira (outubro/2016), quanto na segunda frutificação (outubro/2017), ambas ocorridas após o primeiro manejo dos cachos, sendo observado em PCM um número menor de cachos emitidos (Fig. 11). Segundo Paul e Pellny (2003), a produção de açúcares pode controlar o ciclo de vida foliar e exerce um papel significativo na inibição ou estimulação da senescência. Os ajustes vegetativos e reprodutivos da macaúba, ocasionados pela diminuição da força dreno, são semelhantes aos observados em dendê (Legros et al., 2009). Porém, este ajuste não aparenta ser uma característica unânime entre as espécies da família Arecaceae, não sendo, por exemplo, observada a mesma plasticidade em plantas de coqueiro com manipulação fonte-dreno (Mialet-Serra et al., 2008).

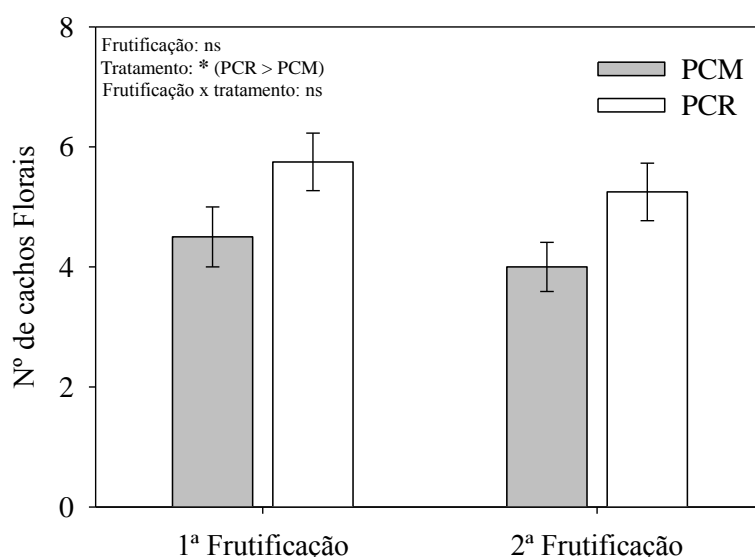


Figura 11: Número de cachos florais emitidos por plantas de macaúbas com cachos removidos (PCR □), e número de cachos florais emitidos por plantas com cachos mantidos (PCM ■), ambos quantificados durante a primeira (outubro a dezembro de 2016) e segunda frutificação (outubro a dezembro de 2017) ocorrida após o início do experimento. Legenda: (C = Chuvosa, S = seca), o símbolo * representa diferença significativa entre a média geral de fatores isolados segundo Teste Tukey ($P < 0.05$). Colunas representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições. Para mais detalhes vide figura 6.

Segundo Wardlaw (1990), em plantas perenes, principalmente frutíferas, uma elevada produtividade pode reduzir o crescimento vegetativo (novas folhas) que manterá a próxima safra, prejudicando assim a frutificação seguinte. Esta afirmação corrobora com os resultados observados na macaúba, onde a média geral de folhas de PCM foi menor que a média geral das folhas encontradas em PCR (Fig. 12).

Invariavelmente, palmeiras são consideradas espécies sempre-verdes, sendo geralmente limitadas pela disponibilidade de água e pela temperatura (Eiserhardt et al., 2011). Observou-se que, apesar da presença de folhas novas e maduras durante todo ano, a dinâmica de emissão de folhas na macaúba pode apresentar respostas significativas aos efeitos da sazonalidade (Fig. 12). Em ambos os tratamentos, o número de folhas tende a reduzir após a estação seca, sendo esta característica influenciada tanto pela redução da expansão foliar quanto pelo aumento da senescência da mesma. Evidentemente, este tipo de comportamento foi influenciado pelo déficit hídrico sazonal. Contudo, o maior número de folhas observadas nas PCR foi possibilitado pela maior disponibilidade de reservas, uma vez que os drenos reprodutivos foram removidos.

