



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

HUGO ROLDI GUARIZ

Respostas ecofisiológicas de mudas de espécies
arbóreas a estresses abióticos e a doadores de
óxido nítrico

Londrina
2023

HUGO ROLDI GUARIZ

Respostas ecofisiológicas de mudas de espécies
arbóreas a estresses abióticos e a doadores de
óxido nítrico

Tese apresentada à Universidade
Estadual de Londrina - UEL, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira

Londrina
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

G915r Guariz, Hugo Roldi.
Respostas ecofisiológicas de mudas de espécies arbóreas a estresses abióticos e a doadores de óxido nítrico / Hugo Roldi Guariz. - Londrina, 2023.
163 f. : il.

Orientador: Halley Caixeta de Oliveira.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.
Inclui bibliografia.

1. Nanotecnologia - Tese. 2. *Amburana cearensis* - Tese. 3. *Hymenaea courbaril* - Tese. 4. *Hymenaea stigonocarpa* - Tese. I. Oliveira, Halley Caixeta de . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

HUGO ROLDI GUARIZ

Respostas ecofisiológicas de mudas de espécies
arbóreas a estresses abióticos e a doadores de
óxido nítrico

Tese apresentada à Universidade
Estadual de Londrina - UEL, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Cristiano Medri
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Ricardo Tadeu de Faria
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcelo Henrique Savoldi Picoli
Centro Universitário Integrado

Prof^a. Dr^a. Felizarda Viana Bebé
Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia Baiano – IF Baiano

Londrina, 11 de Dezembro de 2023.

DEDICATÓRIA

Mãe!
Palavras, eu não acho.
Nenhum poema diz
o que é que eu realmente penso.
Poeta algum
jamais verbalizou minha experiência.
Ser teu filho é uma aventura única.
E eu simplesmente
não consigo traduzi-la em palavras.

Mas teu coração entende.
É quando fico sem jeito,
engasgo e me atropelo,
e te mando um cartão e algumas flores.

É quando o beijo sai desengonçado,
o abraço, meio mais ou menos,
e o olhar envergonhado,
porque amo e não sei como dizer.

É bem nessa hora que eu já disse tudo...
Ser teu filho é uma aventura intraduzível.
Simplesmente, é bom demais, mãe.

Te amo do meu jeito imperfeito,
mas te amo muito.
(Pe. Zezinho)

Dedico essa conquista e todo meu esforço em memória de minha mãe, Maria Nazaret Roldi Guariz. Sua presença sempre será sentida. Para sempre em meu coração, sua luz continua a brilhar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força a mim concedida, por sustentar minha fé e ser presente em todas as ocasiões, transformando todos os momentos difíceis em momentos de tranquilidade e reflexão.

Ao meu orientador Halley Caixeta de Oliveira, por todo conhecimento transmitido, colaboração, confiança, amizade e empatia. Sua dedicação fez toda a diferença.

Ao meu Amor, Leandro Flores, que sempre foi meu encorajador, uma das principais fontes de ânimo, estímulo e incentivo. Sonhar ao seu lado só meu deu forças para chegar ao final do Doutorado e concretizar essa laborosa jornada.

À Universidade Estadual de Londrina – UEL, em especial ao programa de Pós-graduação em Agronomia, que me concedeu todos os meios para execução da minha pesquisa.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IF Baiano, pela oportunidade de conceder meu afastamento das atividades docentes e seguir na busca, por anos, do tão sonhado título de doutor em Agronomia.

Aos Coordenadores e funcionários vinculados ao Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas – LABRE, pelo apoio contínuo para a execução desta pesquisa.

Aos meus amigos do Laboratório de Fisiologia vegetal, pela parceria nas tarefas de campo, análises laboratoriais e também pelos simples momentos de descontração e conversas.

Aos amigos Gabriel, Jean, Laura, Gianne, Juliana, Ana, Kauê e Júnior. Mantivemos apoio emocional, intelectual e juntos superamos diversos obstáculos.

Esta pesquisa foi financiada por meio da chamada conjunta BiodivERsA 2019-2020 para propostas de pesquisa, sob o programa BiodivClim ERA-Net COFUND, e com as agências de fomento Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Agência Nacional da Pesquisa (França) e Ministério Federal da Educação e da Pesquisa (Alemanha) - “This research was funded through the 2019-2020 BiodivERsA joint call for research proposals, under the BiodivClim ERA-Net COFUND programme, and with the funding organisations Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Agence Nationale de la Recherche (France) and Federal Ministry of Education and Research (Germany)”.

Guariz, Hugo Roldi. **Respostas ecofisiológicas de mudas de espécies arbóreas a estresses abióticos e a doadores de óxido nítrico**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 166 p., 2023.

Resumo geral

Diante dos crescentes desmatamentos nos biomas brasileiros, os plantios florestais emergem como uma estratégia essencial para mitigar os impactos adversos e promover um equilíbrio ambiental. Face a este cenário, a implementação de técnicas inovadoras de plantios florestais surge como uma necessidade premente para mitigar os efeitos adversos dos ambientes degradados, como o excesso de luz incidente, reserva hídrica incipiente no solo, redução da capacidade nutricional do solo e da alteração microclimática gerados por esses danos ambientais. Dentre as técnicas utilizadas a rustificação de plantas, que visa favorecer seu estabelecimento e desenvolvimento após o plantio, associada com a utilização de óxido nítrico, propicia o desenvolvimento de características e mecanismos de proteção pelas plantas, sendo essa uma molécula sinalizadora importante sob condições de estresses. Diversos trabalhos demonstram a eficiência do NO na indução de resposta nas plantas contra estresses abióticos como seca, salinidade, luminosidade e temperaturas extremas. No entanto, pelo fato do NO ser gasoso, sua aplicação direta envolve limitações, principalmente de instabilidade desse composto, assim, a entrega de NO é principalmente mediada por moléculas doadoras. Nesse cenário, uma estratégia promissora é o aprisionamento de doadores de NO em nanomateriais, formando as nanopartículas, evitando assim a degradação desses doadores pelos efeitos abióticos, favorecendo uma liberação controlada de NO, ampliando seu período de ação e viabilizando sua aplicação em condições de campo. Assim, com o intuito de melhorar a qualidade de mudas usadas em reflorestamentos e plantios comerciais, os objetivos deste trabalho foram: i) analisar as respostas de mudas de *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa* sob o regime de diferentes regimes de luz; ii) analisar as respostas de mudas de *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa* submetidas ao processo de rustificação sob sol pleno sob a adição de S-nitrosoglutatona (GSNO) na forma livre e nanoencapsulada; iii) avaliar o comportamento de *Amburana cearensis* e *Hymenaea courbaril* numa simulação de reflorestamento, com plantio em campo sob tratamento de GSNO na forma nanoencapsulada, livre e a nanocápsula sem o ativo e verificar o efeito desses tratamentos na aclimação destas mudas aos diversos estresses pós-plantio; iiiii) avaliar os efeitos de diferentes concentrações de ácido mercaptosuccínico (MSNO) no desenvolvimento inicial de *Khaya grandifoliola* sob estresse hídrico. Os objetivos foram investigados por meio da avaliação de parâmetros morfológicos e fisiológicos e das mudas. Com a rustificação, as mudas de *H. courbaril*, *H. stigonocarpa* e *A. cearensis* apresentaram melhor qualidade e maiores condições de estabelecimento em campo quando produzidas em condições de sol pleno pelo fato de mostrarem habilidade para conciliar o crescimento e o investimento em atributos adaptativos sob condições de alta radiação conforme o índice de qualidade de Dickson, como também maiores valores de densidade estomática, espessura foliar, eficiência no uso da água, taxa assimilatória líquida, taxa de crescimento relativo, massa

seca, área foliar e crescimento em diâmetro. O sombreamento intenso foi a condição que mais limitou o crescimento das mudas respondendo com o maior percentual de mortalidade para as três espécies. *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* tiveram crescimento em altura e diâmetro favorecidos para os ambientes mais ensolarados, *A. cearensis* sofreu estiolamento, formando maior altura e menor diâmetro para o ambiente mais sombreado. Na tomada de decisão sobre o ambiente a utilizar cada espécie, devem ser considerados os parâmetros que refletem um crescimento em parte aérea e raiz consolidado com o incremento das variáveis fisiológicas. Ao analisar o efeito da utilização de doador de NO, na forma livre e encapsulada em nanocápsulas poliméricas de quitosana, na aclimação destas mesmas espécies, verificamos que para *H. stigonocarpa*, os tratamentos com GSNO livre ou nanoencapsulado não diferiram entre si, diferindo apenas do tratamento testemunha ao analisar as variáveis fisiológicas e de crescimento. *Hymenaea courbaril* teve comportamento semelhante em relação às variáveis de crescimento, porém em análise das variáveis fisiológicas, somente os tratamentos NP-CS-GSNO 0,1 e 0,2 mM diferiram dos demais tratamentos. *Amburana cearensis* manteve comportamento semelhante aos jatobás, tendo praticamente diferença apenas no tratamento testemunha em relação aos demais. Para as variáveis fisiológicas a concentração 0,2 mM NP-CS-GSNO apresentou melhor desempenho para condutância estomática e para a fotossíntese, diferindo-se apenas da testemunha. Assim, o GSNO, doador de NO utilizado na forma livre e nanoencapsulada apresenta efeitos fisiológicos benéficos quando disponibilizado para espécies florestais nativas brasileiras, como *H. stigonocarpa*, *H. courbaril* e *A. cearensis*, desencadeando atividades de proteção e incremento no que tange a fotossíntese, condutância estomática e formação de biomassa. Dessa forma, sabendo do comportamento em viveiro com a suplementação de NO, analisamos o desenvolvimento inicial de *H. courbaril* e *A. cearensis* em campo, numa simulação de reflorestamento ambiental. Testamos a aplicação de GSNO-CS-NPs, com as nanopartículas de quitosana sem o ativo e GSNO livre, todos na concentração de 200 µM. Os melhores resultados foram observados para o tratamento com GSNO-CS-NPs, que resultou em melhor desempenho fisiológico das mudas, observado através de avaliações de fotossíntese, condutância estomática e atividade do fotossistema II. O tratamento com GSNO ocasionou menor mortalidade das mudas, apesar de os parâmetros de crescimento não terem sido afetados. Dessa forma, os resultados sugerem que a aplicação de GSNO-CS-NPs é uma estratégia promissora para proporcionar maior tolerância de mudas ao estresse pós-plantio. Por fim, testamos o efeito de dosagens do doador de NO ácido S-nitrosomercaptosuccínico (MSNO) nas dosagens de 0; 0,1; 0,2 e 0,4 mM em plantas de *Khaya grandifoliola* sob estresse hídrico severo. Ao final, concluímos que a dosagem de 0,2 mM de MSNO foi capaz de promover maior tolerância às plantas de *K. grandifoliola* ao déficit hídrico severo, promovendo também a maior sobrevivência das plantas, desempenho fisiológico adequado, com maiores valores de transpiração, eficiência no uso da água, conteúdo relativo de água e condutância de água. De forma geral, os resultados desta tese indicam que o processo de aclimação estimulou diferentes respostas entre as espécies estudadas, mostrando as limitações de cada espécie de se aclimatar às novas condições de luminosidade. Além disso, a suplementação de NO com seus respectivos doadores, seja na forma livre ou nanoencapsulada, favoreceu o desenvolvimento de características

de tolerância ao processo de rustificação à alta irradiância, aos estresses pós-plantio e ao estresse hídrico severo.

Palavras-chave: nanotecnologia, *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Khaya grandifoliola*.

Guariz, Hugo Roldi. **Ecophysiological responses of tree species seedlings to abiotic stresses and nitric oxide donors**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 166 p., 2023.

Abstract

Faced with increasing deforestation in Brazilian biomes and forest fires, forest plantations emerge as an essential strategy to mitigate adverse impacts and promote environmental balance. Given this scenario, the implementation of innovative techniques of forest plantations emerges as a pressing need to mitigate the adverse effects of degraded environments, such as excess incident light, incipient water reserve in the soil, the nutritional capacity of the soil and the microclimatic alteration generated by these environmental damages. Among the techniques used the rustification of plants, which aims to promote their establishment and development after planting, associated with the use of nitric oxide, promotes the development of characteristics and mechanisms of protection by plants, signaling molecule under stressful conditions. Several studies demonstrate the efficiency of NO in inducing response in plants against abiotic stresses such as drought, salinity, luminosity and extreme temperatures. However, because NO is gaseous, its direct application involves limitations, mainly of instability of this compound, thus, the delivery of NO is mainly mediated by donor molecules. In this scenario, a promising strategy is the trapping of NO donors in nanomaterials, forming the nanoparticles, thus avoiding the degradation of these donors by abiotic effects, favoring a controlled release of NO, extending its period of action and enabling its application in field conditions. Thus, in order to improve the quality of seedlings used in reforestation and commercial plantings, the objectives of this work were: i) to analyze the responses of seedlings of *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* and *Hymenaea stigonocarpa* under the regime of different light regimes; ii) analyse the responses of seedlings of *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* and *Hymenaea stigonocarpa* submitted to the rustification process under full sun under the addition of S-nitrosoglutathione (GSNO) in free and nanoencapsulated form; iii) evaluate the behavior of *Amburana cearensis* and *Hymenaea courbaril* in a reforestation simulation, with field planting under GSNO treatment in nanoencapsulated form, free and nanocapsule without the active and verify the effect of these treatments on the acclimation of these seedlings to the various post-planting stresses; iiiii) evaluate the effects of different concentrations of mercaptosuccinic acid (MSNO) development of *Khaya grandifoliola* under water stress. The objectives were investigated through the evaluation of morphological and physiological parameters and seedlings. With rustification, the seedlings of *H. courbaril*, *H. stigonocarpa* and *A. cearensis* showed better quality and higher conditions of establishment in the field when produced in full sun conditions because they show ability to reconcile growth and investment in adaptive attributes under high conditions radiation according to the Dickson quality index, as well as higher values of stomatal density, leaf thickness, water use efficiency, net assimilation rate, relative growth rate, dry mass, leaf area and diameter growth. The intense shading was the condition that most limited the growth of seedlings responding with the highest percentage of mortality for the three species. *Hymenaea*

courbaril and *H. stigonocarpa* had increased in height and diameter favored for the sunnier environments, *A. cearensis* suffered stretching, forming greater height and smaller diameter for the shadier environment. In decision making about the environment to be used by each species, the parameters that reflect a growth in shoot and root consolidated with the increase of physiological variables should be considered. When analyzing the effect of the use of NO donor, in free form and encapsulated in chitosan polymeric nanocapsules, in the acclimatization of these same species, we found that for *H. stigonocarpa*, treatments with free or nanoencapsulated GSNO did not differ between differing only from the witness treatment when analyzing the physiological and growth variables. *Hymenaea courbaril* had similar behavior in relation to growth variables, but in the analysis of physiological variables, only the treatments NP-CS-GSNO 0.1 and 0.2 mM differed from the other treatments. *Amburana cearensis* maintained behavior similar to Jatobás, having practically difference only in the witness treatment in relation to the others. For the physiological variables the concentration 0.2 mM NP-CS-GSNO presented better performance for stomatal conductance and for photosynthesis the treatments with GSNO differed only from the control. Thus, the GSNO, NO donor used in the free and nanoencapsulated form has beneficial physiological effects when available to native Brazilian forest species, such as *H. stigonocarpa*, *H. courbaril* and *A. cearensis*, activities and increase in relation to photosynthesis, stomatal conductance and biomass formation. Thus, knowing the behavior in nursery with NO supplementation, we analyzed the initial development of *H. courbaril* and *A. cearensis* in the field, in a simulation of environmental reforestation. We tested the application of GSNO-CS-nps, with chitosan nanoparticles without the active and free GSNO, all at 200 μ M concentration. The best results were observed for the treatment with GSNO-CS-nps, which resulted in better physiological Stomatal conductance and photosystem II activity. Treatment with GSNO caused lower seedling mortality, although growth parameters were not affected. Thus, the results suggest that the application of GSNO-CS-nps is a promising strategy to provide greater tolerance of seedlings to post-planting stress. Finally, we tested the effect of S-nitroso-mercaptopuccinic acid (MSNO) donor dosages of 0; 0.1; 0.2 and 0.4 mM in *Khaya grandifoliola* plants under severe water stress. At the end, we concluded that the dosage of 0.2 mM of MSNO was able to promote greater tolerance to plants of *K. grandifoliola* to severe water deficit, also promoting greater plant survival, adequate physiological performance, with higher values of transpiration, efficiency in water use, relative water content and water conductance. In general, the results of this thesis indicate that the acclimatization process stimulated different responses between the studied species, showing the limitations of each species to acclimatize to the new light conditions. In addition, the supplementation of NO with their respective donors, either free or nanoencapsulated, favored the development of characteristics of tolerance to the rustification process to high irradiance, post-planting stresses and severe water stress.

Keywords: nanotechnology, *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Khaya grandifoliola*.

SUMÁRIO

Resumo geral.....	1
Abstract.....	4
1. Introdução	6
2. Revisão de Literatura.....	8
2.1 CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES FLORESTAIS DE INTERESSE	8
2.1.1 <i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A. C. Sm.....	8
2.1.2 <i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne e <i>Hymenaea courbaril</i> L.	10
2.1.3 <i>Khaya grandifoliola</i> C. DC.....	14
2.2 ÓXIDO NÍTRICO E SEUS DOADORES MAIS USUAIS	17
3. Referências Bibliográficas	22
4. Objetivos e hipóteses	29

Capítulo 1: Aclimação de mudas de espécies florestais nativas do Brasil a diferentes regimes de luminosidade

Resumo	30
1. Introdução	31
2. Material e métodos	33
2.1 Espécies florestais e produção de mudas	33
2.2 Mensurações morfoanatômicas e fisiológicas	34
2.2.1 Espessura dos tecidos foliares e densidade estomática	34
2.2.2 Quantificação dos teores de clorofila	34
2.2.3 Medições de trocas gasosas e Curva de resposta da fotossíntese à luz	34
2.2.4 Medições de fluorescência da clorofila	35
2.2.5 Medições de crescimento e de qualidade de plantas	35
2.2.6 Análise estatística	36
3. Resultados	37
4. Discussão	54
5. Conclusão.....	66
6. Referências Bibliográficas	67

Capítulo 2: Efeito do doador de óxido nítrico livre e nanoencapsulado na resposta de plantas arbóreas em seu processo de rustificação

Resumo	75
1. Introdução	75
2. Material e métodos	78
2.1 Preparação das mudas arbóreas	78
2.2 Preparação das nanocápsulas (NPs) e dos tratamentos	79
2.3 Parâmetros fisiológicos avaliados	80
2.4 Parâmetros de crescimento	81
2.5 Análise Estatística	81

3. Resultados.....	81
4. Discussão	90
5. Conclusão	95
6. Referências Bibliográficas.....	95
Capítulo 3: Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa melhoram o desempenho morfofisiológico de mudas de espécies arbóreas após o plantio no campo	99
Resumo	99
1. Introdução	99
2. Material e métodos	101
2.1 Espécies florestais e produção de mudas	101
2.2 Caracterização da área	102
2.3 Preparação das nanopartículas (NPs)	106
2.4 Análise temporal e definição dos tratamentos	107
2.5 Parâmetros fisiológicos analisados	107
2.6 Parâmetros de crescimento	108
2.7 Análise estatística	108
3. Resultados.....	109
4. Discussão	115
5. Conclusão	121
6. Referências Bibliográficas.....	121
Capítulo 4: Efeito do tratamento com doador de óxido nítrico na fisiologia de mudas de mogno africano (<i>Khaya grandifoliola</i> C. DC) sob déficit hídrico	126
Resumo	126
1. Introdução	126
2. Material e métodos	130
3. Resultados.....	134
4. Discussão	146
5. Conclusão.....	157
6. Referências Bibliográficas.....	157
Considerações Finais.....	163

1. INTRODUÇÃO

O processo de desmatamento em áreas florestais levou à formação de fragmentos isolados que funcionam como ilhas de matas cercadas por habitats não reflorestados, transformando grandes áreas de florestas em paisagens mosaico. Esse cenário levou à transformação de paisagens dominadas por floresta em áreas totalmente ocupadas por atividades antrópicas, o que resultou em paisagens compostas por fragmentos pequenos e altamente isolados, rodeados por matrizes inóspitas.

A fragmentação da cobertura vegetal favorece a erosão dos solos e assoreamento dos rios, facilidades para a atividade de caça, aumento da susceptibilidade ao fogo e perda de espécies por meio da destruição de seu habitat, redução do tamanho da população, inibição ou redução da migração, alteração microclimática pelo efeito de borda e invasão de espécies exóticas nas áreas circundantes e no interior do fragmento. Por esse motivo, entender as consequências da fragmentação florestal para a conservação dos animais e das plantas é hoje uma das maiores prioridades da biologia da conservação.

Diante desse panorama, a produção de espécies florestais para a recomposição da reserva legal (RL) e das áreas de preservação permanente (APP) ganhou grande importância, principalmente após a publicação do novo Código Florestal Brasileiro (Lei nº 12. 651 de 25 de maio de 2012), com a busca por estratégias para ampliar a oferta de sementes e mudas necessárias para que os proprietários rurais programem ações de recuperação da vegetação nativa.

Práticas de reflorestamento destinadas à recuperação ou à restauração exigem mudas de boa qualidade, com o desenvolvimento de técnicas que garantam a boa germinação das sementes e a formação inicial da parte aérea e do sistema radicial das plantas. Para tanto, as condições ambientais devem ser adequadas ao crescimento de cada espécie, possibilitando que as mudas sobrevivam e apresentem altos índices de crescimento, quando levadas às condições de campo. No entanto, em qualquer lugar que as plantas cresçam, elas estarão sujeitas às condições de múltiplos estresses, os quais limitarão seu desenvolvimento e suas chances de sobrevivência.

Para superar todas essas condições desfavoráveis que ocorrem sazonalmente, é necessário que as plantas adquiram um grau de plasticidade ideal, ou seja, expressar características morfológicas e fisiológicas em resposta às condições ambientais, o que se denomina aclimação, que é o processo pelo qual as plantas produzidas em condições controladas são transferidas para um ambiente sujeito à

variabilidade ambiental encontrada no campo. As plantas devem ser paulatinamente submetidas a essas condições, de forma que elas não sofram estresses que possam culminar em danos profundos ou mortalidade.

É de considerável importância conhecer as respostas ecofisiológicas das mudas de espécies arbóreas, nativas ou exóticas, durante essa fase de aclimação. Isso pode dizer muito sobre a qualidade das mudas e, conseqüentemente, sobre a sobrevivência dessas mudas no campo. Isso precisa ser feito para mudas nativas de diferentes biomas, uma vez que elas apresentam características ecológicas muito distintas.

Nesse sentido, além de conhecer as respostas ecofisiológicas associadas à aclimação, o desenvolvimento de técnicas que promovam estratégias adaptativas das espécies florestais é fundamental para a sobrevivência e o sucesso do desenvolvimento de uma planta crescendo em uma condição específica. Assim, a aplicação de liberadores de óxido nítrico induz a aclimação de plantas aos mais variados estresses, sendo luminoso, salino, hídrico e de contaminação química, funcionando como um agente indutor de tolerância. Isso devido às suas propriedades particulares, têm sido considerado uma molécula sinalizadora importante sob condições de estresses (FARNESE *et al.*, 2016).