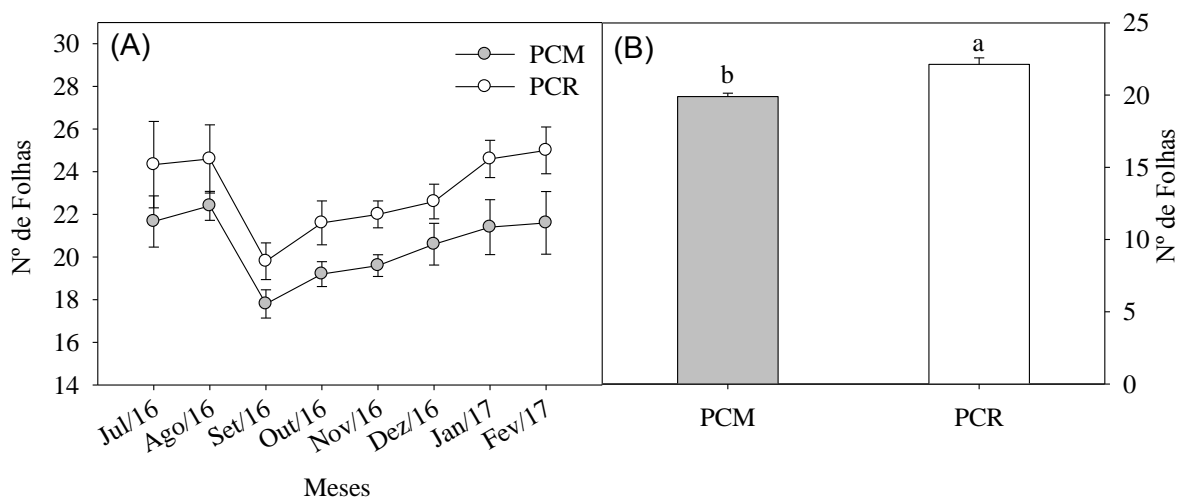


Figura 12: Número de folhas observadas ao longo dos meses (de julho de 2016 a fevereiro de 2017) (A), e média geral do número de folhas observadas nos tratamentos plantas de macaúbas com cachos mantidos (PCM \blacksquare) e com cachos removidos (PCR \square) (B). Letras minúsculas diferentes significam diferenças significativas pelo Teste Tukey ($P < 0.05$). Os dados representam as médias e as barras o erro padrão de cinco repetições.

A maior emissão de folhas em PCR corrobora com a maior emissão de estruturas reprodutivas. Uma vez que as inflorescências da macaúba surgem nas áreas interfoliares, principalmente entre as axilas de folhas maduras (Lorenzi, 2010), o número de folhas influencia diretamente a emissão de cachos nesta espécie. Observou-se em PCR aumento médio de 2 folhas por planta, o que conseqüentemente possibilitou também o aumento de cerca de 2 cachos por planta (Fig. 11 e 12).

4. CONCLUSÃO

(I) A macaúba é capaz de modular, principalmente, mecanismos de dissipação energética em resposta a diminuição da força dreno. Ademais, apesar da menor condutância estomática no período seco, não apresentou reduções na fixação de carbono, nem atividade fotoinibitória em virtude da remoção do dreno ou de sua interação com a sazonalidade.

(II) As trocas gasosas em macaúba são reguladas, principalmente, por fatores sazonais como a seca. No entanto, a espécie apresenta mecanismos eficientes que garantem sua sobrevivência, como eficiente controle estomático, aumento da eficiência no uso da água, manutenção dos conteúdos de água foliar e aumento de prolina.

(III) O aumento da concentração de amido em folíolos não resultou em retroinibição fotossintética na macaúba.

(IV) Em virtude da redução da demanda dos drenos reprodutivos, a espécie foi capaz de armazenar amido no estipe. O estabelecimento deste dreno transitório pode ter auxiliado na manutenção da atividade da maquinaria fotossintética e evitou danos por processos fotoinibitórios.

(V) O manejo da frutificação da macaúba, durante períodos de estresse que aumentam o abortamento de frutos, assim como durante as primeiras frutificações, pode fazer com que a planta aumente o número de folhas e cachos para a safra seguinte.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams WW, Muller O, Cohu CM, Demmig-Adams B (2013). May photoinhibition be a consequence, rather than a cause, of limited plant productivity? *Photosynthesis Research* 117: 31-44

Al-Khayri J, Al-Bahrany A (2004). Growth, water content, and proline accumulation in drought-stressed callus of date palm. *Biologia Plantarum* 48: 105-108

Alric J, Johnson X (2017). Alternative electron transport pathways in photosynthesis: a confluence of regulation. *Current Opinion in Plant Biology* 37: 78-86

Bicalho EM, Rosa BL, Souza AEd, Rios CO, Pereira EG (2016). Do the structures of macaw palm fruit protect seeds in a fire-prone environment? *Acta Botanica Brasilica* 30: 540-548

Bennett J, Jarvis P, Creasy GL, Trought MC (2005). Influence of defoliation on overwintering carbohydrate reserves, return bloom, and yield of mature Chardonnay grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 56: 386-393

Berton LHC, de Azevedo Filho JA, Siqueira WJ, Colombo CA (2013). Seed germination and estimates of genetic parameters of promising macaw palm (*Acrocomia aculeata*) progenies for biofuel production. *Industrial Crops and Products* 51: 258-266

Berton, LHC. 2013. Avaliação de populações naturais, estimativas de parâmetros genéticos e seleção de genótipos elite de macaúba (*Acrocomia aculeata*). Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas – SP, 154p.