Dessa forma, o NO atua como uma importante molécula sinalizadora em uma variedade de processos fisiológicos nas plantas, incluindo germinação de sementes, homeostase do ferro, funcionalidade mitocondrial, formação de raízes adventícias, morte celular programada, florescimento e fechamento estomático (GOMES, 2019).

Pelo fato do NO ser gasoso, sua aplicação direta envolve limitações, principalmente de segurança e instabilidade desses compostos. Assim, em aplicações biotecnológicas, a entrega de NO é principalmente mediada por moléculas doadoras. A taxa de liberação de NO é mediada pela estrutura química do próprio doador e pelo ambiente químico, incluindo pH, luz, temperatura e reações enzimáticas (MARVASI, 2016). Nesse cenário, uma estratégia promissora é o aprisionamento de doadores de NO em nanomateriais, formando as nanopartículas.

As nanopartículas desempenham um papel significativo na proteção de plantas contra vários fatores de estresse abiótico. Elas têm se mostrado eficientes no controle de EROS, na proteção do aparato fotossintético e melhoria da fotossíntese, aumentando os mecanismos de defesa das plantas, reprimindo estresse oxidativo e osmótico e, melhorando a percepção e / ou amplificação da expressão de genes que

contribuem para aumentar a resposta ao estresse. No entanto, curiosamente, vários materiais podem levar a sintomas de toxicidade, em particular quando aplicados em concentrações mais altas, podendo causar estresse oxidativo, declínio na taxa de germinação, no comprimento da raiz e do caule e nos rendimentos das colheitas (IOANNOU *et al.*, 2020). Ainda assim, a nanotecnologia é considerada a abordagem mais promissora para melhorar a tolerância das plantas ao estresse abiótico (TANVEER *et al.*, 2020).

Dessa forma, a presente pesquisa visou realizar uma análise das respostas ecofisiológicas de mudas de espécies arbóreas de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, *Hymenaea courbaril* L., *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm. e *Khaya grandifoliola* C. DC. a diferentes estresses abióticos, verificando a potencial aplicação de diferentes doadores de NO, livres e nanoencapsulados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES FLORESTAIS DE INTERESSE

2.1.1 *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm.

Amburana cearensis (Allemão) A. C. Sm. pertence a família Fabaceae e sua ocorrência pode ser observada em praticamente toda América do Sul (do Peru à Argentina), sendo uma espécie nativa do bioma Caatinga, ocorrendo também no bioma Mata Atlântica e cerrado, nas regiões nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte), norte (Tocantins), Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso do Sul) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) (CANUTO; ROCHA, 2006).

É considerada uma espécie pioneira, sendo adequada para restauração de matas ciliares. Sua propagação é feita exclusivamente por sementes e por sua grande importância econômica para a região Nordeste, a espécie tem sido amplamente extraída, sendo suas populações naturais reduzidas drasticamente, estando hoje na lista das espécies ameaçadas de extinção, na categoria em perigo (LOREIRO *et al.*, 2013).

Apresenta-se como uma árvore frondosa, que pode atingir até 15 m de altura, com flores brancas, vagem achatada e casca do caule vermelho-pardacenta, cujo agradável odor é conferido pela cumarina. Suas sementes são pretas, aladas, ortodoxas e exalam forte cheiro de cumarina (semelhante à baunilha). No Nordeste, o período de

floração ocorre no início da estação seca, entre maio e julho, e a frutificação se dá de agosto a outubro.

Trata-se de uma espécie heliófila, seletiva halófila e xerófila, caducifólia, com sistema de polinização por melitofilia e síndrome de dispersão anemocórica. Pode tolerar a sombra em algumas situações de regeneração sob dossel de mata, sendo tolerante à seca e não tolerante a geada. É característica de afloramentos calcários e terrenos secos em matas decíduas. As plântulas de *A. cearensis* desenvolvem uma hipertrofia subterrânea, denominada xilopódio, que contribui para a reserva de água e de nutrientes necessários para o desenvolvimento da espécie, nos primeiros anos de vida.

CANUTO *et al.* (2008) relatam que a tuberosidade da raiz se constitui numa estratégia adaptativa, conferindo à planta um alto poder de rebrotamento, em caso de danos à parte aérea. O xilopódio apresenta-se carnoso, napiforme e de coloração vermelha ou amarela parda. O caule jovem exibe-se cilíndrico, verde-escuro, com densa pilosidade esbranquiçada e provido de folhas alternas, imparipenadas e pecioladas.

CAMPOS *et al.* (2013) apontam que toda a coleta da planta para as diversas finalidades de uso, ainda é realizada por meio do extrativismo, que atualmente pode ser classificado como predatório. A comercialização das sementes e cascas do caule pode ser observada com frequência, em feiras livres de diversos municípios localizados no semiárido nordestino, o que contribui para a redução de populações de ocorrência natural, uma vez que impede a propagação natural da espécie.

Conforme CORADIN *et al.* (2018), sua madeira é empregada para os mais diversos usos, especialmente para marcenaria, mobiliário fino, esculturas, caixotaria, construção civil, lambris, forros, esquadrias, carpintaria, taboados e para a fabricação de barris para o armazenamento e envelhecimento de bebidas. Na medicina veterinária, é utilizada como vermífugo de animais domésticos; no paisagismo, é utilizada na arborização de parques; e em sistemas agroflorestais pode ser usada como quebra vento e faixas verdes entre plantações para auxiliar na atração de polinizadores, sendo também considerada como uma planta apícola. Também explorada devido à produção de óleos voláteis e na fabricação de doces, biscoitos, cigarros, tabacos, sabões, sabonetes e como fixador de perfumes. É doadora de pólen e néctar e apresenta valor forrageiro, sendo suas vagens e folhas consumidas por caprinos.

É utilizada popularmente no tratamento de doenças, sendo as cascas do caule e as sementes usadas sob a forma de chá, por apresentarem atividades anti-

inflamatórias e espasmolíticas, além de serem utilizadas nos tratamentos da asma, tosse e bronquite (LOUREIRO *et al.*, 2013).

Na medicina popular, as cascas do caule são tradicionalmente utilizadas na preparação de "lambedôs" caseiros para tratamento de doenças respiratórias, como gripe, resfriado, bronquite e asma, industrialmente, a forma farmacêutica disponível é o xarope de cumaru. Ensaios farmacológicos pré-clínicos demonstraram atividades anti-inflamatória, broncodilatadora e analgésica para o extrato hidroalcoólico, tendo sido possível ainda atribuir os efeitos observados à cumarina e à fração flavonoídica. As sementes servem como aromatizantes e repelentes de insetos para roupas e estantes, podendo também ser utilizadas na fabricação de um pó fino, designado rapé-de-imburana, empregado para induzir espirros no tratamento de congestão nasal por acúmulo de secreção (CANUTO; ROCHA, 2006).

Os mesmos autores mostraram que o estudo da constituição química da casca do caule de *A. cearensis* revelou a presença profusa de compostos fenólicos na planta, principalmente flavonóides, podendo estes ser apontado, ao lado da cumarina, como responsáveis pelas atividades farmacológicas da espécie, onde o aprofundamento no conhecimento químico e farmacológico desta planta deve ser considerado de incontestável importância socioeconômica, pois certamente permitirá, em futuro próximo, a formulação de produtos mais eficazes e seguros para a população, tanto para os adeptos da fitoterapia como para empresas do segmento farmacêutico.

2.1.2 *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne e *Hymenaea courbaril* L.

Entre os gêneros da subfamília *Caesalpinioideae*, pertencente à família *Leguminosae*, *Hymenaea* é considerado predominantemente neotropical e constituído por um total de 17 espécies, das quais 15 são encontradas no Brasil, ocorrendo desde florestas úmidas e ambientes alagados até ambientes mais secos, como o Cerrado e a Caatinga (MOREIRA *et al.*, 2019).

As espécies de *Hymenaea*, popularmente conhecidas como “jatobás”, são árvores de troncos retos e cilíndricos, de súber liso e de coloração cinza. No Brasil, florescem durante os meses de dezembro a fevereiro e os frutos amadurecem entre os meses de agosto e setembro (LORENZI, 2020). Seus frutos comestíveis possuem elevado teor de fibra alimentar, cálcio e magnésio e são utilizados na alimentação humana e animal. Também são amplamente estudados devido à presença de terpenos,

oligossacarídeos e polissacarídeos nas sementes, folhas e cotilédones, substâncias essas que apresentam atividade antimicrobiana (SOUZA *et al.*, 2015).

Entre as espécies do gênero, *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, conhecida como jatobá-do-cerrado e *H. courbaril* L., conhecida como jatobá-da-mata, são árvores amplamente utilizadas pela população na construção civil, por serem fornecedoras de madeiras de qualidade, no paisagismo urbano, na medicina popular, no fornecimento de resina e óleos essenciais (MENEZES FILHO *et al.*, 2020). Essas espécies são consideradas vicariantes no Brasil, tiveram origem nas florestas equatoriais africanas, no entanto, apresentam excelente adaptação em ecossistemas tropicais da América do Sul e Central (CIPRIANO *et al.*, 2014; MOREIRA *et al.*, 2019).

Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne apresenta diversos nomes comuns, como jatobá da caatinga, na Bahia; jatobá-capão e jatobá-da-casca-fina, no Ceará; jatobá e jatobá-da-casca-fina, em Mato Grosso; jatobá-açu, em Mato Grosso do Sul; jatobá e jatobeiro, em Minas Gerais; jatobá e jatobá-do-campo, no Piauí; jataí-de-piauí, jatobá-de-casca-fina, jatobá-de-vaqueiro e jatobai no estado de São Paulo, jatobá-do-cerrado (CARVALHO, 2007). Ainda segundo o autor, é uma árvore decídua, secundária tardia que pode atingir dimensões próximas de 20 m de altura e 50 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, medido a 1,30 m do solo) na idade adulta, com tronco tortuoso e fuste curto.

Conforme VIEIRA *et al.* (2016) é uma árvore nativa, mas não endêmica do Brasil, sendo encontrada também no Paraguai, Bolívia e Venezuela. No Brasil ocorre nas regiões Norte (Pará), Nordeste (Bahia, Ceará e Maranhão), Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e em todos os estados da região Centro-Oeste, além do Distrito Federal.

Trata-se de uma espécie monóica e possui como síndrome de polinização a quiropterofilia e a ornitofilia (CARVALHO, 2003; LORENZI, 2020), com dispersão zoocórica. *H. stigonocarpa* ocorre naturalmente em solos secos e em solos de fertilidade química baixa, mas sempre em terrenos bem drenados.

O jatobá-do-cerrado é uma espécie heliófila, característica de formações abertas do cerrado, seletiva xerófila (CARVALHO *et al.*, 2005), que não tolera baixas temperaturas, por hábito caracteriza-se por apresentar ramificação simpodial inerente, irregular e variável, sem definição de dominância apical, com ramificação pesada e várias bifurcações. Em sistemas silviculturais apresenta desrama natural deficiente, necessitando de podas periódicas para a condução dos galhos, para apresentar fuste definido, podendo ser plantado em plantio puro, a pleno sol, sob espaçamento denso.

Suas sementes são ortodoxas e muito rígidas, sendo necessário um tratamento pré-germinativo para acelerar o processo de germinação, no qual a escarificação manual das sementes com lixa, na extremidade oposta ao eixo embrionário é o mais recomendado. CARVALHO *et al.* (2005) relatam que sementes que possuem impermeabilidade do tegumento à água e aos gases, podem também restringir fisicamente o crescimento do embrião, sendo fator limitante para muitas espécies de leguminosas, como jatobá-do-cerrado.

Contudo, o comportamento silvicultural dessa espécie é melhor em plantio misto a pleno sol, associado com espécies pioneiras. Entretanto, apresenta crescimento lento. Sua propagação se dá preferencialmente por sementes e suas mudas apresentam alta sobrevivência em áreas degradadas. Esta espécie é abundante no Cerrado, apresenta alta frequência de distribuição em algumas regiões, os adultos produtivos e os frutos são resistentes, o que facilita o transporte e o armazenamento (CARVALHO, 2007).

Os frutos, que são do tipo legume indeiscente, apresentam polpa farinácea bastante apreciada pelas populações rurais, sendo consumida in natura e na forma de geléia, licor, farinha para bolos, pães e mingaus (CARVALHO *et al.*, 2005). A farinha obtida do endocarpo apresenta diversidade de cores, aromas e sabores, que podem estar associadas às variedades ou compostos bioativos. As farinhas são comercializadas nas feiras locais e lojas especializadas em produtos naturais. Os frutos embalados estão presentes nas redes de supermercados e beiras de estradas.

Há um potencial de uso a ser agregado para este produto, pois propriedades medicinais estão relatadas na medicina popular e em laboratório. De uso medicinal, a polpa do fruto é utilizada na medicina popular como laxante e a resina é tida como afrodisíaca. A infusão é preparada para uso interno, no tratamento de cistite e misturada à cachaça, apresenta ainda propriedades tônicas. A casca do caule, na forma de chá e de xarope, é usada como depurativo, queimadura e tosse (CARVALHO, 2007). CIPRIANO *et al.* (2014) relatam que a literatura traz registro de uso diversificado para a espécie *H. stigonocarpa* e parte do que se tem foi relatado por pesquisadores com base na experiência popular.

Todo o uso da espécie é via atividade extrativista, sua madeira é de excelente qualidade, muito pesada, dura e imputrescível quando abrigada, sendo empregada em diversos usos. Planta com potencial melífero e geração de lenha de boa qualidade e carvão com alto potencial calorífico. Espécie recomendada para uso

paisagístico, visto que a árvore é ornamental, própria para arborização urbana em geral. Conforme BARBOSA e MARTINS (2003) ela é indicada para plantios em projetos de recuperação de áreas degradadas e é capaz de colonizar áreas de pasto abandonado (RAMOS *et al.*, 2003).

Hymenaea courbaril L. popularmente conhecida como jatobá-da-mata apresenta ampla adaptabilidade em várias regiões e biomas do Brasil, e destaca-se entre as espécies vegetais de interesse para os programas de recuperação de áreas degradadas, enriquecimento florestal e sistemas agroflorestais (SANTOS *et al.*, 2019).

Trata-se de uma espécie secundária tardia ou clímax exigente de luz, sendo característica do interior da floresta primária. A espécie ocorre do Piauí até o norte do Paraná, na floresta estacional semidecidual, com ocorrência nos seguintes estados Brasileiros: Alagoas, extremo oeste e litoral da Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte (CARVALHO, 2003; LORENZI, 2020). Sua distribuição é esparsa, é uma árvore longeva e ocupa o estrato dominante, com ocorrência em terrenos bem drenados.

O crescimento do jatobá-da-mata é lento a moderado, podendo atingir de 15 a 25 m de altura e até 1 m de diâmetro, com copa alta, muito ramificada e frondosa (PAGLIARINI *et al.*, 2017). Segundo a Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da *International Union for Conservation of Nature – IUCN* (GROOM, 2012), o jatobá-da-mata é classificado como “menos preocupante” (*Least concern – LC*), porém cabe lembrar que essas informações foram validadas em agosto de 2010, necessitando de atualização, visto que, atualmente, o jatobá-da-mata está sob dupla ameaça, a exploração madeireira e a fragmentação florestal.

Além de seu potencial madeireiro, apresenta várias utilidades (MOJENA; BARRETO, 2021), podendo ser aproveitadas todas as partes da árvore, como sementes, frutos, resina, seiva e folhas, que são empregadas com usos na indústria farmacêutica, cosmética e medicinal. O extrato de sua casca contém terpenoides, além de substâncias com ação antibactericida e usado na forma de chá, infusão, decocção, lambedor e xarope como indicação terapêutica de algumas doenças.

A espécie é bastante utilizada por populações tradicionais devido suas diversas utilidades, e com mercado incentivado pelos vários produtos obtidos, sobretudo por produtos florestais não madeireiros, agregando a participação desses produtos na renda dos produtores agroextrativistas. O valor no uso de produtos florestais não

madeireiros é na maioria das vezes de importância considerável para as comunidades da floresta, pois além de proporcionar fontes de alimentos, medicamentos e renda, tem valor cultural ou espiritual. Além da utilização destes recursos como geradores de renda, pode conciliar desenvolvimento econômico com conservação do ecossistema florestal e manutenção das populações em suas regiões de origem.

De acordo com VIEIRA *et al.* (2021) a produção sustentável de produtos florestais madeireiros e não madeireiros tornou-se uma importante ferramenta para vencer o desafio de conciliar o desenvolvimento econômico com manutenção de recursos naturais numa perspectiva socialmente justa, conservando não só o jatobá-da-mata, mas também os animais que se alimentam de suas sementes, garantindo sua dispersão e perpetuação nos fragmentos florestais.

2.1.3 *Khaya grandifoliola* C. DC.

Entre as espécies exóticas introduzidas no Brasil, objetivando a formação de plantios comerciais, o mogno africano, caracteriza-se por apresentar madeira de excelente qualidade e alto valor comercial. Entre os mognos africanos, *Khaya grandifoliola* C. DC. pertence a família *Meliaceae* e destaca-se pelo crescimento rápido, melhor desrama natural e caule mais retilíneo (AZEVEDO *et al.*, 2021).

Recentemente que *K. grandifoliola* teve sua terminologia alterada, sendo anteriormente conhecido como *Khaya ivorensis*, no entanto, rotineiramente suas sementes e mudas ainda são comercializadas como *Khaya ivorensis*. Porém, por meio do desenvolvimento de trabalhos e publicações científicas, é esperado que em breve a nomenclatura correta seja habitualmente utilizada (SILVA *et al.*, 2020). Nesse contexto, espécies do gênero *Khaya*, popularmente conhecidos como "mogno africano", são atualmente uma das madeiras mais lucrativas para investidores e produtores rurais, com retorno financeiro extremamente alto (AQUINO *et al.*, 2018).

A planta tem uma distribuição geográfica um tanto restrita, existente na África Oriental, na África Ocidental e em partes da África Central, bem como em Madagascar. Pode ser encontrada na República do Benin, Camarões, República Centro-Africana, Costa do Marfim, Gana, Guiné, Nigéria, Sudão do Sul, Uganda e nas partes do norte da República Democrática do Congo (DANQUA *et al.*, 2019).

Khaya grandifoliola é uma grande árvore que cresce até 40 m com fustes de 120–280 cm de diâmetro e, geralmente, possuem sapopemas na base, para garantir a sustentação. A casca é cinza-escuro, o látex é vermelho, o cerne é marrom-rosa

claro e torna-se marrom-avermelhado quando cortado, grã fina e resistente a pragas (DANQUAH *et al.*, 2019). O fuste dessa árvore é reto, cilíndrico e sem galhos até uma altura de 30 metros. É uma planta heliófila, porém tolerante a sombra durante a fase jovem, sendo ainda classificada como espécie pioneira ou secundária tardia e emergente regenerando em clareiras abertas na floresta (RIBEIRO *et al.*, 2017).

As sementes de mogno africano são recalcitrantes, de difícil armazenamento e a viabilidade é perdida rapidamente, isso requer que sementes devem ser armazenadas em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Possuem um alto potencial germinativo, acima de 90% quando semeadas logo após a colheita sendo o seu início de germinação após o décimo segundo dia e finalizando por volta do vigésimo primeiro dia (CARVALHO *et al.*, 2016).

No Brasil, a introdução e cultivo do mogno africano para substituir principalmente as nativas, como o mogno amazônico (*Swietenia macrophylla* King) é amplamente divulgado e recomendado por pesquisas e instituições de ensino (REIS *et al.*, 2019), isso porque *K. grandifolia* é uma espécie que se aclimata bem a diferentes condições de clima e solo.

O corte indiscriminado do mogno amazônico levou ao risco de extinção e gerou rigorosas restrições ao comércio de sua madeira, especialmente a partir do início dos anos 2000 que, somado aos entraves burocráticos que regem a condução de plantações de espécies florestais nativas, previstos na legislação ambiental vigente, tornaram o uso de espécies exóticas de meliáceas a opção mais viável ao sistema produtivo de madeiras nobres. A espécie nativa *S. macrophylla* king possui restrições legais para exploração e comercialização; no ano de 2001, o governo brasileiro proibiu a comercialização e a exploração de madeira de mogno, conforme determina o Decreto nº 4722 de 2003 e a Instrução Normativa IBAMA nº7 de 2003.

Estudos mostram a viabilidade e implantação de *K. grandifolia*, graças à facilidade de desenvolvimento, resistência, diversificação de utilização como produto final. Além disso, essa espécie foi introduzida no Brasil devido a sua alta resistência ao lepidóptero *Hypsipyla grandella* Zeller, a principal praga do mogno (*S. macrophylla*) no Brasil.

A limitação aos plantios de espécies de meliáceas nativas, notadamente dos gêneros *Swietenia* (mogno-brasileiro), *Cedrela* (cedro) e *Carapa* (andiropa), causada pelo ataque da broca do ponteiro (*H. grandella*, *Lepidoptera: Pyralidae*) foi um dos

principais motivadores para a introdução de espécies exóticas da mesma família, na silvicultura nacional, sendo *K. grandifolia* uma espécie com grande potencial.

O mogno de folhas largas (*K. grandifoliola*), como também é popularmente conhecido, apresenta madeira com alto preço de mercado devido à sua durabilidade e fino acabamento na confecção de móveis, podendo ser utilizada para diversos fins como a fabricação de barcos, instrumentos musicais, utensílios domésticos, brinquedos, para pisos, e produção de carvão vegetal (DANQUAH *et al.*, 2019).

Além de ser uma árvore madeireira apreciada, *K. grandifoliola* é bem conhecida por sua ampla utilização na medicina tradicional, tendo sido usado como vermífugo e outros usos tradicionais que incluem doenças febris, disenteria, reumatismo, úlcera, doenças de pele, anti-falciforme, etc (MUKAILA *et al.*, 2021).

Ainda segundo MUKAILA *et al.* (2021), vários usos tradicionais de cunho medicinal são dados ao mogno de folhas largas pelas populações tradicionais africanas. Por exemplo, a casca do caule é embebida em água e usada para hemorróidas e dores de estômago. Esta infusão também faz parte de uma receita poliferbal para tratar o câncer. Outros usos incluem o tratamento de úlceras internas usando decocções de folhas, doenças de pele usando casca de raiz pulverizada, como um agente anti-falciforme, para convulsões, dermatomicose, reumatismo e ameaça de aborto, para o combate à icterícia e outras doenças hepáticas, para o tratamento de tosse e tuberculose. A polpa da madeira é supostamente usada no Senegal como veneno de flecha para fins de caça e em Uganda, a casca é usada para o mesmo fim. No Sudão, uma infusão preparada a partir da casca é usada para o tratamento da diarreia, enquanto uma decocção da casca da raiz é administrada por via oral para a gonorreia.

A casca da planta é utilizada como substituto do sabão para lavar roupas. Além disso, a planta tem vários usos etnomedicinais, no entanto, os usos registrados indicam que é principalmente utilizada como um antimalárico em alguns países, incluindo a Costa do Marfim, Guiné e Nigéria, onde a decocção da casca do caule e / ou das folhas é usada para tratar a doença.

A parte mais comumente usada de *K. grandifoliola* é a casca do caule e isso tem apresentado sérios desafios de conservação nos países africanos, pois há relatos de métodos de descasque destrutivos por habitantes locais sem considerar a idade da planta (KAYODE *et al.*, 2015), que muitas vezes causa regeneração lenta e às vezes a morte das plantas. KAYODE *et al.* (2015) afirmam que com a taxa de desmatamento crescente há a necessidade de conservação dessa espécie.

Salienta-se que a espécie está classificada como “vulneráveis de extinção” na África pela Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção da União Internacional para Conservação da Natureza - IUCN (IUCN, 1998). De acordo com essa classificação, um táxon é “vulnerável” quando está enfrentando um alto risco de extinção na natureza. No caso ela enfrenta perigo em razão de redução de suas populações nativas (A), sendo essa “redução observada, presumida ou suspeita de, pelo menos, 20,00% nos últimos dez anos ou três gerações, o que for maior” (1), “com base em um declínio na área de ocupação, extensão de ocorrência e/ou qualidade do hábitat” (c) e “com níveis reais ou potenciais de exploração” (d) (IUCN, 1998).

2.2 ÓXIDO NÍTRICO E SEUS DOADORES MAIS USUAIS

O óxido nítrico (NO) foi descoberto por Joseph Priestley em 1772 e por dois séculos esta substância foi considerada apenas como tóxica. Em 1980, Furchgott e Zawadzki reportaram que uma substância seria responsável pelo relaxamento dos músculos do endotélio, entretanto ainda não sabiam que substância promovia tal efeito (KOSHLAND, 1992; citado por SANTOS, 2009).

Ainda, segundo relato de Santos (2009), em 1987, Palmer e colaboradores sugeriram que esta substância seria o NO produzido pela oxidação de L-arginina a L-citrulina. Em 1992, a Revista Science nomeou o NO como “a molécula do ano”, por sua importância biológica. Após as primeiras descobertas, o NO tem sido identificado como molécula crucial em diversos processos fisiológicos e metabólicos envolvidos com a ativação da síntese de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), entre eles, a manutenção da pressão arterial, atuando como vasodilatador, sendo utilizado em medicamentos do controle da pressão arterial, na estimulação do sistema imunológico, na regulação da transmissão neuronal, na modulação da expressão de inúmeros genes, no relaxamento muscular, nas sinalizações cerebrais que envolvem o aprendizado e a memória, na morte celular (citotóxico) e na proteção celular (citoprotetor).

Em seu estado puro, sob condições normais de temperatura e pressão, o óxido nítrico é um gás e constitui numa das menores e mais simples moléculas biossintetizadas. É um radical livre, inorgânico, incolor, que possui sete elétrons do nitrogênio e oito do oxigênio, tendo um elétron desemparelhado (DUSSE *et al.*, 2003; VISHWAKARMA *et al.*, 2019).

Os estudos de NO envolvendo o metabolismo vegetal datam da década de 1960, quando Fewson e Nicholas abordaram o recrutamento de NO por

microrganismos e plantas superiores. Nas plantas, demonstrou ser um regulador crucial do desenvolvimento, atuando como uma molécula sinalizadora presente em cada etapa do ciclo de vida da planta (DOMINGOS *et al.*, 2015).

Em plantas, incluindo mudança dos níveis hormonais, amadurecimento da fruta, supressão de danos, respostas defensivas e regulação da morte celular programada, evidências crescentes sugerem o comportamento interativo do NO com auxinas, ácido salicílico, ácido abscísico e ácido jasmônico (VERMA *et al.*, 2020).

É uma molécula que atua como sinalizadora nos vegetais envolvida na regulação do crescimento e desenvolvimento da planta, na defesa contra patógenos e nas respostas aos estresses abióticos (SANZ *et al.*, 2015). Atuando também como uma molécula sinalizadora numa cadeia de eventos, levando a mudanças na expressão gênica das plantas, além de mediar processos bioquímicos relacionados a um amplo espectro de eventos fisiológicos, modulando ações hormonais, interagindo com espécies reativas de oxigênio e a atividade proteica nos vegetais (SIMONTACCHI *et al.*, 2015).

Embora a produção de NO já tenha sido detectada em várias espécies vegetais, o mecanismo molecular responsável por sua síntese é ainda controverso, porém enzimas com atividade óxido nítrico sintase (NOS) e a nitrato redutase (NR) têm sido apontadas como as principais responsáveis pela origem deste radical nos vegetais. Nas plantas, o NO é produzido por reações enzimáticas e não enzimáticas.

Uma das vias de síntese de NO nas plantas é dependente da redutase do nitrato (RN), por meio da redução de nitrito para NO usando NADPH como doador de elétrons. Outra enzima responsável pela produção de NO, mas com pouca relevância, é a nitrito-NO redutase (Ni-NOR), enzima encontrada na membrana plasmática, utilizando o citocromo c como doador de elétrons. O NO pode também ser produzido por reações não enzimáticas, como a redução de nitrito no apoplasto por acidificação do pH em resposta à giberelina e ao ABA ou por meio de reação química na presença de carotenóides e luz.

Segundo proposta de CARVAJAL *et al.* (2017) o NO pode funcionar como um regulador de crescimento gasoso endógeno de plantas, assim como um regulador de crescimento de plantas não tradicional. Destaca-se como uma importante molécula de sinalização com diversas funções fisiológicas desempenhando um papel crucial em processos celulares, no crescimento e desenvolvimento, no metabolismo respiratório, senescência e maturação, bem como em respostas das plantas aos estresses abióticos e bióticos como a salinidade, o déficit hídrico, a alta temperatura e na defesa

contra patógenos. Os processos nos quais atua o NO são na promoção da germinação de sementes, fotomorfogênese, atividade mitocondrial, expansão da folha, crescimento radicial, fechamento estomático, maturação do fruto, senescência e metabolismo do ferro.

O NO é relatado como mediador de respostas hormonais, em particular, mediando efeitos de hormônios e moléculas envolvidas em estresses abióticos (SANTOS, 2009). Em ambiente salino, KAISER *et al.* (2016) conclui que os liberadores de óxido nítrico KNO₃ (Nitrato de potássio) e SNP (Nitroprussiato de Sódio), em especial na concentração de 0,01 mmol L⁻¹, apresentam ação positiva na reversão do estresse salino (-0,6 MPa) e na germinação e vigor de sementes de repolho. CAMPOS (2017) descreve que o NO, suprido na forma de SNP, reverteu parcialmente os danos desencadeados pela salinidade em sementes de *Lactuca sativa.*, ZANOTTI *et al.* (2013) verificaram que o uso de doadores de NO em sementes de mamão, teve o efeito revertido dos efeitos deletérios da salinidade.

Outros trabalhos relatam os efeitos positivos dos efeitos de um doador de NO em sementes de *Sesbania virgata* e *Hymenaea courbaril* (ZERLIM, 2011), em milho (SOUZA, 2007), melão (ANDRADE JUNIOR, 2011), em sementes de *Dalbergia nigra* (ATAÍDE *et al.*, 2015) em arroz (HABIB *et al.*, 2010) e em *Suaeda salsa* (LI *et al.*, 2005), quando submetidas ao estresse salino. Em ambiente sob estresse hídrico, o NO levou ao retardamento dos efeitos negativos desta condição, como apontado por PRADOS (2007), que verificou que a aplicação exógena de NO, através de seu doador SNP em baixas concentrações mostrou-se como uma possibilidade efetiva para o prolongamento da tolerância à seca em *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris*. Do mesmo modo, ALVES *et al.* (2017) relataram que o fornecimento exógeno de SNP melhorou a resposta fotossintética frente ao evento de seca em mudas de Baru (*Dipteryx alata*).

Tais efeitos positivos também são relatados por PIRES *et al.* (2016), em estudo com sementes de gergelim; por MATA e LAMATINA (2001) em estudo conduzido com trigo; e na cultura do girassol (CECHIN *et al.*, 2015). Plantas em ambientes sob estresse de metais pesados também tiveram redução eficiente do seu efeito prejudicial sob a manipulação de doadores de NO, como relatado por KOPYRA e GWÓŹDŹ (2003) em estudo com plantas de *Lupinus luteus*. A resposta de tolerância de plantas ao estresse luminoso com fornecimento exógeno de NO também é relatado por autores em estudo com diferentes culturas. HIRAKI (2011) aponta que o uso de nitrato de potássio influencia positivamente no crescimento inicial de *Jatropha curcas*, sob

estresse luminoso. Outros estudos apontaram resultados semelhantes em *Lippia alba* (LIMA *et al.*, 2018), *Guazuma ulmifolia* (ROCHA *et al.*, 2019) e pepino (ARASIMOWICZ-JELONEK *et al.*, 2009).

As abordagens utilizadas para tratamento com NO exógeno são a utilização de compostos doadores de NO e a aplicação direta de gás NO. Porém, devido às dificuldades associadas à aplicação do gás NO e à sua toxicidade, os pesquisadores têm predominantemente utilizado os doadores de NO, que geram NO em solução (ZERLIN, 2011). O NO é subministrado por meio de compostos doadores que vêm sendo largamente utilizados para a análise das funções biológicas do NO em plantas, dentro dos quais se destacam o Nitroprussiato de Sódio (SNP) e S-Nitrosoglutationa (GSNO). Outros doadores são apontados por OLIVEIRA (2019), como o Trinitrato de gliceril (GTN), S-Nitroso-N-acetil-D-penicilamina (SNAP), ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (S-nitroso-MSA) e outros S-nitrosotióis (RSNO). A quantidade e a duração da liberação do NO também variam de acordo com o doador aplicado.

O SNP, cuja fórmula química é: $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, possui estrutura molecular inorgânica complexa, constituída pelo ferro que se encontra no estado ferroso (Fe^{2+}), ligado a cinco ânions de cianeto (CN^-) e um íon de nitrosila (ON^+). Conforme relatado por CORNIANI (2009), o SNP é o doador mais comumente usado, que atua como um poderoso ligante, em que o nitrogênio liga-se ao metal em maior proporção do que o oxigênio. A solução de SNP é extremamente fotossensível e sua degradação pode ser promovida pelo oxigênio e por elevada temperatura.

O nitroprussiato de sódio é um sal cristalino vermelho acastanhado, que pode ser armazenado por muitos anos à temperatura ambiente quando mantido seco e protegido da luz (FEELISCH, 1998). A sua interação com agentes redutores, como os tióis, leva a formação de NO. No entanto, apesar dos estudos intensivos de sua reatividade química, o mecanismo de liberação do NO permanece incompreendido. A luz é uma condição essencial para a liberação de NO a partir de soluções de SNP, pois esta liberação ocorre através de reações fotoquímicas, desta forma, as soluções aquosas de SNP devem ser preparadas imediatamente antes da utilização e mantidas no escuro.

Dentre os S-nitrosotióis, os doadores de NO mais utilizados em plantas são a S-nitrosoglutationa (GSNO) e a S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP). Os S-nitrosotióis são doadores de NO de baixo peso molecular que são capazes de prolongar e preservar as atividades biológicas do NO *in vivo*, sendo considerados bons reservatórios, transportadores e liberadores deste radical livre (SEABRA *et al.*, 2017).

A GSNO possui relativa estabilidade em solução e pode ser formado in vivo através da nitrosação do resíduo de cisteína do tripeptídeo glutathiona (GSH) por óxidos de nitrogênio e peroxinitrito. A molécula S-nitrosoglutationa (GSNO) é formada através de uma reação espontânea do NO com o grupamento tiol da glutathiona (GSH), um antioxidante presente em altas concentrações intracelulares (2-3 mmol.L⁻¹ em células vegetais) (LIMA, 2011).

Tem sido proposto que o GSNO apresente uma importante função na atividade regulatória do NO, agindo como um reservatório intracelular natural do NO e, particularmente, no processo de S-nitrosação de grupamentos tíóis de proteínas através da transnitrosação, sendo uma reação caracterizada pela transferência do grupamento NO de um S-nitrosotiol para outro grupamento tiol formando S-nitrosotíóis de meia vida mais longa. Um crescente número de proteínas vegetais tem sido descrito como alvos do processo reversível de nitrosação em resíduos de cisteínas (LIMA, 2011).

Segundo apontado por ZENIN (2011) a GSNO libera NO em ambiente escuro embora a luz seja necessária para iniciar o processo de decomposição; já a liberação de NO pelo SNAP é bastante variável, devido em grande parte a sua sensibilidade apurada para íons de cobre. Ainda segundo a mesma autora, os doadores SNP e GSNO apresentam diferentes curvas de liberação de NO, sendo que a liberação pelo GSNO é rápida e transitória (entre 30 e 60 minutos), enquanto o SNP em solução libera concentrações mais elevadas de NO (cerca de seis vezes maiores), com um pico de liberação 3 horas após a aplicação e mantém os níveis mais altos por um período maior.

Apesar da importância do NO na resposta a estresses abióticos, a utilização de doadores na aclimação de espécies arbóreas em viveiro e em campo tem sido pouco testadas, e soma-se a esse fator o fato dos doadores de NO terem caráter relativamente instável e serem suscetíveis à fatores ambientais, como pH, luminosidade e temperatura, o que causa uma liberação rápida, podendo causar efeitos deletérios e comprometer os efeitos sinalizadores do NO. Assim, o tratamento direto de plantas com o NO é tecnicamente difícil, dada a sua natureza gasosa (MACHADO, 2021).

Nesse contexto, a encapsulação de doadores de NO em nanomateriais surge como uma estratégia que visa proteger essas moléculas da decomposição, melhorando suas propriedades físico-químicas, aumentando a estabilidade e a atividade, permitindo uma liberação controlada e ampliando seu período de ação (SEABRA et al., 2022). Assim, as nanopartículas (NPs) são estudadas como uma alternativa para minimizar essas limitações, reduzindo a ação de fatores ambientais, sendo que o

aprisionamento de doadores de NO em nanomateriais emergiu como uma estratégia que poderia proteger estas moléculas de decomposição / degradação e permitir uma liberação controlada, alargando assim o seu período de ação (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

3. Referências Bibliográficas

ALVES, R. D. F. B.; SOUSA, L. F.; SILVA, M. L. F.; COSTA, A. C.; FARNESE, F. S. **Ação do óxido nítrico sobre as respostas fisiológicas do baru (*Dipteryx alata* vog.) submetido a estresse hídrico.** Anais, VI Congresso Estadual de Iniciação Científica e Tecnológica do IF Goiano, IF Goiano, Campus Urutaí. 2017. 3p.

ANDRADE JUNIOR, W.P.; PEREIRA, F.H.F.; FERNANDES, O.B.; QUEIROGA, R.C.F.; QUEIROGA, F.M. Efeito do nitrato de potássio na redução do estresse salino no meloeiro. **Revista Caatinga**, v.24, n.3, p.110-119, 2011.

AQUINO, S.M.; PINHEIRO, A.L.; AQUINO JUNIOR, H.M.; AQUINO, W.M.; BRITO, R.; PINHEIRO, D.T.; COUTO, L. **Mogno africano – Produção de madeira nobre no Brasil.** São Paulo/SP, Instituto Brasileiro de Florestas, 2018. 125p.

ARASIMOWICZ-JELONEK, M., FLORYSZAK-WIECZOREK, J., KUBIŚ, J. Involvement of nitric oxide in water stress-induced responses of cucumber roots. **Plant Science**, v.177, n.6, p.682-690, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.09.007>

ATAÍDE, G.M.; BORGES, E.E.L.; FLORES, A.V.; CASTRO, R.V.O. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n.3, p. 438-444, 2015. <https://doi.org/10.19084/rca.16949>

AZEVEDO, M.L.; TITON, M.; MACHADO, E.L.M.; ASSIS JÚNIOR, S.L.; FREITAS, E.C.S. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas caulinar e foliar de mogno-africano (*Khaya grandifoliola* C.DC.). **Ciência Florestal**, v.31, n.2, p. 898-919, 2021. <https://doi.org/10.5902/1980509837225>

BARBOSA, L.M.; MARTINS, S.E. **Diversificando o reflorestamento no estado de São Paulo: espécies disponíveis por região e ecossistema.** São Paulo/SP, Instituto de Botânica, 2003. 63 p.

CAMPOS, F.V. **Óxido nítrico melhora o desempenho de plantas de *Lactuca sativa* L. expostas ao estresse salino.** 2017. 91f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2017.

CAMPOS, V. C. A.; LIMA, B. A.; GUTIERREZ, I. E. M.; SANTANA, J. R. F.; SOUZA, A. V. V. Micropropagação de umburana de cheiro. **Ciência Rural**, v.43, n.4, p.639-644, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013005000018>

CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R. Constituintes químicos da casca do caule de *Amburana cearensis* A.C. Smith. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1241-1243, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600018>

CANUTO, K.M.; SILVEIRA, E.R.; BEZERRA, A.M.E.; LEAL, L.K.A.M.; VIANA, G.S.B. **Uso de Plantas Jovens de *Amburana cearensis* A. C. Smith: Alternativa para Preservação e Exploração Econômica da Espécie**. Embrapa Semi-Árido, Petrolina/PE, 2008. 28p.

CARVAJAL, N.V.; VIAL, V.M.; CABANEZ, P.A.; CORREA, A.O.; MACIEL, K.S.; MORAES, S.P.C.B.; LOPES, J.C. **Oxido nítrico, seu papel na fisiologia vegetal: uma revisão de literatura**. Anais - XX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VI Encontro de Iniciação à Docência. Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos/SP, 2017. 6p.

CARVALHO, J.C.; SANTOS, E.B., REIS, A.R.S., REIS, L.P., SANTOS, J.X. Efeito de tratamentos pré-germinativos e substratos na germinação e crescimento de plântulas de mogno-brasileiro e africano. **Biota Amazônia**, v.6, n.3, p.84-88, 2016. <https://doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n3p84-88>

CARVALHO, P.E.R. **Jatobá-do-Cerrado *Hymenaea stigonocarpa***. Circular Técnica 133. Embrapa Florestas, Colombo/PR, 2007. 8p.

CARVALHO, P.S.; MIRANDA, S.C.; SANTOS, M.L. Germinação e Dados Biométricos de *Hymenaea Stigonocarpa* Mart. Ex Hayne (*Leguminosae-Caesalpinioideae*) - Jatobá-do-Cerrado. **Revista Ananguera**, v.6, n.1, p.101-116, 2005.

CECHIN, I.; CARDOSO, G. S.; FUMIS, T. F.; CORNIANI, N. Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. **Bragantia**, v.74, n.2, p. 200-206, 2015. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.353>

CIPRIANO, J.; MARTINS, L.; DEUS, M.S.M.; PERON, A.P. O gênero *Hymenaea* e suas espécies mais importantes do ponto de vista econômico e medicinal para o Brasil. **Caderno de Pesquisa**, v. 26, n. 2, p. 41-50, 2014. <https://doi.org/10.17058/cp.v26i2.5248>

CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. MMA, Brasília/DF, 2018. 19p.

CORNIANI, N. **Relação entre estresse de radiação ultravioleta-b e óxido nítrico em plantas de eucalipto**. 2009. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, 2009.

DANQUAH, J.A.; APPIAH, M; OSMAN, A.; PAPPINEN, A. Geographic Distribution of Global Economic Important Mahogany Complex: A Review. **Annual Research & Review in Biology**, v.34, n.3, p. 1-22, 2019. <https://doi.org/10.9734/arrb/2019/v34i330154>

DOMINGOS, P.; PRADO, A. M.; WONG, A.; GEHRING, C.; FEIJO, J. A. Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants. **Molecular Plant**, v.8, n.4, p.506-520, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.010>

DUSSE, L.M.S.; VIEIRA, L.M.; CARVALHO, M.G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.39, n.4, p. 343-350, 2003. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000400012>

FARNESE F. S.; MENEZES-SILVA, P. E.; GUSMAN, G. S.; OLIVEIRA, J. A. When bad guys become good ones: the key role of reactive oxygen species and nitric oxide in the plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p.471, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00471>

FEELISCH, M. The use of nitric oxide donors in pharmacological studies. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, n.358, n.1, p.113-122, 1998. <https://doi.org/10.1007/pl00005231>

GOMES, D. G. **Respostas morfofisiológicas e bioquímicas de plantas de soja ao acréscimo de cobre no solo: efeito de doadores de óxido nítrico livre e nanoencapsulado**. 2019. 103f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, 2019.

GROOM, A. *Hymenaea courbaril*. **The IUCN red list of threatened species**. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 01 ago. 2021.

HABIB, N.; ASHRAF, M.; MUHAMMAD, A.; MUHAMMAD, S.A.A. Enhancement in seed germinability of rice (*Oryza sativa* L.) by pre-sowing seed treatment with nitric oxide (NO) under salt stress. **Pakistan Journal of Botany**, v.42, n.6, p. 4071-4078, 2010.

HIRAKI, S.S. **Sombreamento e aplicação de nitrogênio em plantas jovens de *Jatropha curcas* L.** 2011. 113f. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Dissertação (Mestre em Agronomia). Ilha Solteira, São Paulo, 2011.

IBF- **Instituto Brasileiro de Florestas**. 2020. Disponível em: <<https://www.ibflorestas.org.br/conteudo/fazenda-a-venda-minas-gerais>>. Acesso: 01 ago. 2021.

IOANNOU, A.; GOHARI, G.; PAPAPHILIPPOU, P.; PANAHIRAD, S.; AKBARI, A.; DADPOUR, M.R.; KRASIA-CHRISTOFORU, T.; FOTOPOULOS, V. Advanced nanomaterials in agriculture under a changing climate: the way to the future?. **Environmental and Experimental Botany**, v.176, p.1040-1048, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104048>

IUCN. *Khaya grandifoliola*. **The IUCN red list of threatened species**, 1998. Disponível em: www.iucnredlist.org. Acesso em: 01 ago. 2021.

KAISER, I. S.; MACHADO, L.C., LOPES, J.C., MENGARDA, L.H.G. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201663010006>

KAYODE, J.; OMOTOYINBO, M.A.; AYENI, M.J.; OYEDEJI, A.A. Stem barks and roots extravitism in Ekiti State Nigeria: need for conservation as a sustainable innovation

in healthcare management in rural areas. **American Journal of BioScience**, v.3, n.2, p. 28-33, 2015. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20150302.11>

KOPYRA, M., GWÓZDŹ, E.A. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.41, n.11-12, p.1011-1017, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2003.09.003>

LI, W.; LIU, X.; KHAN, M.A.; YAMAGUCHI, S. Efeito de reguladores de crescimento vegetal, óxido nítrico, nitrato, nitrito e luz na germinação de sementes dimórficas de salsa de Suaeda em condições salinas. **Journal of Plant Research**, v.118, n.3, p. 207-214, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0071-12761985000200009>

LIMA, J.C.; OLIVEIRA, U.C.; SANTOS, A.R.; SOUZA, A.A.; SOUZA, G.S. Proporções de amônio e nitrato no crescimento de plantas de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. cultivadas sob ambientes de luz. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, n.3, p. 655-662, 2018. <https://doi.org/10.19084/RCA17240>

LIMA, L. F. **Modulação da atividade mitocondrial pela snitrosoglutaciona redutase em resposta ao estresse nutricional em suspensões celulares de *Arabidopsis thaliana***. 2011, 59p. Dissertação (Mestrado em Biologia). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2011.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum, n.8, v.1, 2020. 384 p.