Björkman O, Demmig B (1987). Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504

Blum A (1997). Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Wheat: Prospects for Global Improvement*. Springer, pp 135-141

Bora PS, Rocha R (2004). Macaiba palm: Fatty and amino acids composition of fruits. *CYTA-Journal of Food* 4: 158-162

Butler W, Kitajima M (1975). Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 376: 116-125

Cros D, Flori A, Nodichao L, Omoré A, Nouy B (2013). Differential response to water balance and bunch load generates diversity of bunch production profiles among oil palm crosses (*Elaeis guineensis*). *Tropical Plant Biology* 6: 26-36

Ciconini G, Favaro S, Roscoe R, Miranda C, Tapeti C, Miyahira M, Bearari L, Galvani F, Borsato A, Colnago L (2013). Biometry and oil contents of *Acrocomia aculeata* fruits from the Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Industrial Crops and Products* 45: 208-214

Cornic G (2000). Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture—not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* 5: 187-188

Dörken VM, Lepetit B (2018). Morpho-anatomical and physiological differences between sun and shade leaves in *Abies alba* Mill.(Pinaceae, Coniferales): a combined approach. *Plant, cell & Environment*

DaMatta FM, Cunha RL, Antunes WC, Martins SC, Araújo WL, Fernie AR, Moraes GA (2008). In field-grown coffee trees source–sink manipulation alters photosynthetic rates, independently of carbon metabolism, via alterations in stomatal function. *New Phytologist* 178: 348-357

Demmig-Adams B, Adams WW (2006). Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist* 172: 11-21

Demmig-Adams B, Stewart JJ, Adams WW (2017). Environmental regulation of intrinsic photosynthetic capacity: an integrated view. *Current Opinion in Plant Biology* 37: 34-41

Du Z, Bramlage WJ (1992). Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1566-1570

Duan W, Fan PG, Wang LJ, Li WD, Yan ST, Li SH (2008). Photosynthetic response to low sink demand after fruit removal in relation to photoinhibition and photoprotection in peach trees. *Tree Physiology* 28: 123-132

de Lanes ECM, de Almeida Costa PM, Motoike SY (2014). Alternative fuels: Brazil promotes aviation biofuels. *Nature* 511: 31

Eiserhardt WL, Svenning J-C, Kissling WD, Balslev H (2011). Geographical ecology of the palms (Arecaceae): determinants of diversity and distributions across spatial scales. *Annals of Botany* 108: 1391-1416

EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1979. 1v.

Fatichi S, Leuzinger S, Körner C (2014). Moving beyond photosynthesis: from carbon source to sink-driven vegetation modeling. *New Phytologist* 201: 1086-1095

Flexas J, Medrano H (2002). Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* 89: 183-189

Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, Galmés J, Henkle M, Martínez-Cañellas S, Medrano H (2006). Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytologist* 172: 73-82

Falasca S, Ulberich A, Pitta-Alvarez S (2017). Development of agroclimatic zoning model to delimit the potential growing areas for macaw palm (*Acrocomia aculeata*). *Theoretical and Applied Climatology* 129: 1321-1333

Goldschmidt EE, Huber SC (1992). Regulation of Photosynthesis by End-Product Accumulation in Leaves of Plants Storing Starch, Sucrose, and Hexose Sugars. *Plant Physiology* 99: 1443-1448

Genty B, Briantais J-M, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 990: 87-92

Goh C-H, Ko S-M, Koh S, Kim Y-J, Bae H-J (2012). Photosynthesis and environments: photoinhibition and repair mechanisms in plants. *Journal of Plant Biology* 55: 93-101

Gomes FP, Oliva MA, Mielke MS, de Almeida A-AF, Leite HG, Aquino LA (2008). Photosynthetic limitations in leaves of young Brazilian Green Dwarf coconut (*Cocos nucifera* L. 'nana') palm under well-watered conditions or recovering from drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 62: 195-204