LOUREIRO, M. B.; TELES, C. A. S.; VIRGENS, I. O.; ARAÚJO, B. R. N., FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D. Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de sementes e plântulas de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith (Leguminosae - Papilionoideae). **Revista Árvore**, v.37, n.4, p. 679-689, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000400011>

MACHADO, M.R. **Mudanças físico-químicas, fisiológicas e bioquímicas em mamão com a aplicação de óxido nítrico**. 2021. 70f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical), Instituto Agrônomo, Campinas, São Paulo, 2021.

MARVASI, M. Potential use and perspectives of nitric oxide donors in agriculture. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.97, n.4, p.1065-1072, 2017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8117>

MATA, C.G.; LAMATTINA, L. Nitric Oxide Induces Stomatal Closure and Enhances the Adaptive Plant Responses against Drought Stress. **Plant Physiology**, v.126, n.3, p.1196-1204, 2001. <https://doi.org/10.1104/pp.126.3.1196>.

MENEZES FILHO, A.C.P.; OLIVEIRA FILHO, J.G.; SOUZA CASTRO, C.F. Avaliações antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne e *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.8, n.2, p.104-114, 2020. <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v8n2.menezes>

MOJENA, P. A.; BARRETO, M. R. Danos em Frutos e Sementes de *Hymenaea courbaril* L. por *Rhinochenus stigma* (Linneu 1764). **Ensaios e Ciências Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n.1, p. 62-65, 2021. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n1p62-65>

MOREIRA, A., MOREIRA, A. C., BUENO, E., AZEVEDO, L., DINIZ, V. Biometria de frutos e sementes e emergência de plântulas de duas espécies do gênero *Hymenaea* (*Fabaceae*). **Enciclopédia Biosfera**, v.16, n.29, 2019.

MUKAILA, Y.O.; AJAO, A.A; MOTEETEE, A.N. *Khaya grandifoliola* C. DC. (*Meliaceae: Sapindales*): Ethnobotany, phytochemistry, pharmacological properties, and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.278, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115102>

OLIVEIRA, H. C.; GOMES, B. C. R.; PELEGRINO, M. T.; SEABRA, A. B. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric Oxide**, v.61, p.10-19, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.09.010>.

OLIVEIRA, P.J.L.; GOMES, D.G.; PELEGRINO, M.T.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; STOLF-MOREIRA, R., SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. Efeitos de nanopartículas liberadoras de óxido nítrico em mudas de árvores neotropicais submetidas à aclimação a pleno sol no viveiro. **Relatórios científicos**, v.9, n.1, p.1-10, 2019.

PAGLIARINI, M.K.; MOREIRA, E.R.; NASSER, F.C.M.; MENDONÇA, V.Z.; CASTILHO, R.M.M. Níveis de sombreamento no desenvolvimento de mudas de *Hymenaea courbaril* var. *Stilbocarpa*. **Revista Cultura Agrônômica**, v.26, n.3, p.330-346, 2017. <https://doi.org/10.32929/2446-8355.2017v26n3p330-346>

PIRES, R.M.O.; SOUZA, G.A.; DIAS, D.C.F.S., OLIVEIRA, L.A.; BORGES, E.E.L. Protective action of nitric oxide in sesame seeds submitted to water stress. **Journal of Seed Science**, v.38, n.4, p. 350-357, 2016. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n4166972>

PRADOS, L.M.Z. **Respostas ao déficit hídrico em feijão (*Phaseolus vulgaris*) e caupi (*Vigna unguiculata*), induzidas por óxido nítrico**. 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Belo Horizonte/MG, 2007.

RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; SILVA, J.C.S.; FAGG, C.W.; FRANCO, A.C. Desenvolvimento inicial de plântulas de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex. Hayne, sob diferentes condições de sombreamento. **Brasil Florestal**, v.23, n.77, p. 37-42, 2003.

REIS, C.A.F.; OLIVEIRA, E.B.; SANTOS, A.M. **Mogno-africano (*khaya* spp.): atualidades e perspectivas do cultivo no Brasil**. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, 2019. 378p.

RIBEIRO, A.; FERRAZ, A.C.; SCOLFORO, J.R.S. O cultivo do mogno africano (*Khaya* spp.) e o crescimento da atividade no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v.24, p.1-11, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.076814>

ROCHA, J.S.; CALZAVARA, A.K.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; STOLF-MOREIRA, R.; OLIVEIRA, H.C. Nitrogen supplementation improves the high-light acclimation of *Guazuma ulmifolia* Lam. Seedlings. *Trees*, v.33, n.2, p. 421-431, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s00468-018-1788-7>

SANTOS, J.C.C.; SILVA, D.M.R.; COSTA, R.N.; SANTOS, S.A.; SILVA, L.K.S.; SILVA J.V. Biometria de frutos e sementes e tratamentos pré-germinativos em sementes de *Hymenaea courbaril*. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.12, n.3, p. 957-979, 2019. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2019v12n3p957-979>

SANTOS, M.P. **Óxido nítrico modula os sistemas primários de transporte de prótons e enzimas antioxidantes durante o estresse salino em plantas mutantes e não mutantes em ácido abscísico**. 2009. 150f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2009.

SANZ, L.; ALBERTOS, P.; MATEOS, I.; SÁNCHEZ, V.I.; LECHÓN, T., FERNÁNDEZ, M. M.; LORENZO, O. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. **Journal of Experimental Botany**, v.66, p. 2857-2868, 2015. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv213>

SEABRA, A.B.; FABBRI, G.K.; PELEGRINO, M.T.; SILVA, L.C.; RODRIGUES, T. **Synthesis, characterization and cytotoxicity of S-nitroso-mercaptosuccinic acid-containing alginate/chitosan nanoparticles**. **Journal of Physics: Conference Series**, v.838, n.1, e012032, 2017. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/838/1/012032>

SEABRA, A.B.; SILVEIRA, N.M.; RIBEIRO, R.V.; PIERETTI, J.C.; BARROSO, J.B.; CORPAS, F.J.; PALMA, J.M.; HANCOCK, J.T.; PETŘIVALSKÝ, M.; GUPTA, K.J.; WENDEHENNE, D.; LOAKE, G.J.; DURNER, J.; LINDERMAYR, C.; MOLNÁR, Á.; KOLBERT, Z.; OLIVEIRA, H.C. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agriculture. **New Phytologist**, v.234, n.4, p.1119-1125, 2022. DOI: 10.1111/nph.18073

SILVA, M. G.; ZAIDAN, U.R.; BORGES, C.T.; SILVA, J.A.; RESENDE, R.T.; VENTUROLI, F.; PIRES, P.P. Indolbutyric Acid (IBA) in the African Mahogany (*Khaya grandifoliola* C. DC.) cuttings and mini-cuttings development. **Advances in Forestry Science**, v.7, n.2, p.1009-1016, 2020. <https://doi.org/10.34062/afs.v7i2.9793>

SIMONTACCHI, M.; GALATRO A.; RAMOS, A. F.; SANTA, M.G.E. Plant survival in a changing environment: the role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers Plant Science** v.6, p. 1-19, 2015.

SOUZA, P.F.; SANTANA, R.C.; FERNANDES, J.S.C.; OLIVEIRA, L.F.R.; MACHADO, E.L.M.; NERY, M.C.; OLIVEIRA, M.L.R. Germinação e crescimento inicial entre matrizes de duas espécies do gênero *Hymenaea*. **Floresta e Ambiente**; v.22, n.4, p. 532-540, 2015. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.067613>

SOUZA, V.R.S. **Efeito do estresse salino e do óxido nítrico na germinação do milho (*Zea mays*) e sua influência na atividade de tirosina fosfatase**. 2007, 101f. Dissertação

(Mestrado em Nutrição). Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

TANVEER, M.; SHAHZAD, B.; ASHRAF, U. Nanoparticle application and abiotic-stress tolerance in plants. In: TRIPATHI, D.K.; SINGH, V.P.; CHAUHAN, D.K.; SHARMA, S. PRASAD, S.M.; DUBEY, N.K.; RAMAWAT, N. **Plant Life Under Changing Environment**, Academic Press, p.627-641, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00027-8>.

VERMA, N.; TIWARI, S.; SINGH, V.P.; PRASAD, S.M. Nitric oxide in plants: an ancient molecule with new tasks. **Plant Growth Regulation**, v.90, n.1, p.1-13, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00543-w>

VIEIRA, D.S.; GOMES, K.M.A.; SANTOS, L.E.; OLIVEIRA, M.L.R.; GAMA; J.R.V.; MENDONÇA, E.L.M.; LAFETA, B.O.; MOURA, C.C.; FIGUEIREDO, A.E.S. Estrutura diamétrica e espacial de espécies madeireiras de importância econômica na Amazônia. **Scientia Forestalis**, v.49, n.129, p. 1-15, 2021. <https://doi.org/10.18671/scifor.v49n129.21>

VIEIRA, R.F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro - Região Centro-Oeste**. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, Departamento de Conservação e Manejo de Espécies, Brasília/DF, 2016. 1162p.

VISHWAKARMA, A.; WANY, A.; PANDEY, S.; BULLE, M.; KUMARI, A.; KISHOREKUMAR, R.; IGAMBERDIEV, A.U.; MUR, L.A.J.; GUPTA, K.J. Abordagens atuais para medir o óxido nítrico em plantas. **Journal of Experimental Botany**, v.70, n.17, p.4333-4343, 2019.

ZANOTTI, R.F.; LOPES, J.C.; MOTTA, L.B.; FREITAS, A.R.; MENGARDA, L.H.G. Indução da tolerância ao estresse salino em sementes de mamão tratadas com nitrato de potássio e citrato de sildenafil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.6, p.3669-3674, 2013. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl1p3669>

ZENIN, J.K. **Influência do óxido nítrico nos processos de embebição e mobilização de reservas durante a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. e *Hymenaea courbaril* L.** 2011. 113f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2011.

4. OBJETIVOS E HIPÓTESES

O presente trabalho visou realizar uma análise das respostas metabólicas e morfofisiológicas de mudas de espécies arbóreas, verificando a potencial aplicação de doadores de NO e de nanopartículas liberadoras de NO na aclimação das mudas a fatores de estresses.

Foram testadas as seguintes hipóteses:

- A amburana, o jatobá-da-mata e o jatobá-do-cerrado apresentam eficiente plasticidade fenotípica, aclimatando seus traços morfofisiológicos à intensidade luminosa.
- A suplementação por meio de doadores de NO tem efeito positivo sobre a aclimação de mudas de amburana, jatobá-da-mata e o jatobá-do-cerrado mantidas sob o sol pleno no setor de rustificação do viveiro.
- A aplicação de nanopartículas liberadoras de NO, por permitirem uma liberação controlada e sustentável dessa molécula, tem efeito positivo sobre a resposta das mudas de amburana e jatobá-da-mata ao sol pleno, quando transferidas para o campo.
- A aplicação de doadores de NO tem efeito positivo em mudas de mogno africano submetidas ao estresse hídrico severo.

ACLIMATAÇÃO DE MUDAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DO BRASIL
A DIFERENTES REGIMES DE LUMINOSIDADE

Resumo: A aclimação de plantas é um processo de ajustes morfológicos, bioquímicos e fisiológicos em resposta a mudanças nas condições ambientais (como a luz), que lhes permite otimizar seu desempenho, crescimento e sobrevivência. Uma alta plasticidade fenotípica ou capacidade de aclimação desempenha um papel crucial na exploração bem-sucedida de diferentes habitats em face de mudanças ambientais, como ocorre após o plantio de mudas em sítios de restauração. Assim, a compreensão das respostas morfofisiológicas de plantas jovens em função da disponibilidade de luz é de fundamental importância ecológica para a execução de projetos de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas. Esta pesquisa visou analisar as respostas morfofisiológicas de três espécies arbóreas nativas do Brasil (*Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa* e *Amburana cearensis*) frente a diferentes níveis de irradiância. As mudas foram cultivadas em viveiro por quatro meses e, após a obtenção da altura desejada (15-20 cm), foram transferidas para três ambientes: sol pleno, sombreamento moderado e sombreamento intenso. Foram avaliados parâmetros de crescimento das mudas e parâmetros morfofisiológicos em folhas (como trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*). O índice de qualidade de Dickson demonstrou que as mudas das três espécies florestais apresentaram melhor qualidade e maiores condições de estabelecimento em campo quando produzidas em condições de sol pleno pelo fato de mostrarem habilidade para conciliar o crescimento e o investimento em atributos adaptativos sob condições de alta radiação, como maiores valores de densidade estomática, espessura foliar, eficiência no uso da água, taxa assimilatória líquida, taxa de crescimento relativo, massa seca, área foliar e crescimento em diâmetro. O sombreamento intenso foi a condição que mais limitou o crescimento das mudas respondendo com o maior percentual de mortalidade para as três espécies. *Hymenaea courbaril* e *H. stigonocarpa* tiveram crescimento em altura e diâmetro favorecidos para os ambientes mais ensolarados, *A. cearensis* sofreu estiolamento, formando maior altura e menor diâmetro para o ambiente mais sombreado. A assimilação fotossintética foi favorecida pelo sombreamento moderado para a *A. cearensis*, não mostrou diferença entre os ambientes luminosos para *H. courbaril* e foi maior para *H. stigonocarpa* nos ambientes sob sol pleno e sombreamento moderado. A condutância estomática comportou-se da mesma forma que a assimilação fotossintética para as três espécies florestais. A eficiência instantânea de carboxilação apresentou melhores resultados para o sombreamento moderado para as três espécies florestais, embora o ambiente a pleno sol e sombreamento moderado não tenham diferido entre si para a *H. courbaril*. Na tomada de decisão sobre o ambiente a utilizar cada espécie, seja em projetos de recomposição florestal, formação de áreas ciliares, arborização de pastagens ou enriquecimento florestal, devem ser considerados os parâmetros que refletem um crescimento em parte aérea e raiz, consolidado com o incremento das variáveis fisiológicas.

Palavras-chave: *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Amburana cearensis*, sombreamento, plasticidade fenotípica.

1. INTRODUÇÃO

Alterações a longo prazo na intensidade da luz induzem grandes ajustes nas características foliares e na composição do aparato fotossintético através de um processo conhecido como aclimação (LARCHER, 2006). Na ecologia, a aclimação de plantas refere-se à capacidade das plantas de apresentar respostas funcionais em relação às condições ambientais através da flexibilidade de fenótipos (plasticidade fenotípica) e refere-se à amplitude de respostas possíveis dentro de um mesmo genótipo. Isso envolve ajustes fisiológicos, morfológicos e bioquímicos que permitem que as plantas otimizem seu desempenho em resposta a mudanças no ambiente e variam de acordo com o nível de exposição à radiação e as características de plasticidade do indivíduo o que demonstra a importância da plasticidade no estabelecimento das espécies no ambiente.

A aclimação das plantas é uma consequência da condição de vida sésil das plantas terrestres, que as obriga a enfrentar *in situ* um ambiente dinâmico, no qual muitos parâmetros críticos estão sujeitos a rápidas flutuações. Variações frequentes nas condições ambientais forçaram as plantas a desenvolver respostas metabólicas e moleculares exclusivamente flexíveis, a fim de manter a função celular face à instabilidade ambiental (KLEINE et al., 2020).

No entanto, a radiação não é para a planta somente uma fonte de energia (efeito fotoenergético), mas também um estímulo governando o condicionamento do desenvolvimento (efeito fotocibernético), controlando processos como a germinação, crescimento e a forma externa da planta; e às vezes funciona como um fator estressante (efeito fotodestrutivo), fato que ocorre por meio da absorção dos quanta de luz de acordo com a sua duração, momento, direção e a composição da radiação (LARCHER, 2006), influenciando fortemente o desenvolvimento de plantas, sendo fundamental ao processo fotossintético e aos eventos relacionados à fotomorfogênese (ARAÚJO et al., 2019).

A alta radiação pode causar danos foto-oxidativos ao aparato fotossintético, em especial do fotossistema II, refletindo na diminuição transitória ou até permanente da eficiência quântica da fotossíntese, em um processo chamado de fotoinibição dinâmica ou crônica, respectivamente (SCHOCK, 2014). Além disso, a exposição direta ao sol pode elevar grandemente a temperatura das folhas, intensificando a taxa respiratória e o fechamento dos estômatos com consequente redução da fixação de carbono e aumento do consumo de fotoassimilados (MARENCO et al., 2014).

Para superar essas limitações, as plantas são submetidas a condições controladas que permitem sua gradativa aclimação ao ambiente com o objetivo de atingir o seu desenvolvimento pleno em maior exposição à irradiância, tornando-as resistentes às condições de campo. A aclimação, no que se refere à produção de mudas, é o processo pelo qual as plantas produzidas em condições controladas são transferidas

para um ambiente com as condições climáticas naturais. Estas novas condições devem ser passadas às plantas progressivamente, de forma que elas não sofram estresses que possam culminar em danos profundos ou mesmo em sua morte. Assim, para maior sucesso da aclimação, recomenda-se iniciar em locais à meia-sombra, isso porque o aumento súbito da irradiância pode induzir a fotoinibição. Este processo de aclimação pode estender-se por até meses, quando se comprovar a capacidade das plantas de sobreviver no referido ambiente (SILVA et al., 1995; MAGALHÃES et al., 2009). Em outras palavras, o processo de aclimação envolve expor as mudas a condições externas de forma gradual, permitindo que elas se ajustem às mudanças ambientais, isso pode incluir a redução gradativa da umidade, a exposição gradual à luz solar direta e a adaptação a variações de temperatura, cujo objetivo é fortalecer as mudas, promovendo o desenvolvimento de características que as tornem mais resistentes e capazes de sobreviver e prosperar no ambiente externo.

A aclimação das plantas pode ser medida pela capacidade de se desenvolver em determinado ambiente ou situação, isto significa que as organelas responsáveis em manter a fisiologia da planta estão em bom estado, para que a planta consiga realizar as trocas gasosas, de fotossíntese e respiração e alocar a energia assimilada pelos pigmentos fotossintéticos em carboidratos para suprir o crescimento em altura e diâmetro e produção de biomassa radicular, caulinar e foliar (GONÇALVES et al., 2012).

A capacidade de um único indivíduo gerar fenótipos alternativos baseados em mudanças no ambiente é denominada plasticidade fenotípica, que é uma estimativa da capacidade das plantas responderem a mudanças em seu ambiente (BRADSHAW, 2006; NICOTRA et al., 2010). A plasticidade fenotípica em plantas refere-se à capacidade intrínseca de uma espécie vegetal expressar uma variedade de fenótipos distintos em resposta a diferentes condições ambientais. Essa adaptabilidade fenotípica permite que as plantas ajustem suas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas para otimizar seu desempenho e sobrevivência em ambientes variáveis. A plasticidade fenotípica é uma resposta dinâmica e plástica que permite às plantas maximizar sua aptidão biológica diante de mudanças nas condições do ambiente, contribuindo para sua aclimação (SULTAN, 2003; VALLADARES et al., 2006; VALLADARES et al., 2005; KELLY et al., 2009).

O processo de transição das plantas do ambiente protegido, como viveiros ou estufas, para o campo aberto pode expô-las a vários estresses, que exige uma rápida aclimação para garantir o estabelecimento e o crescimento saudável, com mudas resistentes, capazes de sobreviver às adversidades encontradas no campo minimizando as perdas pós-plantio. Dentre essas condições adversas, podemos destacar que uma das principais causas de mortalidade e baixo desenvolvimento de mudas em plantios para recuperação de áreas degradadas é o estresse hídrico (FONSECA et al., 2017), porém os efeitos do estresse térmico estão diretamente relacionados aos processos fisiológicos e bioquímicos vegetais e suas conseqüências tornam-se visíveis na anatomia de células e tecidos, bem como na morfologia dos órgãos, especialmente na folha, onde ocorrem os principais eventos relacionados à fotossíntese (NASCIMENTO et al., 2014). O estresse mecânico, principalmente causado pelo vento, como também pela chuva pode levar à

quebra do caule após o plantio (VOLKWEIS et al., 2014) e outros estresses também importantes como o estresse nutricional (SCHULZ et al., 2021) e o estresse por luz, visto que a mudança na intensidade da luz, especialmente se as plantas eram cultivadas sob condições controladas, pode levar a um processo de fotoinibição e um desequilíbrio fotossintético e uma redução na qualidade das mudas (ALMEIDA et al., 2023) e por fim, os estresses de transporte e transplante das mudas arbóreas para o campo podem ser determinantes para a sobrevivência das plantas (SCREMIN-DIAS et al., 2006).

Assim, a compreensão das respostas fisiológicas e estratégias de sobrevivência das plantas jovens em função da disponibilidade de luz é de fundamental importância ecológica para a execução de projetos de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas, formação de corredores ecológicos e incremento de biodiversidade florestal. Por tudo isso, essa pesquisa visou analisar as respostas morfofisiológicas de três espécies arbóreas nativas do Brasil frente ao cultivo com diferentes níveis de irradiância.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Espécies florestais e produção de mudas

Foram utilizadas três espécies arbóreas brasileiras de grupos ecológicos distintos: o jatobá-da-mata (*Hymenaea courbaril* L.), que é uma espécie secundária tardia ou clímax exigente de luz, encontrada em todas as regiões do país, o jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne), espécie secundária tardia, como o próprio nome diz mantém sua distribuição no bioma cerrado e a espécie pioneira amburana (*Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm.) que detém de maior predominância na região da Caatinga e cerrado nordestino. Os frutos de *H. courbaril* foram colhidos em árvores matrizes de 10-12 m de altura localizadas no município de Primeiro de Maio/PR (22°53'14''S, 50°56'42''W). Já os frutos de *A. cearensis* e *H. stigonocarpa* foram colhidos na região de Guanambi/BA (14°13'01'' S, 42°46'40'' W). Foi realizada coleta no chão e na copa das árvores com uso de podão. Em seguida, todos os frutos foram beneficiados e as sementes retiradas. As espécies *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* possuem fruto indeiscente, com sementes inseridas em um arilo farináceo, fazendo-se necessário o uso de martelos para abrir os frutos e separar as sementes do arilo. A amburana possui fruto seco deiscente com sementes aladas, sendo necessário retirar as alas para o plantio.

As mudas foram produzidas no viveiro florestal do Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas – LABRE, pertencente a Universidade Estadual de Londrina – UEL, seguindo toda a rotina de produção de mudas em viveiro, conforme recomendações de Oliveira et al. (2016). A semeadura ocorreu de forma indireta, com utilização de areia como único substrato. A repicagem ocorreu após a formação das plântulas, descartando aquelas com defeitos ou má-formação. As plântulas foram transferidas para tubetes de polipropileno de 280 cm³ com substrato comercial (Ouro Negro®) enriquecido com grânulos de Osmocote® (5 g L⁻¹ substrato). Durante todo o experimento, as plantas foram mantidas sob um regime de irrigação automático diário, três vezes por dia, durante 30 minutos.

As mudas foram produzidas em ambiente com sombreamento parcial (sombrite 50%), por cerca de 4 meses até atingirem a altura de 15 a 20 cm. Após atingirem o tamanho desejado, uma parte das plantas foi transferida para os demais ambientes

(pleno sol e sombreamento intenso), enquanto o restante foi mantido sob sombreamento moderado. A irradiância média ao meio-dia em cada ambiente (verificada com o auxílio de um luxímetro modelo LX1010B, Politerm) era de cerca de $1738 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no ambiente sol pleno; $506 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no local com sombra moderada e $56 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no local com sombra intensa. As plantas permaneceram por 73 dias nos tratamentos de irradiância.

2.2 Mensurações morfoanatômicas e fisiológicas

2.2.1 Espessura dos tecidos foliares e densidade estomática

Foram realizados cortes manuais transversais e paradérmicos (face abaxial de folhas jovens totalmente expandidas) para a mensuração da espessura total da folha, espessura do parênquima paliçádico e da densidade estomática, conforme detalhamento de Cortez et al. (2016). Todas as imagens foram obtidas por meio de microscopia óptica. As espessuras foram determinadas em micrômetros e a densidade estomática em nº de estômatos/cm² através do software Motic Images Plus 3.0.

2.2.2 Quantificação dos teores de clorofila

Foram quantificados os teores de clorofila *a* e *b* (Ca e Cb), a relação das clorofilas *a* e *b* (Ca/Cb), clorofila total (CT) e carotenóides após a extração com acetona 80% em tampão fosfato de sódio 2,5 mM (pH 7,8). Todo o procedimento foi realizado com as luzes apagadas. As folhas (0,05 g) foram mantidas por 15 dias no escuro e na geladeira na presença de 5 mL da solução de extração. Após esse período, o sobrenadante foi utilizado para a leitura das absorvâncias a 663,2 nm, 646,8 nm e 470 nm. Os teores de clorofilas e carotenóides foram determinados em $\mu\text{g} / \text{g}$ de massa fresca, utilizando as equações propostas por Lichtenthaler e Wellburn (1983):

Concentração de clorofila *a*: $\text{Ca} = (12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8})$

Concentração de clorofila *b*: $\text{Cb} = (21,5 \times A_{646,8} - 5,1 \times A_{663,2})$

Concentração de carotenóides totais: $\text{Cx+c} = (1000 \times A_{470} - 1,82 \times \text{Ca} - 85,02 \times \text{Cb})/198$

Razão clorofila *a* / clorofila *b* = Ca/Cb

2.2.3 Medições de trocas gasosas e Curva de resposta da fotossíntese à luz

Foram determinadas as taxas de fotossíntese líquida (*A*) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (*g_s*) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (*E*) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência intrínseca no uso da água ($i\text{EUA} = A/g_s$) e eficiência no uso da água ($\text{EUA} = A/E$), concentração intercelular de CO₂ (*C_i*) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), eficiência instantânea de carboxilação ($k = A/C_i$) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) e a razão concentração interna / concentração externa de CO₂ (*C_i/C_a*). As análises de trocas gasosas foram realizadas no turno matutino (8-10 h) em dias ensolarados, utilizando-se um analisador portátil de gases por infravermelho (IRGA) modelo LICOR 6400 XT conectado a uma câmara de 6 cm² sob uma radiação fotossinteticamente ativa (RFA) saturante ($1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). As medições foram realizadas no terço médio da primeira folha totalmente expandida de cada planta.

O mesmo equipamento foi utilizado para construir as curvas de resposta da fotossíntese líquida à luz. As folhas foram submetidas a RFA decrescentes (1200, 900,

600, 400, 300, 200, 100, 80, 60; 40, 20 e 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para os ambientes de sol pleno e sombra média, e 600, 500, 400, 300, 200, 150, 100, 80, 60, 40, 20 e 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para o ambiente com sombra intensa). As medições foram realizadas em temperatura ambiente no período matutino (8-10 h).

A partir dos gráficos da fotossíntese líquida (Eixo Y) em função da RFA (Eixo X), foi possível calcular os seguintes parâmetros: Respiração no escuro (RE), Produtividade quântica aparente da assimilação de CO_2 (PQA), Ponto de compensação luminoso (PCL), Fotossíntese saturada de luz (A_{max}), Ponto de saturação luminoso (PSL), Eficiência quântica aparente da assimilação de CO_2 (EQA), seguindo os procedimentos descritos por Avola et al. (2008) e Calzavara et al. (2017). Foi feita a análise da parte ascendente do gráfico e, por meio de uma regressão linear, foi possível obter a PQA (coeficiente angular) e a RE (coeficiente linear ou intercepto). O PCL foi obtido através da razão entre RE e PQA. A fotossíntese saturada de luz foi obtida por meio de uma regressão exponencial de dois fatores ($Y = a(1 - e^{-bx})$) no programa Sigmaplot 10.0, correspondendo ao fator a. O PSL foi obtido através da equação abaixo:

$$\text{PSL} = (\text{LN}(0,1)/b), \text{ em que:}$$

b = fator da equação exponencial de dois fatores.

A EQA foi obtida através da fórmula a seguir:

$$\text{EQA} = (\text{RE} + A_{\text{max}}) / (\text{PSL} * 0,84)$$

2.2.4 Medições de fluorescência da clorofila

Foi medida a fluorescência da clorofila *a* com um fluorômetro OS1p (OptiSciences), permitindo verificar a eficiência máxima do fotossistema II (razão F_v/F_m) e a existência de fotoinibição em folhas intactas (SHIMIZU et al., 2006). Durante 15 minutos, as folhas foram mantidas no escuro com cliques específicos, para medir a fluorescência inicial (F_0). Em seguida, a fluorescência máxima (F_m) foi medida após pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (F_v) foi calculada por meio da equação: $F_v = F_m - F_0$. Essas análises foram realizadas às 8 h (para determinação da fotoinibição crônica) e às 12 h (para determinação da fotoinibição dinâmica). A medida da fluorescência da clorofila *a* foi realizada no terço médio da primeira folha totalmente expandida, na face adaxial, evitando-se a nervura central.

2.2.5 Medições de crescimento e de qualidade de plantas

Foram realizadas medições para o monitoramento da altura e diâmetro de todas as plantas a cada 15 dias, utilizando-se régua milimetrada e paquímetro digital, com monitoramento da mortalidade das plantas. Ao final do experimento foi analisada a área foliar, com o auxílio de um integrador de área foliar portátil modelo LI-3000CAP (LiCor Inc., Lincoln, NE, EUA), bem como a análise da massa seca. Para a análise da massa seca, as folhas, caule e raiz foram acondicionados em sacos de papel e desidratados em estufa a 60 °C até atingirem massa constante. As medidas de comprimento, área foliar total e massa seca também foram determinadas antes do início dos tratamentos, como referencial (tempo zero). De posse desses dados, foram calculadas as variáveis conforme tabela 1.

Tabela 1. Variáveis de crescimento, formação de biomassa e qualidade das mudas.

VARIÁVEL	FÓRMULA	UNIDADE
Área Foliar Específica (AFE)	$AFE = \text{Área foliar} / \text{Massa Seca Foliar}$	$\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$
Razão de Área Foliar (RAF)	$RAF = AF / MST$	$\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$
Razão Massa Seca Raiz (MSR)/Massa Seca Total (MST)	$R = MSR / MST$	g g^{-1}
Razão Parte Aérea/Raiz (RPAR)	$RPAR = MSPA / MSR$	g g^{-1}
Razão Comprimento Caule (Cc)/Comp Raiz (Cr)	$R = Cc / Cr$	cm cm^{-1}
Razão Altura/Diâmetro (RAD)	$RAD = ALT / DIAM$	cm cm^{-2}
Taxa Assimilatória Líquida (TAL)	$TAL = (MST - MSi) * (LN(AF) - LN(AFi)) / ((AF - AFi) * n^{\circ} \text{dias}) * 1000$	$\text{mg cm}^{-2} \text{dia}^{-1}$
Taxa de Crescimento Relativo (TCR)	$TCR = (LN(MST) - LN(MSi)) / 85 * 1000$	$\text{mg g}^{-1} \text{dia}^{-1}$
Índice de Qualidade de Dickson (IQD)	$IQD = MST (RAD + RPAR)$	-

O índice de plasticidade (IP) representa a fração de variação fenotípica de uma variável específica em relação a diferentes condições ambientais. O IP foi calculado para cada variável a partir dos valores obtidos em cada tratamento (sol pleno, sombreamento médio e sombreamento intenso) de acordo com a fórmula proposta por Valladares et al. (2006):

$$IP = (\text{média máxima} - \text{média mínima}) / \text{média máxima}$$

O índice varia de 0 a 1, e valores mais próximos de 1 são considerados mais plásticos. A partir do IP de cada parâmetro, foi estimado o índice médio de plasticidade de cada parâmetro.

2.2.6 Análise estatística

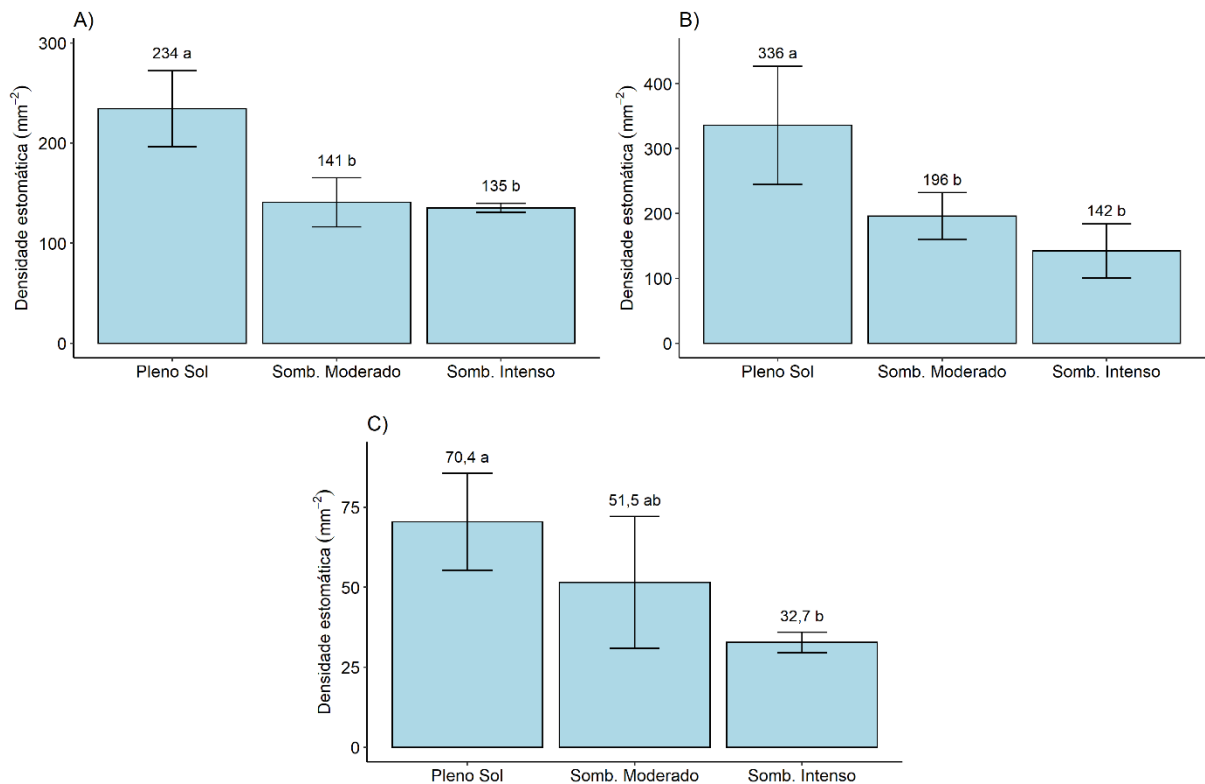
O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, todas as análises foram realizadas pelo software R (R CORE TEAM, 2023). Os dados foram verificados quanto à normalidade dos erros e homocedasticidade das variâncias pelo teste de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Se atendido as pressuposições, foi realizada a análise de variância (ANAVA) ao nível de 5% de probabilidade.

Foram utilizadas 6 repetições para análise de densidade estomática, espessura dos tecidos foliares e teores de clorofila e carotenóides; 20 repetições para a análise de crescimento e mortalidade, sendo que para o referencial (tempo zero) foram utilizadas 4 repetições. Para a análise de trocas gasosas foram utilizadas 16 repetições, 8 repetições para a curva de resposta da fotossíntese à luz e para a análise de fluorescência da clorofila foram utilizadas 15 repetições.

O parâmetro mortalidade foi analisado pelo teste não paramétrico log-Rank.

3. RESULTADOS

Todas as espécies apresentaram estômatos na face abaxial de suas folhas (folhas hipoestomáticas). A densidade estomática foi superior no ambiente de maior exposição à luz (fig. 1) em relação aos ambientes sombreados para *H. stigonocarpa* e *H. courbaril*, enquanto que para *A. cearensis* a densidade estomática foi maior no sol pleno apenas em relação à sombra intensa. A espessura da folha seguiu o mesmo comportamento para as três espécies florestais (fig. 1), sendo superior sob maior luminosidade variando de 228 a 158 μm para *H. stigonocarpa*, 248 a 144 μm para *H. courbaril* e 219,2 a 93,4 μm para *A. cearensis*, embora os tratamentos sob sol pleno e sombra média não tenham diferido entre si para a espécie *H. stigonocarpa*. De forma semelhante, o parênquima paliçádico teve maior espessura com o aumento da luminosidade (fig. 1), não diferindo entre os tratamentos sob sol pleno e sombra média para *H. stigonocarpa* e *H. courbaril*, com diferença mais marcante para a amburana, sendo 70% mais espesso quando comparado com o ambiente mais sombreado.



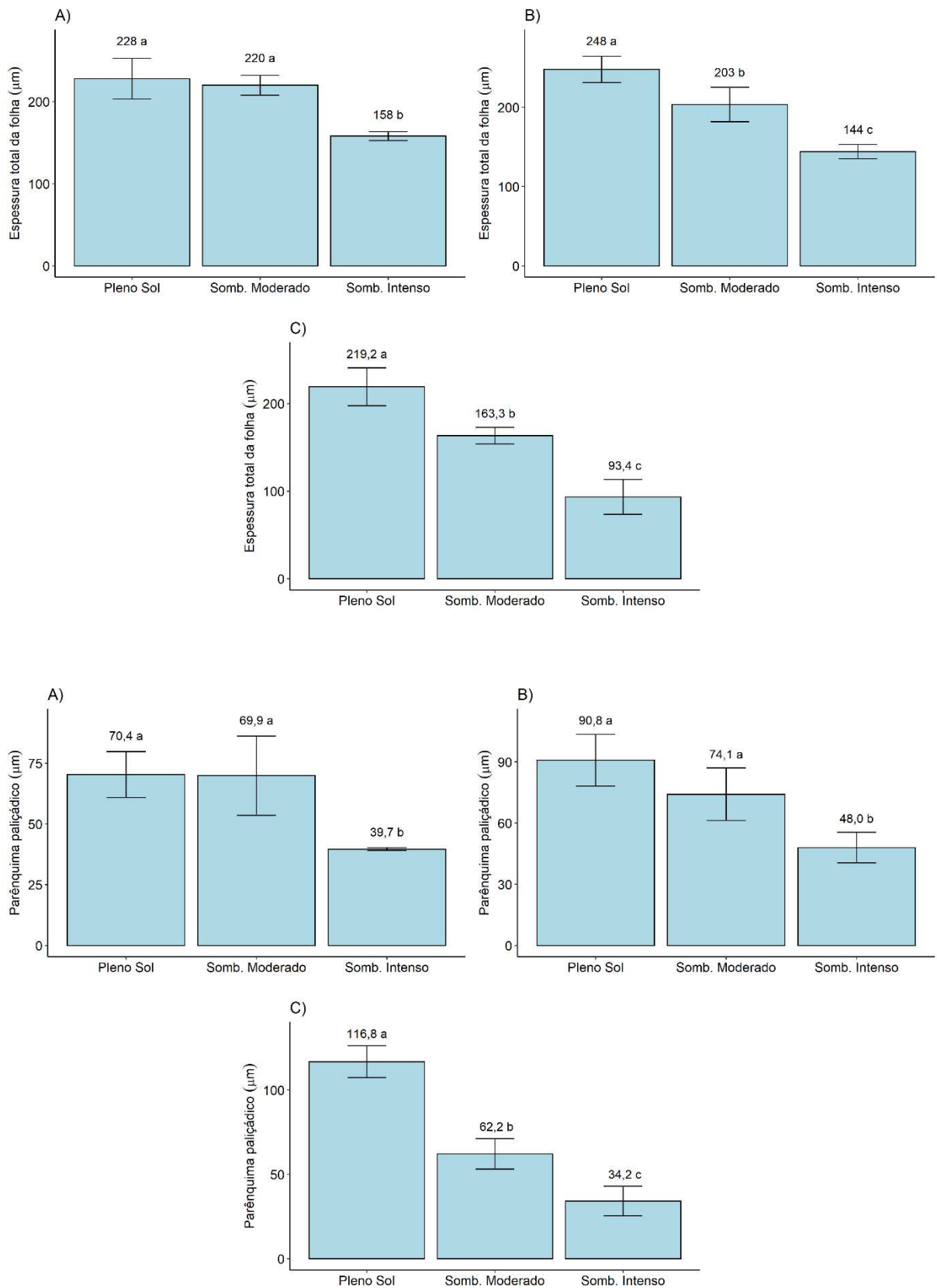


Figura 1. Densidade estomática, espessura foliar total e espessura do parênquima paliçádico de *Hymenaea stigonocarpa* (A), *Hymenaea courbaril* (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso). Médias seguidas pela mesma não apresentam

diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam o desvio padrão.

A frequência estomática é um bom indicador da capacidade fotossintética e os resultados da *A* indicam essa relação. Embora *H. stigonocarpa* não apresentou diferença entre os tratamentos, *H. courbaril* diferiu apenas o tratamento sob sombreamento intenso dos demais tratamentos. Observa-se na tabela 2, que a amburana, mesmo sendo uma planta pioneira, apresentou maior taxa fotossintética líquida quando cultivada ao sombreamento médio do que ao pleno sol, sendo que este diferiu estatisticamente dos demais resultados.

Foi observado, conforme tabela 3, que o ponto de compensação luminoso (PCL) diminuiu devido ao sombreamento, assim como o ponto de saturação luminoso (PSL). As plantas de *A. cearensis* atingiram maiores valores de fotossíntese no tratamento sob sombreamento médio (figura 2), diferindo apenas do sombreamento intenso. Os resultados para *H. courbaril* tiveram maior alcance no tratamento a pleno sol, diferindo apenas do tratamento sob sombreamento intenso, cujo valor é 73% menor. Não houve diferença entre os valores de fotossíntese obtidos para *H. stigonocarpa* nos tratamentos de regime de luz.

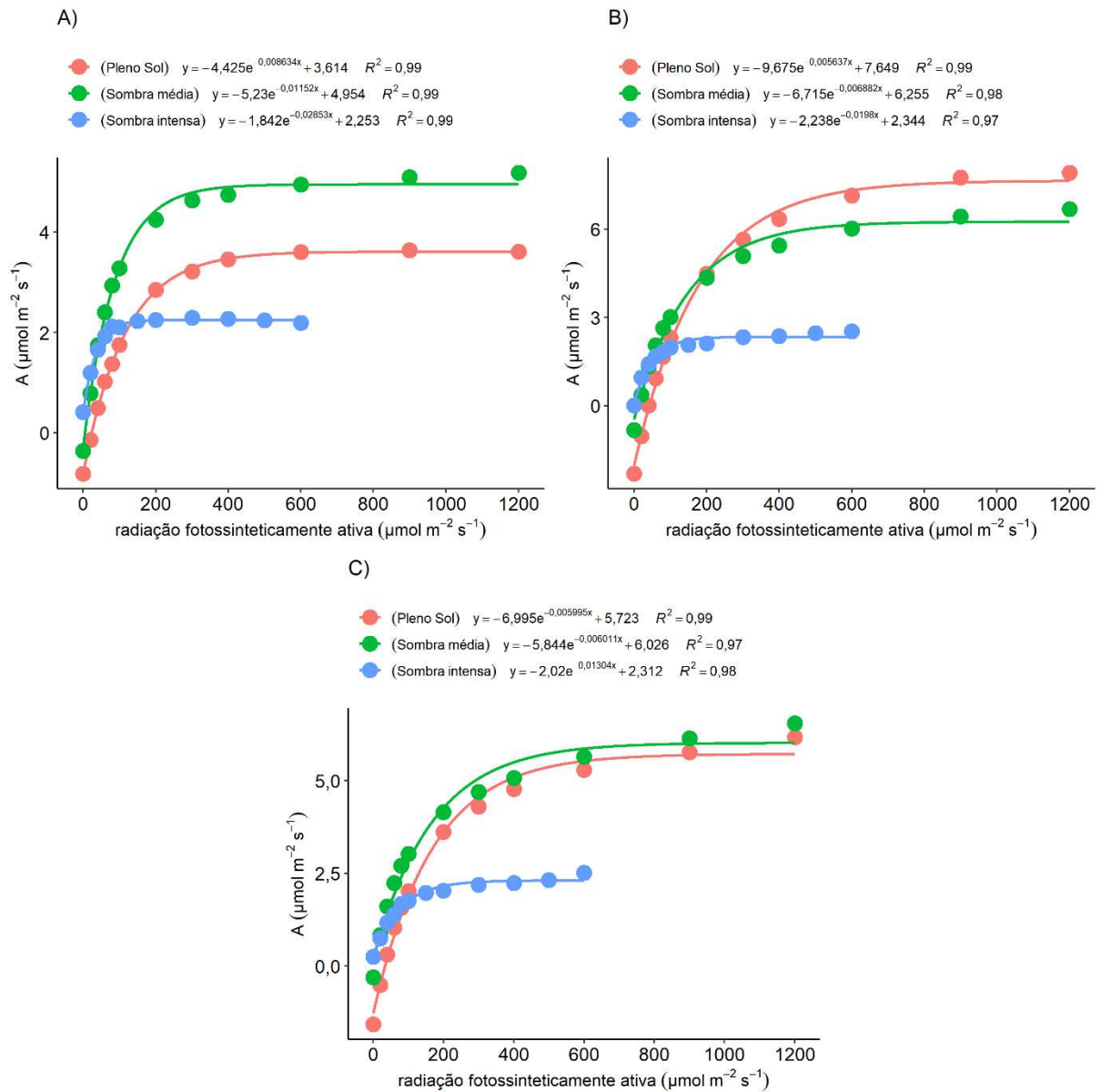


Figura 2. Curvas de resposta da fotossíntese líquida (A) em função do aumento da densidade de fluxo de fótons em plantas jovens de *Amburana cearensis* (A), *Hymenaea courbaril* (B) e *Hymenaea stigonocarpa* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso).

Tabela 2. Resposta fotossintética de espécies arbóreas submetidas a diferentes regimes de luz.