Hayat S, Hayat Q, Alyemini MN, Wani AS, Pichtel J, Ahmad A (2012) Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling & Behavior* 7: 1456-1466

Hagedorn F, Joseph J, Peter M, Luster J, Pritsch K, Geppert U, Kerner R, Molinier V, Egli S, Schaub M (2016). Recovery of trees from drought depends on belowground sink control. *Nature Plants* 2: 16111

Havir EA, McHale NA (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* 84: 450-455

Herold A (1980). Regulation of photosynthesis by sink activity—the missing link. *New Phytologist* 86: 131-144

Huber S, Huber J, McMichael R (1992). The regulation of sucrose synthesis in leaves. Carbon partitioning within and between organisms. *Environmental Plant Biology Series*. Oxford: Bios Scientific Publishers: 1-26

Hurry V, Strand Å, Furbank R, Stitt M (2000). The role of inorganic phosphate in the development of freezing tolerance and the acclimatization of photosynthesis to

low temperature is revealed by the pho mutants of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 24: 383-396.

Jin R, Wang Y, Liu R, Gou J, Chan Z (2016). Physiological and metabolic changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in response to drought, heat, and combined stresses. *Frontiers in Plant Science* 6: 1123

Keunen E, Peshev D, Vangronsveld J, Van Den Ende W, Cuypers A (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, Cell & Environment* 36: 1242-1255

Körner C (2003). Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology* 91: 4-17

Kozłowski T (1992). Carbohydrate sources and sinks in woody plants. *The Botanical Review* 58: 107-222

Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE (2004). New fluorescence parameters for the determination of Q A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research* 79: 209-218

Lorenzi HJ (2010). *Flora brasileira: 'Arecaceae' (palmeiras)*. Instituto Plantarum

Lawlor DW, Cornic G (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment* 25: 275-294

Legros S, Mialet-Serra I, Clément-Vidal A, Caliman J-P, Siregar FA, Fabre D, Dingkuhn M (2009a). Role of transitory carbon reserves during adjustment to climate variability and source–sink imbalances in oil palm (*Elaeis guineensis*). *Tree Physiology* 29: 1199-1211

Legros, S., Mialet-Serra, I., Caliman, J. P., Siregar, F. A., Clément-Vidal, A., Fabre, D., & Dingkuhn, M. (2009b).. Phenology, growth and physiological adjustments of oil palm (*Elaeis guineensis*) to sink limitation induced by fruit pruning. *Annals of Botany*, 104(6), 1183-1194.

Li WD, Duan W, Fan PG, Yan ST, Li SH (2007). Photosynthesis in response to sink-source activity and in relation to end products and activities of metabolic enzymes in peach trees. *Tree Physiology* 27: 1307-1318

Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592

Mialet-Serra I, Clément A, Sonderegger N, Roupsard O, Jourdan C, Labouisse J-P, Dingkuhn M (2005). Assimilate storage in vegetative organs of coconut (*Cocos nucifera*). *Experimental Agriculture* 41: 161-174

Mialet-Serra I, Clément-Vidal A, Roupsard O, Jourdan C, Dingkuhn M (2008). Whole-plant adjustments in coconut (*Cocos nucifera*) in response to sink–source imbalance. *Tree Physiology* 28: 1199-1209

ML CK (2013). Growth controls photosynthesis—mostly. *Nova Acta Leopoldina* NF 114: 273-283

Mondal MH, Brun WA, Brenner ML (1978). Effects of sink removal on photosynthesis and senescence in leaves of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Plant Physiology* 61: 394-397

Montoya SG, Motoike SY, Kuki KN, Couto AD (2016). Fruit development, growth, and stored reserves in macauba palm (*Acrocomia aculeata*), an alternative bioenergy crop. *Planta* 244: 927-938

Motoike S, Lopes F, Sá Júnior A, Carvalho M, Oliveira M (2007). Processo de germinação e produção de sementes pré-germinadas de palmeiras do gênero *Acrocomia*. Patente: Submetido à Lei de Patentes. Protocolo INPI 1185103447

Motoike S, Kuki K (2009). The Potential of Macaw Palm (*Acrocomia aculeata*) as Source of Biodiesel in Brazil. *International Review of Chemical Engineering* 1: 632-635

Muller B, Pantin F, Génard M, Turc O, Freixes S, Piques M, Gibon Y (2011). Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany* 62: 1715-1729