<i>Amburana cearensis</i>							
	PQA	RE	PCL	Amax	PSL	EQA CO ₂	FOTrep
1	0,0330 b	0,0000 c	0,0000 c ^t	2,3145 b	64,8346 c ^t	0,0429 a	0,6535 b
2	0,0462 a	0,2391 b	5,2105 b	4,9988 a	216,7173 b	0,0288 b	1,3855 a
3	0,0311 b	0,8744 a	26,0231 a	3,7758 ab	365,3099 a	0,0151 c	1,2060 a
CV (%)	16,61	26,02	12,57	36,99	15,84	17,84	32,37
F	13,81*	139,66*	6051*	7,19*	43,12*	50,48*	8,67*
<i>Hymenaea courbaril</i>							
1	0,0348 b	0,0221 c ^t	0,6760 c ^t	2,2596 b	107,6822 c ^t	0,025 a	0,6896 c
2	0,0481 a	0,7084 b	15,1200 b	6,4133 a	378,6056 b	0,022 ab	1,7829 b
3	0,0538 a	1,9501 a	41,0278 a	8,3315 a	707,4827 a	0,018 b	2,4512a
CV (%)	11,58	18,86	23,5	32,51	18,39	19,71	27,27
F	21,85*	112,82*	72,70*	18,11*	34,75*	4,26*	25,28*
<i>Hymenaea stigonocarpa</i>							
1	0,0375 a	0,0000 c ^t	0,0000 c ^t	3,2288 a ^t	98,9083 b	0,0323 a	0,9188 a ^t
2	0,0442 a	0,1944 b	4,0903 b	6,0412 a	330,0081 a	0,0224 ab	1,7782 a
3	0,0458 a	1,5114 a	32,7208 a	6,1392 a	584,2939 a	0,0153 b	1,9941 a
CV (%)	22,67	26,33	18,43	35,07	39,7	28,14	4,75
F	0,765	82,26*	170,22*	0,98	13,96*	6,76*	2,23

Em que: 1 – Sombreamento intenso, 2 – Sombreamento médio, 3 – Pleno sol. RE – Respiração no escuro, PQA – Produtividade quântica aparente da assimilação de CO₂, PCL – Ponto de compensação lumínico, Amax – Fotossíntese saturada de luz, PSL – Ponto de saturação luminoso, EQACO₂ – Eficiência quântica aparente da assimilação de CO₂, FOTrep – fotorrespiração. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ^tDados transformados pelo método de Box-Cox (1964). *Significativo pelo teste F.

A determinação da *gs* (tabela 2) é satisfatória por fornecer informações de como as plantas respondem às condições ambientais, como seca e estresse luminoso por exemplo, e ajudar a desenvolver estratégias para melhorar a eficiência no uso da água na agricultura. Os diferentes regimes de luz não resultaram em diferença nos valores de condutância estomática para *H. stigonocarpa*. Para *H. courbaril* as diferenças ocorreram entre os tratamentos com sombreamento médio e sombreamento intenso, sendo que as plantas sob sombreamento médio apresentaram valor médio 82,12% superior aos valores registrados para o tratamento sob sombreamento intenso. As plantas de *A. cearensis*, seguiram o comportamento fotossintético, e os maiores valores ocorreram no sombreamento médio, correspondendo a um acréscimo de 265,5% em relação ao sombreamento intenso e 153,11% superior ao tratamento sob sol pleno.

Tabela 2. Variáveis fisiológicas de *Hymenaea stigonocarpa*, *Hymenaea courbaril* e *Amburana cearensis* em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Onde: $A = \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $gs = \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $E = \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $Ci = \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $EUA = \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$, $iEUA = \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$, $k = \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$.

Espécie	Sombreamento	Variáveis fisiológicas							
		A	gs	E	$iEUA$	Ci	Ci/Ca	k	EUA
<i>H. stigonocarpa</i>	Sol pleno	6,92 a	0,087 a	244 b	91,1 a	1,51 a	0,604 b	0,3085 a	4,84 a
	Sombra média	6,74 a	0,0759 a	236 b	94,9 a	1,71 a	0,585 b	0,3044 a	4,07 b
	Sombra intensa	2,39 a	0,05 a	314 a	39,3 b	1,92 a	0,782 a	0,0865 b	1,01 c
<i>H. courbaril</i>	Sol pleno	6,57 a	0,0788 ab	243 b	91,4 a	1,86 a	0,601 b	0,286 b	3,98 a
	Sombra média	8,11 a	0,1006 a	245 ab	84,9 a	2,40 a	0,616 ab	0,356 a	3,46 b
	Sombra intensa	3,93 b	0,0604 b	265 a	67,8 b	2,50 a	0,665 a	0,160 c	1,51 c
<i>A. cearensis</i>	Sol pleno	2,09 a	0,0288 b	283 a	73,2 ab	0,674 c	0,683 a	0,0812 b	3,21 a
	Sombra média	5,30 ab	0,0706 a	248 b	79,3 a	2,307 a	0,633 b	0,2311 a	2,57 b
	Sombra intensa	1,45 b	0,0241 b	281 a	59,5 b	1,199 b	0,698 a	0,0564 b	1,29 c

As maiores médias para E (tabela 2) foram observadas em mudas sob o tratamento sombreamento intenso para as mudas de *H. stigonocarpa*. Comportamento semelhante foi observado para as plantas de *H. courbaril*, sendo que o valor médio de transpiração sob sombreamento intenso foi 9,05% superior ao valor médio observado para as plantas sob sol pleno. Em *A. cearensis*, os menores valores de transpiração foram observados no ambiente sob sombreamento moderado.

A relação C_i/C_a (tabela 2) é um parâmetro fundamental para compreender como as plantas regulam a troca de gases com a atmosfera, notadamente a absorção de CO_2 para a fotossíntese e a liberação de oxigênio e vapor d'água durante a transpiração. A eficiência da fotossíntese está intrinsecamente relacionada à relação C_i/C_a , uma vez que concentrações internas mais elevadas em relação às concentrações atmosféricas de CO_2 resultam em maior eficiência fotossintética. Verificamos que nas plantas de *A. cearensis* os resultados não diferiram significativamente entre os tratamentos sombreamento intenso e pleno sol, sendo maiores sob sombreamento moderado. Para *H. stigonocarpa* os valores diferiram entre os tratamentos pleno sol e sombreamento intenso, sendo este 29,47% superior ao valor observado para o ambiente de sol pleno. As plantas de *H. courbaril* mantiveram o mesmo comportamento, tendo as plantas sob sombreamento intenso um valor 10,65% superior às plantas sob sol pleno.

De acordo com a tabela 2, as três espécies arbóreas apresentaram redução da EUA conforme o aumento do sombreamento. As plantas sob sol pleno de *H. stigonocarpa*, *H. courbaril* e *A. cearensis* apresentaram um acréscimo de 378,22%, 163,58% e 148,84% respectivamente, quando comparado com as plantas sob sombreamento intenso.

Para a eficiência instantânea de carboxilação (tabela 2), observaram-se valores menores no tratamento com sombreamento intenso para as três espécies arbóreas, obtendo-se maior eficiência em $0,356 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para *H. courbaril* e $0,2311 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para *A. cearensis* sob sombreamento moderado. No caso de *H. stigonocarpa*, não houve diferença no k entre pleno sol e sombreamento moderado.

Quanto à eficiência máxima do fotossistema II, nas mudas de *H. stigonocarpa* a razão F_v/F_m ao amanhecer foi maior no sombreamento moderado em relação ao pleno sol, com um acréscimo de 8,68% (figura 3). Para *H. courbaril*, também ao amanhecer, as diferenças ocorreram entre os tratamentos de sombreamento moderado e sombreamento intenso, sendo este 3,79% menor que o tratamento sob sombreamento moderado, já os resultados encontrados para *A. cearensis*, não tiveram diferença entre si.

As medições realizadas ao meio-dia (figura 4) mostraram diferença entre os tratamentos sob sol pleno e sombreamento moderado para *H. stigonocarpa*, sendo o resultado para o tratamento sob sol pleno atingiu um valor 37,33% superior. Os resultados alcançados entre os tratamentos para *H. courbaril* ao meio-dia diferiram todos entre si, sendo que o tratamento sob sombreamento médio obteve um valor superior de 16,54% e 3,87% em relação aos tratamentos sob sol pleno e sombreamento intenso respectivamente.

Apenas o tratamento a pleno sol diferiu dos demais para as plantas de *A. cearensis*; o maior declínio de F_v/F_m para as plantas foi no ambiente a pleno sol, com

10,26% em relação ao sombreamento médio e 10,8% em relação ao sombreamento intenso.

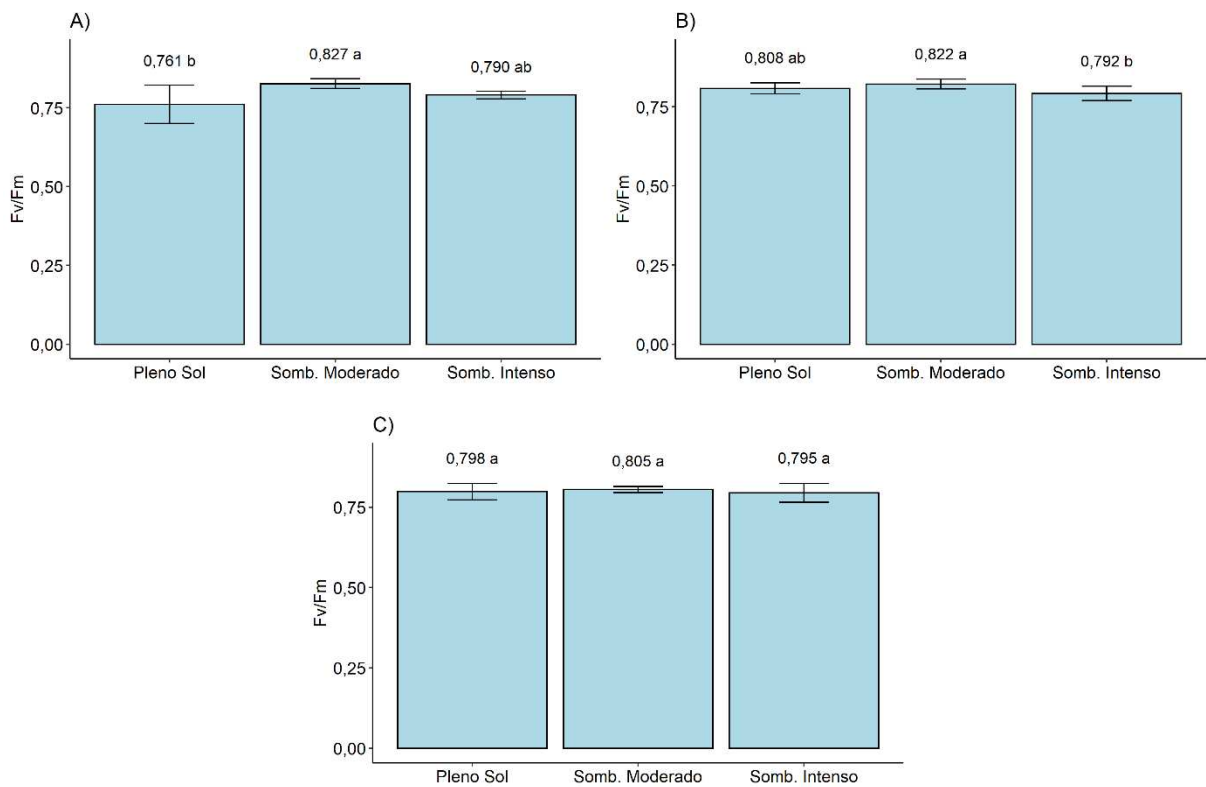


Figura 3. Razão F_v/F_m às 8:00 h de plantas jovens de *Hymenaea stigonocarpa* (A), *Hymenaea courbaril* (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso). Médias seguidas pela mesma não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam o desvio padrão.

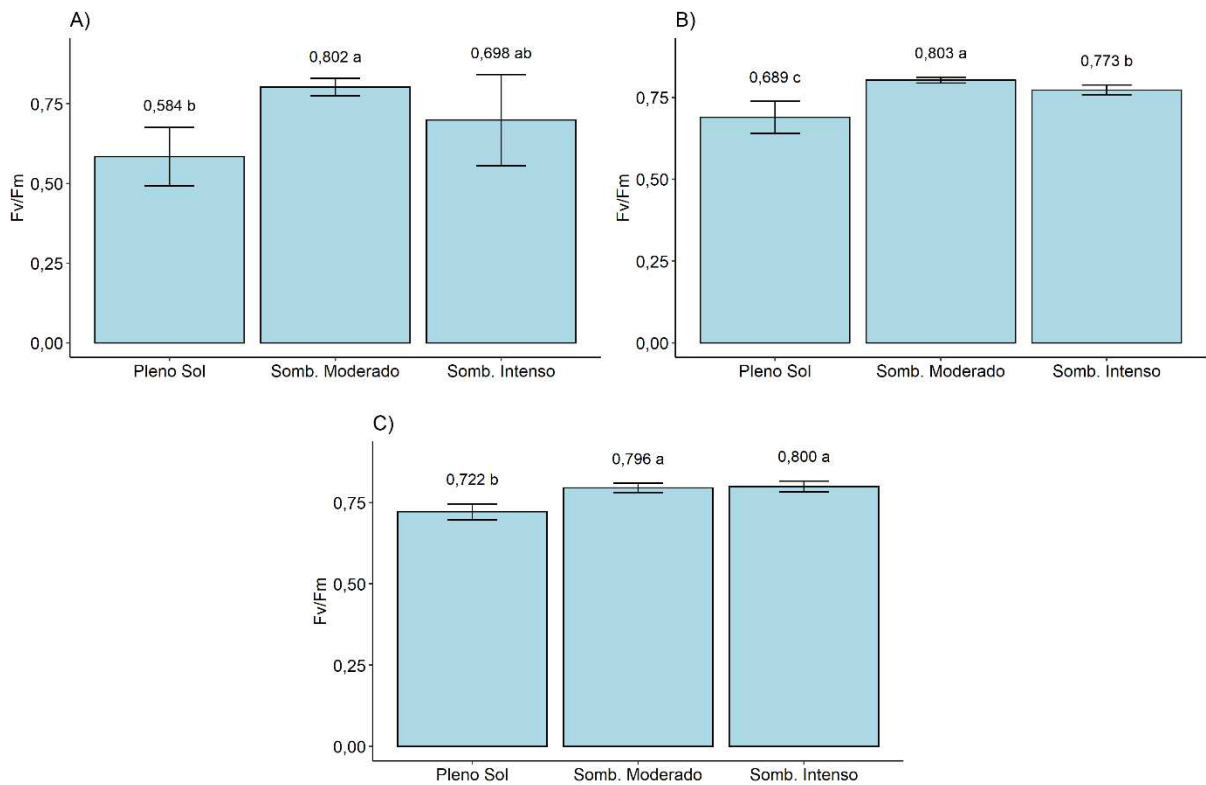


Figura 4. Razão Fv/Fm às 12:00 h de plantas jovens de *Hymenaea stigonocarpa* (A), *Hymenaea courbaril* (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso). Médias seguidas pela mesma não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam o desvio padrão.

Em *H. stigonocarpa* houve diferenças apenas entre os tratamentos pleno sol e sombreamento intenso para clorofila *a*, sendo que o valor obtido para o tratamento sob sombreamento intenso foi 54,8% maior quando comparado ao tratamento com maior luminosidade (tabela 4). Essa diferença também foi verificada em *H. courbaril*, sendo que o teor encontrado para o sombreamento intenso foi 40,89% maior quando comparado com os resultados encontrados para as plantas sob pleno sol. Para *A. cearensis*, os teores de clorofila *a* encontrados para os diferentes ambientes não diferiram entre si.

Tabela 4. Teores de clorofila *a* (*Ca*), clorofila *b* (*Cb*), carotenóides (*car*), razão *Ca/Cb*, clorofila total (*CIT*), razão *CIT/Car* de *Hymenaea stigonocarpa*, *Hymenaea courbaril* e *Amburana cearensis* em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Espécie	Sombreamento	$\mu\text{g g}^{-1}$					
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>Car</i>	<i>a/b</i>	<i>CIT</i>	<i>CIT/Car</i>
<i>H. stigonocarpa</i>	Sol pleno	742 b	206 b	307 a	3,69 a	948 b	3,14 c
	Sombra média	903 ab	369 b	155 b	2,49 b	1272 b	8,11 b
	Sombra intensa	1642 a	925 a	212 ab	1,78 b	2567 a	12,09 a
<i>H. courbaril</i>	Sol pleno	827 b	219 c	281 a	3,78 a	1046 b	3,73 c
	Sombra média	1277 ab	457 b	234 a	2,81 b	1734 a	7,36 b
	Sombra intensa	1399 a	657 a	211 a	2,14 c	2056 a	8,92 a
<i>A. cearensis</i>	Sol pleno	467 a	173 a	118,6 a	2,84 a	639 a	5,86 a
	Sombra média	498 a	255 a	95,9 a	2,01 a	753 a	8,18 a
	Sombra intensa	698 a	321 a	118,6 a	2,15 a	1019 a	9,54 a

Os valores encontrados de clorofila *b* (tabela 4) para a espécie *H. stigonocarpa* mostraram diferença apenas para o tratamento sob sombreamento intenso, sendo este 348,54% maior quando comparado ao tratamento a pleno sol e 150,95% ao sombreamento moderado. Os valores encontrados para *H. courbaril* todos diferiram entre si, e o teor de clorofila *b* no tratamento sob sombreamento intenso foi 200% maior quando comparado ao tratamento sob sol pleno e 43,79% superior ao tratamento sob sombreamento intenso. Os valores de clorofila *b* não diferiram entre os tratamentos para a *A. cearensis*.

As plantas de *H. stigonocarpa* cultivadas a pleno sol produziram quantidades 98,06% maiores de carotenóides (tabela 4) quando comparadas ao sombreamento moderado. Para as demais espécies florestais não houve diferença entre os resultados de carotenóides obtidos nos diferentes regimes de luz.

Os maiores valores para a relação clorofila *a/b* foram registrados para os ambientes com maior luminosidade preponderante para as duas espécies de *Hymenaea* (tabela 4). O teor de clorofila total e a razão clorofila total/carotenóides tiveram o mesmo comportamento para todas as espécies, com elevação dos valores conforme redução da luminosidade (tabela 4), apesar das diferenças não terem sido significativas para *A. cearensis*.

O tratamento sob sombreamento intenso apresentou AFE (tabela 5) superior para *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*, visto que em condições de sombra, para

maximizar a captura de luz disponível, as plantas tendem a investir em folhas maiores em relação à sua massa. Para *A. cearensis* não houve diferença estatística para os regimes de luz. A Taxa assimilatória líquida (TAL), a Taxa de crescimento relativo (TCR) e Índice de qualidade de Dickson (IQD) foram maiores no ambiente sob maior luminosidade para todas as espécies florestais.

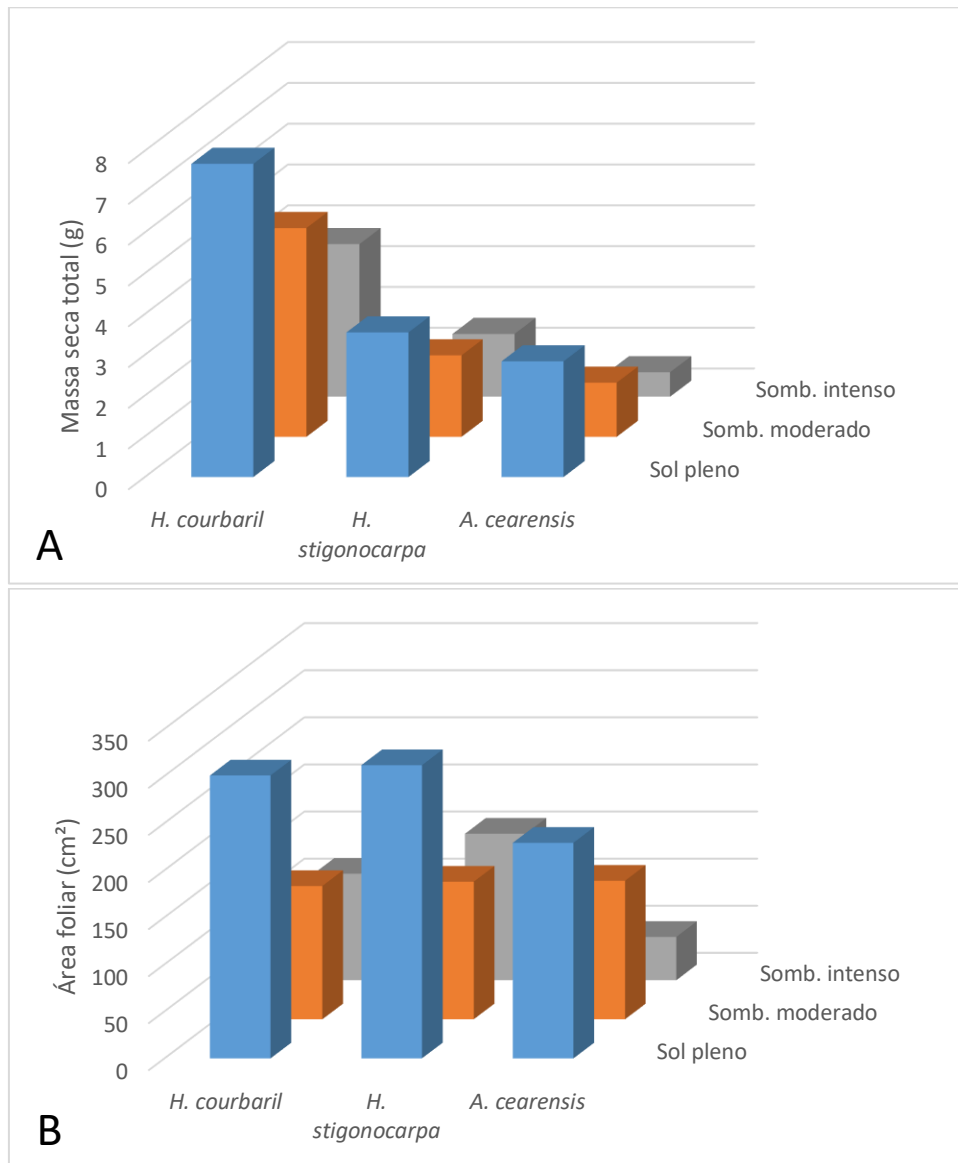
Tabela 5. Análise de crescimento e desenvolvimento de três espécies florestais submetidas a diferentes regimes de luminosidade.

<i>H. courbaril</i>						
	AFE [†]	RAF [†]	MSR/MST	MSC/MST	MSF/MST	RPAR [†]
Sol Pleno	122,95 c	41,49 b	0,28 b	0,38 a	0,34 b	7,68 a
Sombra Média	190,42 b	90,95 a	0,15 c	0,37 a	0,48 a	3,55 b
Sombra Intensa	494,50 a	84,41 a	0,53 a	0,27 b	0,20 c	2,84 b
CV	6,88	7,82	23,86	18,35	23,19	5,46
	Cc/Cr	RAD	TAL [†]	TCR Tot	TCR Raiz [†]	IQD [†]
Sol Pleno	1,95 a	5,42 b	0,29 a	15,13 a	22,21 a	0,97 a
Sombra Média	1,94 a	7,20 a	0,08 b	6,30 b	6,59 b	0,28 b
Sombra Intensa	1,64 a	6,88 a	0,05 b	4,00 b	19,01 a	0,36 b
CV	27,75	19,62	29,14	32,77	31,10	3,90
<i>H. stigonocarpa</i>						
	AFE	RAF	MSR/MST	MSC/MST	MSF/MST	RPAR [†]
Sol Pleno	91,05 c	32,22 b	0,28 a	0,36 b	0,35 b	5,12 a
Sombra Média	156,95 b	76,80 a	0,15 b	0,36 b	0,50 a	1,99 b
Sombra Intensa	492,72 a	110,86 a	0,20 ab	0,57 a	0,23 b	1,33 c
CV	37,00	38,71	45,97	19,26	32,01	11,67
	Cc/Cr [†]	RAD	TAL [†]	TCR Tot [†]	TCR Raiz [†]	IQD [†]
Sol Pleno	1,85 a	4,80 b	0,28 a	15,88 a	21,59 a	0,60 a
Sombra Média	1,30 b	5,75 b	0,04 b	5,51 b	4,41 b	0,17 b
Sombra Intensa	2,18 a	9,20 a	0,01 b	0,90 c	3,02 b	0,10 c
CV	50,90	17,14	30,30	18,57	37,44	30,6
<i>A. cearensis</i>						
	AFE [†]	RAF [†]	MSR/MST	MSC/MST	MSF/MST [†]	RPAR [†]
Sol Pleno	306,81 a	51,28 b	0,57 a	0,23 a	0,19 b	3,74 a
Sombra Média	499,24 a	122,89 a	0,42 b	0,27 a	0,31 a	1,54 b
Sombra Intensa	258,12 a	75,71 ab	0,35 b	0,32 a	0,30 ab	0,59 c
CV	12,59	21,34	33,18	32,1	29,45	22,76
	Cc/Cr [†]	RAD [†]	TAL [†]	TCR [†]	TCR Raiz [†]	IQD [†]
Sol Pleno	1,36 a	4,56 a	0,36 a	23,12 a	35,08 a	0,68 a
Sombra Média	1,48 a	4,35 a	0,13 b	14,41 b	22,83 b	0,27 b
Sombra Intensa	1,21 a	4,45 a	0,04 c	4,14 c	10,37 c	0,09 c
CV	12,36	16,09	37,31	19,47	26,48	20,10

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). [†] Dados transformados pelo método de Box-Cox (1964). Em que: AFE - Área Foliar Específica ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$); RAF - Razão Área Foliar Total/Massa Seca Total ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), MSR/MST - Razão Massa Seca Raiz/Massa Seca Total (g g^{-1}), MSC/MST - Razão Massa Seca Caule/Massa Seca Total (g g^{-1}), MSF/MST - Razão Massa Seca folha/Massa Seca Total (g g^{-1}), MSPA/MSR

- Razão Massa Seca Parte Aérea/Massa Seca Raiz (g g^{-1}), Cc/Cr - Razão Comprimento Caule/Comprimento Raiz (cm cm^{-1}), RAD - Razão Altura/Diam (cm cm^{-2}), TAL - Taxa Assimilatória Líquida ($\text{mg cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), TCR - Taxa de Crescimento Relativo ($\text{mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) e o IQD - Índice de Qualidade de Dickson.

Observando os dados de crescimento isoladamente (figura 5), percebemos que para *H. courbaril* os maiores incrementos no crescimento ocorreram para as plantas que se desenvolveram a pleno sol, apenas a massa seca de raiz foi maior no tratamento sob sombra intensa. As plantas de *H. stigonocarpa*, tiveram o mesmo comportamento registrado para as mudas de *H. courbaril*, a diferença entre essas espécies foi que a massa seca de folhas foi superior no tratamento sob sombreamento médio. As mudas de *A. cearensis* também obtiveram maior incremento no crescimento para as plantas sob sol pleno, exceto para a massa de caule, que foi maior no sombreamento médio.



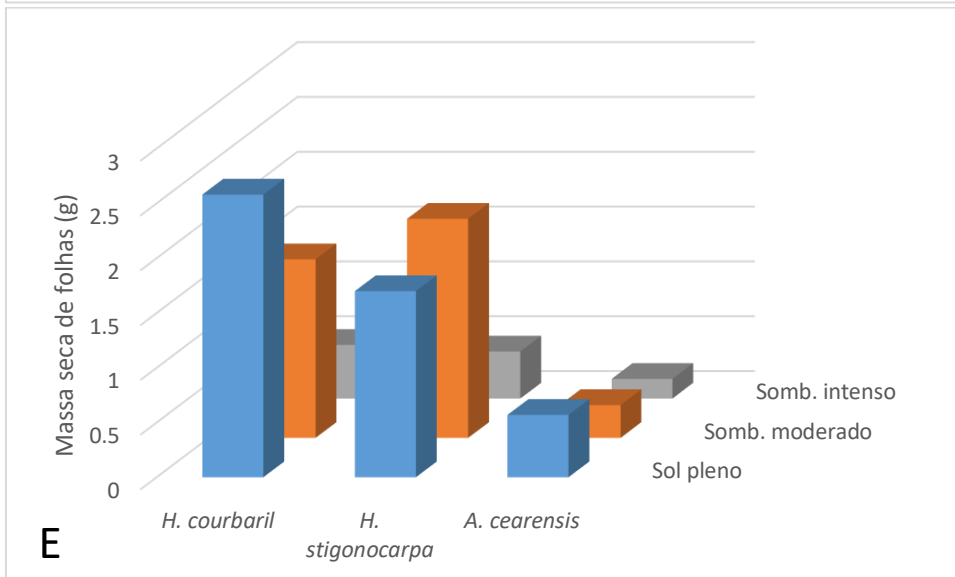
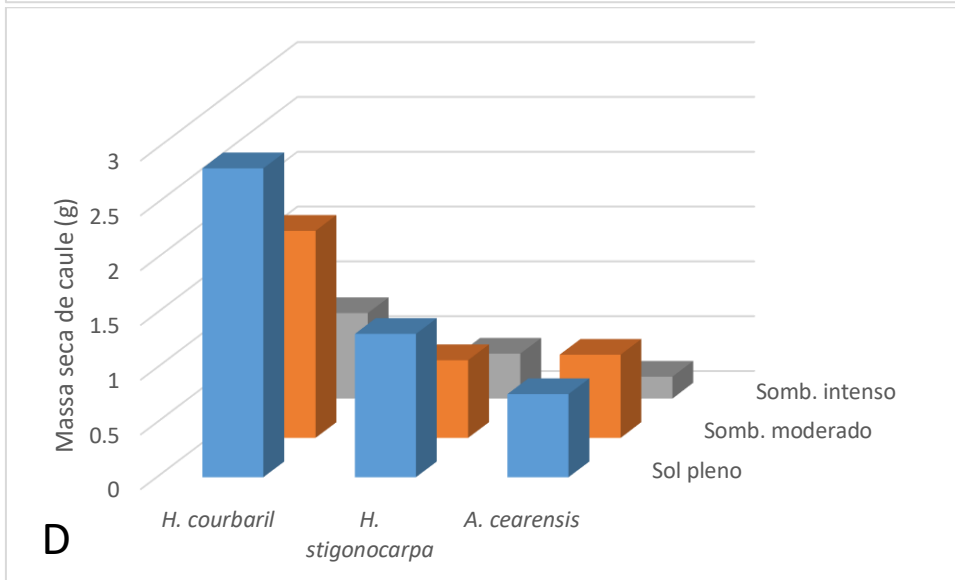
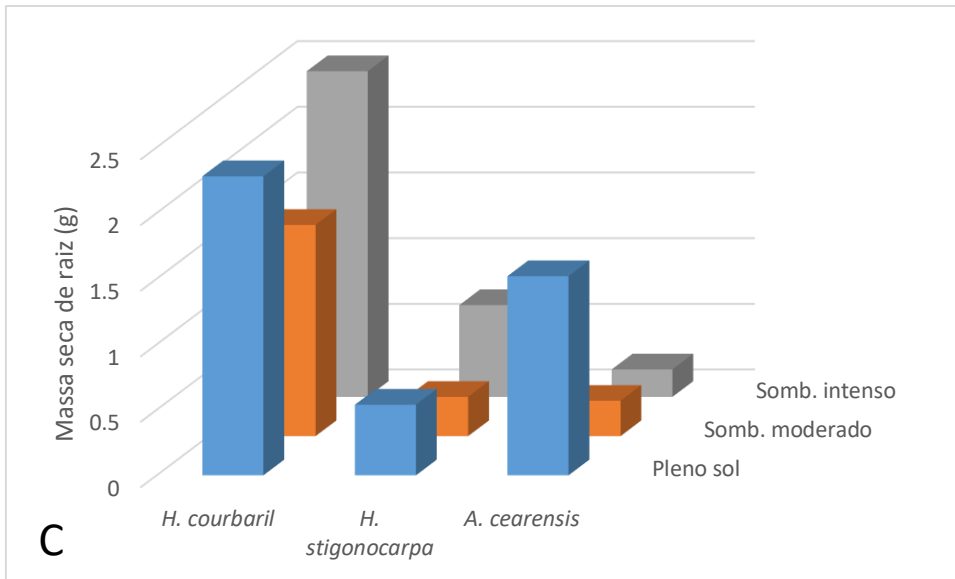


Figura 5. Massa seca total (A), área foliar (B), massa seca de raiz (C), massa seca de caule (D) e massa seca de folhas de plantas de *Hymenaea stigonocarpa* (A), *Hymenaea*

courbaril (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso).

A figura 6 apresenta os valores de crescimento em altura das espécies florestais. Embora tenhamos verificado diferença estatística entre os tratamentos, não houve tendência significativa para demonstrar o comportamento biológico por meio de uma equação matemática, tal como ocorreu com *H. courbaril* (sombreamentos moderado e intenso) e *H. stigonocarpa* (sombreamento intenso). Para os demais tratamentos foi possível demonstrar o efeito em altura por meio da análise de regressão. Os maiores valores de altura ocorreram ao pleno sol para *H. courbaril*, ao sombreamento médio para *H. stigonocarpa* e sombreamento intenso para *A. cearensis*. Nesse último, tal comportamento levou a planta ao estiolamento, visto também pelo diâmetro reduzido (figura 20) formado para esse tratamento.

De acordo com a figura 7, é possível observar uma tendência de comportamento de formação de maiores diâmetros nas mudas sob o tratamento a pleno sol, para as três espécies florestais.

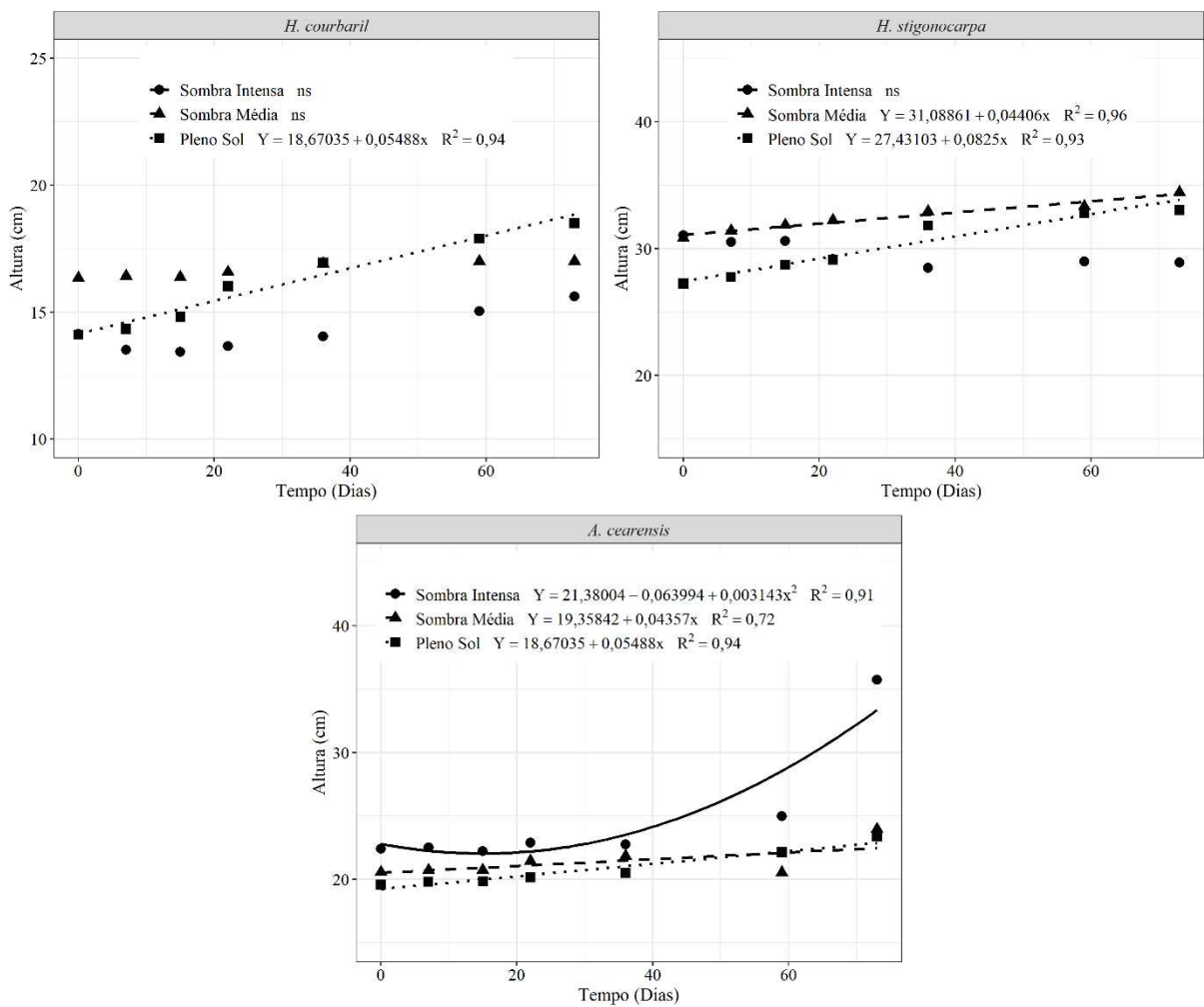


Figura 6. Análise da altura de *Hymenaea stigonocarpa* (A), *Hymenaea courbaril* (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso).

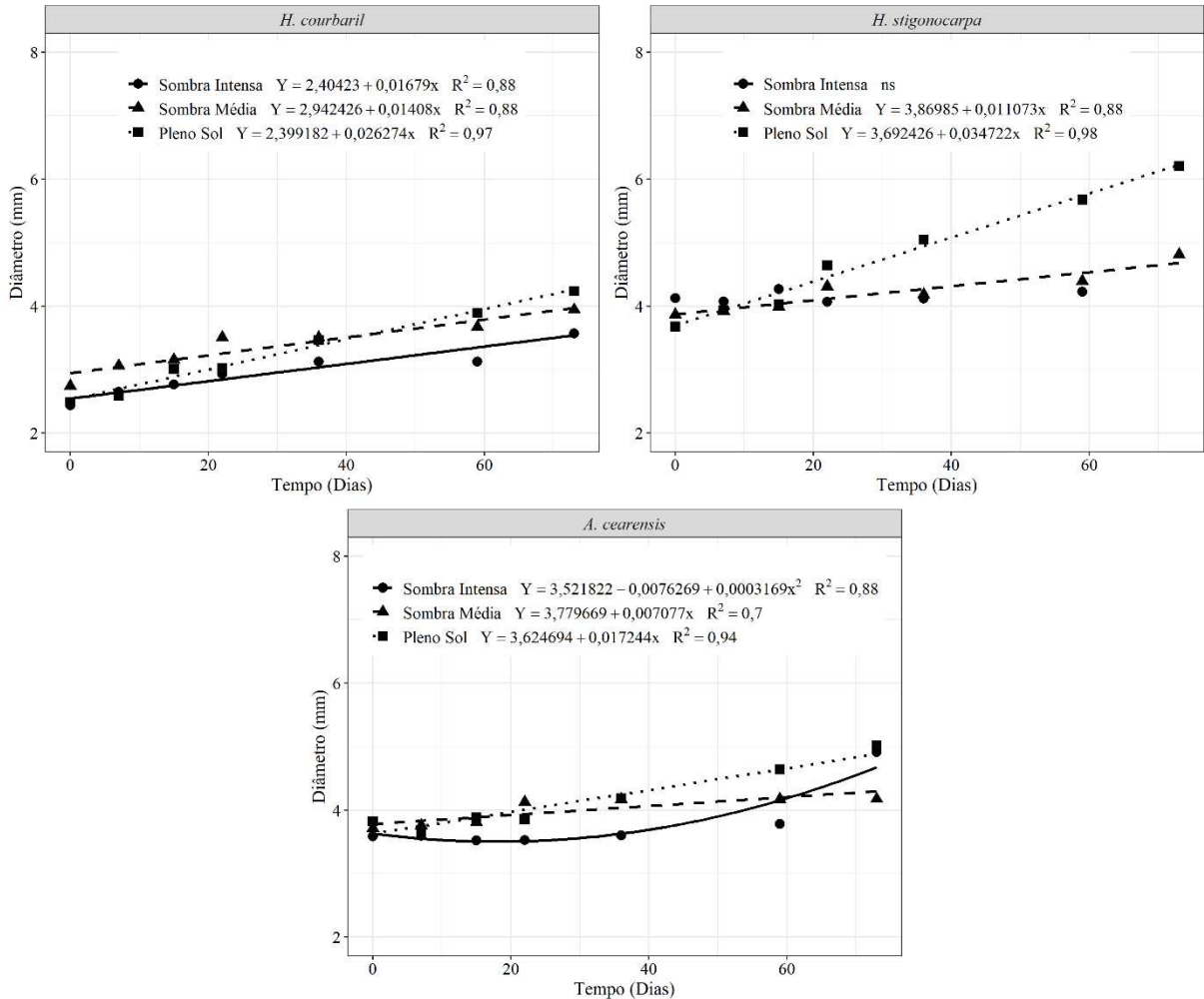


Figura 7. Análise do diâmetro de *Hymenaea stigonocarpa* (A), *Hymenaea courbaril* (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol, sombreamento moderado e sombreamento intenso).

Quanto ao o índice de plasticidade fenotípica (IP), os maiores valores foram observados para a espécie *H. stigonocarpa* (0,492), seguido por *H. courbaril* (0,411) e *A. cearensis* (0,407), fato que demonstra que as diferenças das medidas de crescimento entre os tratamentos refletiram no IP (tabela 6).

Tabela 6. Índice de plasticidade (IP) de plantas de *Hymenaea stigonocarpa*, *Hymenaea courbaril* e *Amburana cearensis* após 73 dias de cultivo em diferentes regimes de luz.

Variável		Médias			IP		
		<i>H. c</i>	<i>H. s</i>	<i>A. c</i>	<i>H. c</i>	<i>H. s</i>	<i>A. c</i>
AFE	max	494,502	492,717	499,242	0,751	0,681	0,483
	min	122,946	156,955	258,116			
H	max	34,437	35,833	19,088	0,160	0,347	0,182

	min	28,911	23,400	15,614			
D	max	6,206	5,023	4,234	0,321	0,222	0,157
	min	4,214	3,910	3,570			
RAF	max	90,946	110,855	122,893	0,544	0,709	0,583
	min	41,492	32,221	51,280			
RMSr	max	0,532	0,283	0,573	0,718	0,475	0,387
	min	0,150	0,148	0,351			
RMSc	max	0,377	0,571	0,316	0,295	0,378	0,265
	min	0,266	0,355	0,232			
RMSf	max	0,483	0,496	0,307	0,581	0,544	0,366
	min	0,202	0,226	0,195			
RPAR	max	0,810	0,910	0,970	0,407	0,967	0,196
	min	0,480	0,030	0,780			
Cc/Cr	max	1,948	2,175	1,482	0,159	0,403	0,181
	min	1,639	1,298	1,214			
H/D	max	7,199	9,200	4,558	0,247	0,478	0,047
	min	5,421	4,803	4,346			
TAL	max	0,293	0,359	0,455	0,805	0,976	0,927
	min	0,057	0,009	0,033			
TCRt	max	15,130	15,882	23,123	0,703	0,943	0,821
	min	4,498	0,903	4,137			
Índice de Plasticidade (Variáveis de crescimento)					0,474	0,594	0,383
A	max	8,110	6,920	5,300	0,515	0,655	0,726
	min	3,930	2,390	1,450			
gs	max	0,101	0,087	0,071	0,400	0,425	0,659
	min	0,060	0,050	0,024			
E	max	265,000	314,000	283,000	0,083	0,248	0,124
	min	243,000	236,000	248,000			
iEUA	max	91,400	94,900	79,300	0,258	0,586	0,250
	min	67,800	39,300	59,500			
Ci	max	2,500	1,920	2,307	0,256	0,214	0,708
	min	1,860	1,510	0,674			
Ci/Ca	max	0,665	0,782	0,698	0,096	0,252	0,093
	min	0,601	0,585	0,633			
k	max	0,356	0,309	0,231	0,551	0,013	0,756
	min	0,160	0,304	0,056			
EUA	max	3,980	4,840	3,210	0,621	0,791	0,598
	min	1,510	1,010	1,290			
Fv/Fm 8	max	0,822	0,827	0,805	0,036	0,080	0,012
	min	0,792	0,761	0,795			
Fv/Fm 12	max	0,803	0,802	0,800	0,142	0,272	0,098
	min	0,689	0,584	0,722			
Índice de Plasticidade (Variáveis fisiológicas)					0,271	0,320	0,366
Ca	max	1399	1642	698	0,409	0,548	0,331
	min	827	742	467			

Cb	max	657	925	321	0,667	0,777	0,461
	min	219	206	173			
car	max	281	307	118,6	0,249	0,495	0,191
	min	211	155	95,9			
Clt	max	2056	2567	1019	0,491	0,631	0,373
	min	1046	948	639			
Índice de Plasticidade (pigmentos)					0,454	0,613	0,339
D. est.	max	336	234	70,4	0,577	0,423	0,536
	min	142	135	32,7			
Esp. par.	max	90,8	70,4	116,8	0,471	0,436	0,707
	min	48	39,7	34,2			
Esp. Total	max	248	228	219,2	0,419	0,307	0,574
	min	144	158	93,4			
Índice de Plasticidade (variáveis anatômicas)					0,489	0,389	0,606
Média Geral					0,411	0,492	0,407

Em que: *H.c.* – *Hymenaea courbaril*, *H.s.* – *Hymenaea stigonocarpa*, *A.c.* – *Amburana cearensis*, AFE - Área Foliar Específica (cm² g⁻¹); H – Altura (cm), D – Diâmetro (mm), RAF - Razão Área Foliar Total/Massa Seca Total (cm² g⁻¹), MSR/MST - Razão Massa Seca Raiz/Massa Seca Total (g g⁻¹), MSC/MST - Razão Massa Seca Caule/Massa Seca Total (g g⁻¹), MSF/MST - Razão Massa Seca folha/Massa Seca Total (g g⁻¹), MSPA/MSR - Razão Massa Seca Parte Aérea/Massa Seca Raiz (g g⁻¹), Cc/Cr - Razão Comprimento Caule/Comprimento Raiz (cm cm⁻¹), RAD - Razão Altura/Diam (cm cm⁻²), TAL - Taxa Assimilatória Líquida (mg cm⁻² dia⁻¹), TCR - Taxa de Crescimento Relativo (mg g⁻¹ dia⁻¹), taxa de fotossíntese líquida (A) (μmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática (g_s) (mol m⁻² s⁻¹), transpiração (E) (mmol m⁻² s⁻¹), eficiência intrínseca no uso da água (iEUA=A/g_s) e eficiência no uso da água (EUA = A/E), concentração intercelular de CO₂ (C_i) (μmol mol⁻¹), eficiência instantânea de carboxilação (k=A/C_i) (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ Pa⁻¹) e a razão concentração interna / concentração externa de CO₂ (C_i/C_a), Fv/Fm 8 – fluorescência da clorofila *a* às 8:00h da manhã, Fv/Fm 12 - fluorescência da clorofila *a* às 12:00h, teores de clorofila *a* (*Ca*), clorofila *b* (*Cb*), carotenóides (*car*), D. est – densidade estomática (mm²), Esp. Par. – Espessura do parênquima paliçádico (μm), Esp. Total – espessura foliar total (μm).