Mota CS, Cano MAO (2016). Matter accumulation and photosynthetic responses of macaw palm to cyclical drought. *Revista Caatinga* 29: 850-858

Melis A, Spangfort M, Andersson B (1987). Light-absorption and electron-transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology* 45: 129-136

Niyogi KK (2017). Editorial overview: Physiology and metabolism: Light responses from photoreceptors to photosynthesis and photoprotection. *Current Opinion in Plant Biology* 37: iv

Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880

Oliveira MAJd, Bovi MLA, Machado EC, Gomes MMdA, Habermann G, Rodrigues JD (2002). Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. *Scientia Agricola*: 59-63

Ort DR, Baker NR (2002). A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? *Current Opinion in Plant Biology* 5: 193-198

Plaxton WC, Podestá FE (2006). The functional organization and control of plant respiration. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 159-198

Paul MJ, Foyer CH (2001). Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52: 1383-1400

Paul MJ, Pellny TK (2003). Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* 54: 539-547

Pires TP, dos Santos Souza E, Kuki KN, Motoike SY (2013). Ecophysiological traits of the macaw palm: a contribution towards the domestication of a novel oil crop. *Industrial Crops and Products* 44: 200-210

Roden JS, Ball MC (1996). The effect of elevated [CO₂] on growth and photosynthesis of two eucalyptus species exposed to high temperatures and water deficits. *Plant Physiology* 111: 909-919

Rivas F, Gravina A, Agustí M (2007). Girdling effects on fruit set and quantum yield efficiency of PSII in two Citrus cultivars. *Tree Physiology* 27: 527-535

Rizhsky L, Liang H, Shuman J, Shulaev V, Davletova S, Mittler R (2004). When defense pathways collide. The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology* 134: 1683-1696

Rossatto DR, Takahashi FSC, Silva LdCR, Franco AC (2010). Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil

Szabados L, Savoure A (2010) Proline: a multifunctional amino acid. Trends in plant science 15: 89-97

Santiago LS, Mulkey SS (2003). A test of gas exchange measurements on excised canopy branches of ten tropical tree species. Photosynthetica 41: 343-347

Sala A, Fouts W, Hoch G (2011). Carbon storage in trees: does relative carbon supply decrease with tree size? Size-and age-related changes in tree structure and function. Springer, pp 287-306

Silpi U, Lacoite A, Kasempap P, Thanysawanyangkura S, Chantuma P, Gohet E, Musigamart N, Clément A, Améglio T, Thaler P (2007). Carbohydrate reserves as a competing sink: evidence from tapping rubber trees. Tree Physiology 27: 881-889

Silva PA, Oliveira IV, Kátia C, Rodrigues B, Cosme VS, Abel J, Bastos R, Kelly S, Detmann C, Cunha RL (2016). Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm hybrids. Trees 30: 203

Stitt M (1991). Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. Plant, Cell & Environment 14: 741-762

Stitt M, Lilley RM, Gerhardt R, Heldt HW (1989). Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. Methods in Enzymology 174: 518-552

Stitt M, Zeeman SC (2012). Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. Current Opinion in Plant Biology 15: 282-292

Suresh K, Nagamani C, Ramachandrudu K, Mathur R (2010). Gas-exchange characteristics, leaf water potential and chlorophyll a fluorescence in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under water stress and recovery. Photosynthetica 48: 430-436

Urban L, Léchaudel M, Lu P (2004). Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. Journal of Experimental Botany 55: 2075-2085

Urban L, Alphonsout L (2007). Girdling decreases photosynthetic electron fluxes and induces sustained photoprotection in mango leaves. *Tree Physiology* 27: 345-352

Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66

Wandeck F, Justo P (1982). A macauba, fonte energetica e insumo industrial: sua significacao economica no Brasil. 6. Simposio sobre o Cerrado Brasilia, DF (Brazil). 4-8 Oct 1982.

Wardlaw IF (1990). Tansley Review No. 27 The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist* 116: 341-381

Woodruff DR, Meinzer FC (2011). Water stress, shoot growth and storage of non-structural carbohydrates along a tree height gradient in a tall conifer. *Plant, Cell & Environment* 34: 1920-1930

Wünsche JN, Greer DH, Laing WA, Palmer JW (2005). Physiological and biochemical leaf and tree responses to crop load in apple. *Tree Physiology* 25: 1253-1263

Zandalinas SI, Mittler R, Balfagón D, Arbona V, Gómez-Cadenas A (2018). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum* 162: 2-12