Observamos ainda que o ambiente sob sombreamento intenso proporcionou um maior número de plantas mortas de forma acumulativa, correspondendo a 85% do total de plantas de *H. stigonocarpa*, 60% para *H. courbaril* e 65% do total de plantas de *A. cearensis* (figura 8).

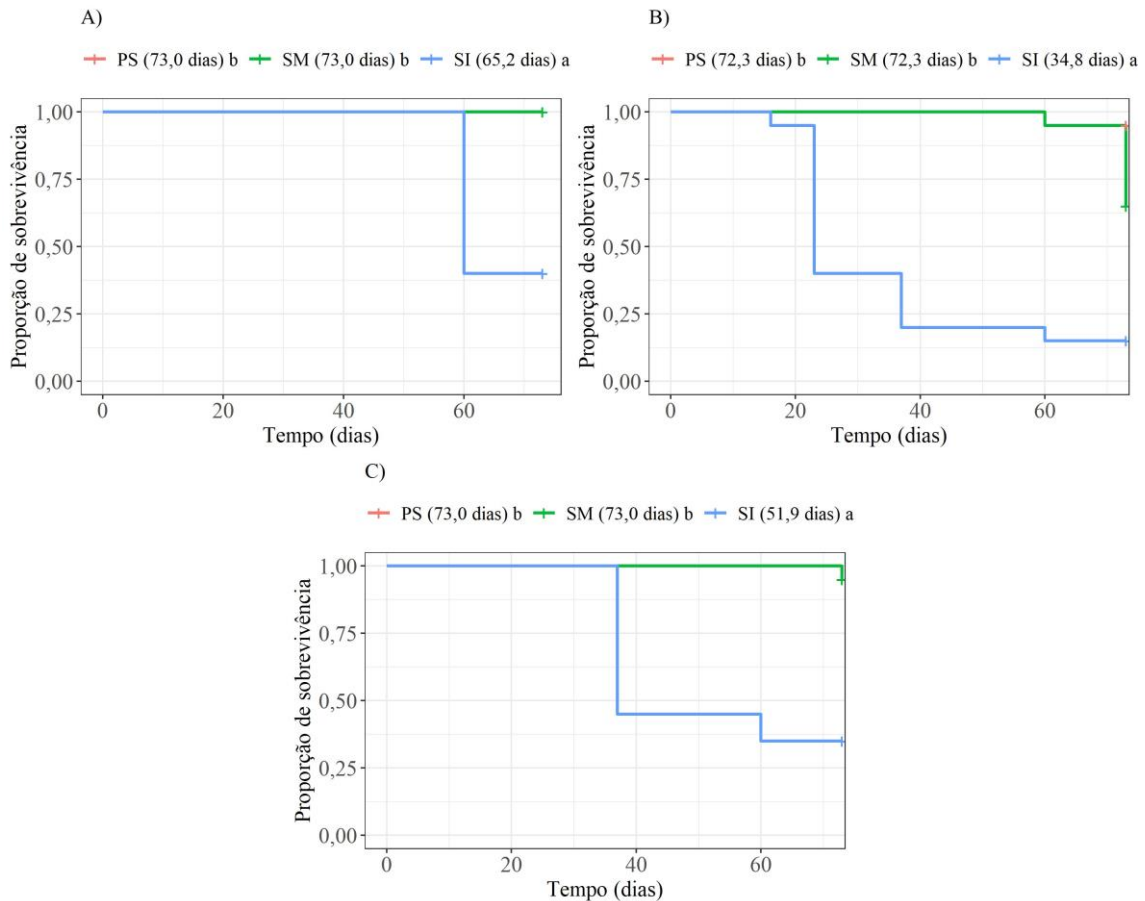


Figura 8. Percentual de sobrevivência de mudas de *Hymenaea courbaril* (A), *Hymenaea stigonocarpa* (B) e *Amburana cearensis* (C) em diferentes regimes de luminosidade (pleno sol (PS), sombreamento moderado (SM) e sombreamento intenso (SI)).

4. Discussão

A maioria das plantas desenvolve mecanismos para se aclimatar aos ambientes aos quais estão se desenvolvendo, sobretudo no que diz respeito às mudanças de luminosidade. Essa capacidade de aclimação é devido à sua flexibilidade de fenótipos, denominada de plasticidade fenotípica, capaz de gerar ajustes morfológicos, anatômicos e fisiológicos, promovendo variação conforme a exposição à radiação e as características de cada espécie (BIREAHLIS e FERMINO JUNIOR, 2020).

As folhas são influenciadas pela intensidade de luz, desde as primeiras etapas de desenvolvimento até a fase adulta, se aclimatando de acordo com as condições médias de radiação preponderante durante a morfogênese. O aumento da luminosidade é capaz de prover o crescimento na espessura da folha e altera diversas estruturas anatômicas, além disso, causa alterações nos tecidos fotossintetizantes, acarretando mudanças na densidade estomática, número e tamanhos das células epidérmicas e nos espaços intercelulares.

Sendo assim, a densidade estomática, ou seja, o número de estômatos por unidade de área da superfície foliar, pode ser influenciada pela intensidade e qualidade da radiação solar a que as plantas estão expostas, denotando ser um mecanismo de plasticidade.

A formação e o desenvolvimento dos estômatos são regulados por um aparato de fotorreceptores, os quais respondem tanto a diferenças na intensidade quanto na qualidade da radiação, tais fotorreceptores são os criptocromos, fitocromo A e fitocromo B, em associação, promovem o desenvolvimento dos estômatos, assim, percebe-se que tanto fotorreceptores responsivos à alta fluência de fótons quanto aqueles responsivos a baixa fluência, como fitocromos B e A, respectivamente, interagem entre si na promoção do desenvolvimento dos estômatos (ARAÚJO et al., 2019). Percebemos assim que as folhas desenvolvidas a pleno sol geraram maior densidade estomática se comparadas com as folhas crescidas em condição sombreada (figura 1).

Mesquita et al. (2022) descrevem que os estômatos são altamente responsivos à luminosidade e tal como observamos, esses autores identificaram que o maior número de estômatos ocorreu em plantas de *Solanum lycopersicum* crescidas a pleno sol ao comparar com outros ambientes sombreados. Martins et al. (2009) perceberam que a maior densidade estomática de plantas de *Mikania glomerata* foi obtida quando cultivadas em ambiente a pleno sol, ambiente que contribuiu para o aumento na temperatura o que favoreceu uma maior densidade estomática, que segundo os autores, é para otimizar os processos de trocas gasosas e transpiração.

Ainda segundo Bireahls e Fermino Junior (2020), a densidade estomática tende a se elevar em plantas expostas a altas irradiâncias, o que proporciona um aumento na absorção de CO₂ e conseqüente aumento no metabolismo fotossintético. Tal modificação morfofisiológica foi constatada em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* e *Eucalyptus benthamii* desenvolvidas sob diferentes intensidades luminosas em viveiro.

No que se refere à espessura total da folha os diferentes níveis de sombreamento promoveram alterações nesse atributo (figura 1). O regime de maior luminosidade preponderante induziu uma aclimação para as três espécies no sentido de otimizar a captura de energia luminosa, em níveis energéticos mais adequados para os processos fotossintéticos.

Uma característica marcante de folhas crescidas à sombra, quando comparadas às folhas desenvolvidas a pleno sol, é uma maior área foliar seguida de redução na espessura do limbo foliar, tal qual observado neste estudo. A redução na espessura do limbo foliar, concomitante ao aumento da área foliar, comumente ocorre em função de diminuição na espessura do parênquima paliçádico e esponjoso, esse comportamento ocorre no intuito de otimizar a captação da radiação na condição de sombreamento, o que contribui para uma melhor absorção da radiação pelos tecidos do mesofilo, aumentando a presença de tecidos fotossintetizantes expostos a condição ótima de radiação e também evita possíveis prejuízos aos eventos metabólicos ou de desenvolvimento da planta dependentes de luz.

O aumento da espessura do limbo foliar na condição de pleno sol ocorre em função de modificações no padrão de expansão de células do mesofilo, alongando-se, ou do aumento do número de células do parênquima paliçádico no intuito de otimização da captação e distribuição da luz (ARAÚJO et al., 2019; SANTOS et al., 2014; PTUSHENKO et al., 2016).

Estudos semelhantes foram apontados por Pinheiro et al. (2022) em produção de plantas de *Hippeastrum stylosum*, por Almeida et al. (2021) com produção de *Eustoma grandiflorum* e também por Silva et al. (2021) em plantas de *Acca sellowiana*, cujos autores destacam que o desenvolvimento de folhas mais espessas e com maior proporção de parênquima paliçádico em mudas sob alta intensidade de luz foi um mecanismo para aumentar o uso de luz disponível, estratégia associada a espécies não tolerantes ao sombreamento.

Notadamente ao que se refere à espessura do parênquima paliçádico, os maiores valores foram observados para os ambientes com maior luminosidade incidente (figura 1). O aumento na espessura do mesófilo se deve, principalmente, ao maior parênquima paliçádico presente.

Tal como observamos, Moura et al. (2022) verificaram que as folhas das mudas de *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts apresentaram plasticidade fenotípica, ou seja, alterações no tamanho e na espessura das folhas conforme a mudança do ambiente luminoso sendo que na maior sombra observou-se diminuição na espessura de todos os tecidos foliares e, conseqüentemente, na espessura total das folhas. Os autores ainda apontam que as folhas mais finas nas plantas cultivadas à sombra permitem uma melhor distribuição da luz difusa em toda a copa da planta, permitindo que a fotossíntese ocorra de forma mais eficiente em toda a planta, por outro lado, o aumento da espessura do parênquima paliçádico e esponjoso a pleno sol foi responsável pela homogeneização da distribuição e melhor aproveitamento da luz, minimizando os danos causados pela elevada oferta luminosa.

Observamos que a fotossíntese (tabela 2) não diferiu ente os tratamentos para *H. stigonocarpa*, em *H. courbaril* não houve diferença entre o tratamento com luz intensa e luz moderada, já para *A. cearensis* somente o tratamento com luz moderada possuiu valores superiores enquanto nos demais tratamentos as plantas observadas tiveram suas capacidades assimilatórias com valores inferiores a metade daqueles encontrados com tratamento de interceptação de luz moderado, visto que os menores resultados para o tratamento a pleno sol podem estar relacionados a processos de fotoinibição (SANTOS et al., 2022). Ainda segundo Santos et al. (2022) fotossíntese líquida (*A*) é uma característica própria de cada vegetal e as condições ambientais influenciam diretamente a ontogênese e as características morfofisiológicas, determinando desta forma os padrões de resposta dos indivíduos.

A disponibilidade limitada de luz, no tratamento sob sombreamento intenso, causou perdas na fase fotoquímica da fotossíntese gerando baixa taxa de assimilação de CO₂, que possivelmente foi marcado pela baixa taxa de transporte de elétrons, o que pode ter reduzido a produção de ATP e NAPDH para a fase bioquímica da fotossíntese (SILVA et al., 2021).

A condutância estomática (*gs*) seguiu o mesmo comportamento da *A* (tabela 2), não diferindo entre os tratamentos para *H. stigonocarpa*, não diferindo entre os tratamentos com luz intensa e sombreamento moderado para *H. courbaril* e tendo maiores resultados para o tratamento com sombreamento moderado para *A. cearensis*. Resultados semelhantes para *A* e *gs* também foram observados por Ribeiro et al., (2022), quando foram encontrados os maiores valores sob condições intermediárias de

sombreamento, afirmando uma forte relação entre essas variáveis. Provavelmente, segundo os autores, as condições de sombreamento moderado melhoraram a captura de CO₂ pelas folhas, influenciando diretamente a fotossíntese. Por outro lado, as condições de plena luz solar ou sombra extrema possivelmente induziu o fechamento estomático para evitar danos ao aparelho fotossintético, tal como visto para as mudas de *A. cearensis*.

Segundo Fermino Junior e Fockink (2017) há também uma relação entre a *g_s* e a transpiração (*E*). De acordo com os autores, a densidade e as dimensões dos estômatos em folhas de diferentes espécies arbóreas apresentam grande variação nas respostas à luminosidade, evidenciando distintas estratégias adaptativas. Portanto, o aumento da luminosidade induz uma adaptação foliar no sentido de manter a densidade estomática e reduzir a dimensão dos estômatos assim, a redução nas dimensões estomáticas deve promover aumento da resistência à passagem de água por transpiração, mantendo a capacidade de captura de CO₂ e evitando um estresse hídrico em ambientes com maior luminosidade. Este comportamento é um mecanismo de defesa contra luminosidade excessiva; as plantas limitam a abertura do estômato para evitar a perda de água, reduzindo a taxa de transpiração (LIMA et al., 2016).

Felseburgh et al. (2016) apontam que o comportamento transpiratório de mudas sob diferentes intensidades de luz pode ser variável, entretanto, em condições de boa disponibilidade hídrica, as plantas geralmente apresentam altas taxas transpiratórias, enquanto que, à medida que a água no solo vai se tornando escassa, a planta fecha os estômatos como forma de reduzir as perdas de água e economizar a que está disponível no solo, reduzindo também a taxa transpiratória, que foi o observado no presente estudo. Os autores obtiveram resultados semelhantes ao dessa pesquisa ao produzirem mudas de *Aniba parviflora* sob sombreamento artificial, onde observaram maiores taxas de transpiração nas plantas que estavam sob os maiores níveis de sombreamento (tabela 2), refletindo o status hídrico das plantas em tais ambientes, no entanto, estudos mostram que o aumento da irradiância pode promover as maiores taxas de transpiração ou a não alteração da mesma em diferentes níveis de sombreamento.

O nível de sombreamento também afetou de forma significativa a relação *C_i/C_a* das mudas das espécies florestais (tabela 2). Os valores apresentados pelas plantas sob sombreamento intenso apresentaram aumento nos valores da relação *C_i/C_a*, assemelhando-se aos resultados das plantas sob radiação intensa.

Os valores da relação *C_i/C_a* no tratamento com sombreamento moderado permaneceram relativamente inferiores aos demais tratamentos, mostrando a prevalência do consumo de CO₂ atmosférico nos sítios de redução (ciclo de Calvin-Benson) nas mudas sob esse sombreamento. Portanto, de acordo com os dados do presente estudo, possivelmente a manutenção satisfatória da abertura estomática e da atividade bioquímica da Rubisco (*C_i/C_a*) no sombreamento moderado contribuíram para o melhor desempenho fotossintético das mudas neste tratamento. Assim, é aceito que nas folhas fotossintetizantes, a condutância estomática está correlacionada com a taxa fotossintética e coordenada com a necessidade de CO₂ do mesófilo, de modo que a razão *C_i/C_a* é mantida em um valor constante ou decrescida (USHIMARU, 2021).

A eficiência no uso da água (EUA) relaciona o somatório de biomassa acumulada pela unidade de água utilizada, fisiologicamente isso pode ser definido como

a relação entre a taxa de carbono assimilada pela planta através da fotossíntese (A) e a quantidade de água perdida através da transpiração (E) (JACINTO JUNIOR et al., 2019). Assim, as plantas perdem água à medida que assimilam o CO_2 e economizar água reduz a captura desse gás. Portanto, as plantas sob pleno sol foram mais eficientes no uso de água (EUA) do que as sob sombreamento intenso (tabela 2).

Klein et al. (2021) apontam que a EUA pode variar entre espécies situadas no mesmo ambiente e entre diferentes condições climáticas, pode interferir na produtividade biológica bem como no consumo hídrico e expressa quantitativamente o comportamento momentâneo das trocas gasosas na folha.

Estes resultados se devem ao fato de que a radiação solar influencia a ação estomática, principalmente a intensidade luminosa e a temperatura. Dessa forma, plantas submetidas aos maiores níveis de radiação solar sofrem maior influência do déficit de pressão de vapor que atua como indicador de equilíbrio térmico entre a planta e o meio externo, levando ao fechamento estomático para reduzir as perdas de água, consequentemente aumentando a eficiência do uso da água. O incremento nos valores de eficiência no uso da água é justificado pelo fato de que o fechamento estomático afeta mais a saída da molécula de água do que a quantidade de CO_2 fixado. Os maiores valores de eficiência do uso da água nos ambientes com maior incidência de radiação solar ocorrem em decorrência da baixa disponibilidade hídrica presente no solo, influenciando no fechamento estomático para reduzir a transpiração (POMPELLI et al., 2010).

A eficiência intrínseca do uso da água (iEUA) representa a relação entre a taxa assimilatória líquida e condutância estomática (A/g_s). A iEUA reduziu substancialmente com o aumento dos níveis de sombreamento (tabela 2), embora não tenha demonstrado diferença estatística para os ambientes a pleno sol e com sombreamento moderado para as três espécies florestais. Este comportamento pode ser justificado pelo fato de que a abertura e o fechamento estomático regulam as trocas gasosas foliares, onde sob condições estressantes diminuem a perda de água por meio do maior grau de fechamento dos estômatos e consequentemente a absorção de CO_2 é restringida. Dessa forma, as maiores eficiências intrínsecas no uso da água indicam que maior quantidade de CO_2 em detrimento da menor perda de água, assim, a condutância estomática decresce mais rápido do que a taxa de assimilação fotossintética (A), justificando os maiores valores de $A.g_s^{-1}$ a pleno sol (TAIZ et al., 2017; BESSA et al., 2017).

Em relação à concentração interna de CO_2 (tabela 2), verificamos que as plantas dos jatobás, mesmo apresentando menor valor de condutância estomática, também apresentaram maior concentração interna de carbono (C_i). A maior concentração intercelular de carbono mesmo sob baixa condução estomática, pode indicar que a fotossíntese não estaria sendo restringida somente pelo fechamento estomático, ou pela concentração de CO_2 dentro da câmara subestomática, mas por outros fatores bioquímicos também relacionados à disponibilidade de luz, a exemplo a síntese de ATP e NADPH e a atividade enzimática, as quais são necessárias à redução e, portanto, para a utilização do CO_2 existente nos espaços intercelulares (SILVA et al, 2020).

No que se refere ao comportamento observado para a *A. cearensis*, Fernandes et al. (2014) apontam que valores elevados de concentração interna de CO_2

(C_i) associados à condutância estomática, indicam acréscimo na eficiência instantânea de carboxilação ocorrido em função da disponibilidade de ATP e NADPH e do substrato para a rubisco. A elevação da C_i também pode ser justificada pela baixa condutância do mesófilo, a qual reduz a capacidade difusiva de CO_2 , já o aumento da C_i , sob baixos valores de potencial hídrico foliar e baixa condutância estomática, pode estar relacionado a um decréscimo na eficiência de carboxilação e limitação da regeneração de ribulose-1,5bi-fosfato carboxilase/oxigenase.

A eficiência de carboxilação (k) foi reduzida no sombreamento intenso para as espécies de jatobá (tabela 2), que apresentou as menores relações $A.C_i^{-1}$ observadas. Assim, a eficiência de carboxilação apresentou uma forte correlação com a fotossíntese em todos os níveis de luminosidade estudados. Neste sentido, a reduzida disponibilidade de luz sob sombreamento mais intenso influenciou para que ocorresse o decréscimo na k , principalmente pela redução na quantidade e atividade da Rubisco, aliada aos efeitos da baixa radiação na síntese de NADPH e ATP na etapa fotoquímica, o que culminou diretamente na redução da velocidade de fixação de CO_2 (Silva et al, 2020).

Para os resultados visto para *A. cearensis*, percebemos que o aumento excessivo da luz acima da capacidade de utilização pela fotossíntese resultou em uma condição de fotoinibição, onde são observadas alterações na atividade do fotossistema II que podem ocasionar diminuição do rendimento quântico da fotossíntese e os danos fotoinibitórios podem originar mudanças nas propriedades físico-químicas das membranas do tilacóide e ocasionar inatividade do transporte de elétrons gerando assim o comprometimento do rendimento quântico do FSII, aumento da dissipação do excesso de energia não fotoquímica e sobretudo, a diminuição da eficiência da carboxilação (SILVA et al, 2020).

Segundo Lawlor et al. (2002) a maior k pode estar relacionada ao aumento dos níveis de proteínas visto que ocorre uma maior alocação de N em proteínas fotossintéticas como a ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco). O suprimento de N determina a síntese de aminoácidos e proteínas e, em última análise, de todos os componentes celulares. Uma taxa rápida de assimilação de CO_2 requer altas quantidades de muitos componentes dos cloroplastos, particularmente os complexos de clorofila-proteína, transportadores de elétrons e componentes redutores de NADP^+ dos tilacoides, além da enzima de assimilação de CO_2 (Rubisco).

Pela análise de fluorescência da clorofila a as três espécies mantiveram o F_v/F_m alto (próximo de 0,8) durante o amanhecer (figura 3), para todas as condições de luminosidade. Ao meio-dia, todas as espécies apresentaram um decréscimo do F_v/F_m mais pronunciado para as mudas cultivadas sob sol pleno (figura 4), fato que pode-se afirmar que as mudas sob sol pleno apresentaram fotoinibição dinâmica, já que houve diferença entre os valores do amanhecer e do meio-dia para esse tratamento. A diminuição reversível do F_v/F_m que ocorreu em ambas as espécies provavelmente reflete a regulação dinâmica do excesso de energia absorvida relacionada à atividade do ciclo das xantofilas, como também observado em folhas jovens de *Guazuma ulmifolia* (Calzavara et al., 2015). Para os demais tratamentos as espécies florestais foram capazes de resistir a alta intensidade de luz e não foi observada fotoinibição dinâmica, como evidenciado pela manutenção de um alto F_v/F_m . A alta capacidade de regulação dinâmica contribui para a

proteção do sistema de transporte de elétrons e dos pigmentos fotossintéticos frente aos danos promovidos pela radiação.

O decréscimo no rendimento quântico efetivo do FSII a pleno sol é um indicativo de que parte da luz absorvida não foi convertida em energia fotoquímica e associando este fator ao aumento na concentração de carotenoides para este tratamento, é reafirmado que a energia luminosa não utilizada fotoquimicamente é teoricamente dissipada na forma fluorescência ou calor. Por outro lado, o aumento no rendimento quântico do FSII no sombreamento intenso indica que embora pouca luz chegasse aos fotossistemas, a quantidade de luz passível de interceptação foi aproveitada fotoquimicamente (SILVA, 2020). Isto porque, a diminuição na fluorescência é comumente associada a um aumento na dissipação por calor, sendo este processo relacionado à presença de carotenoides (tabela 4), que auxiliam na dissipação do excedente energético na forma de calor, e isso se dá principalmente pela interconversão das formas de violaxantina a zeaxantina (ciclo das xantofilas). Além disso, esses pigmentos podem auxiliar na preservação das moléculas de clorofila contra danos foto-oxidativos, evitando a fotolesão no FSII e também contribuir para captação de fótons propiciando manutenção de altas taxas fotossintéticas (SILVA, 2020).

Os teores de pigmentos fotossintetizantes, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, razão entre clorofila *a* e *b*, carotenóides e razão entre clorofila total e carotenóides (tabela 4) mostraram diferença significativa para as espécies *H. stigonocarpa* e *H. courbaril* entre os níveis de luminosidade e não diferiram para *A. cearensis*. O teor de pigmentos clorofilados presentes nas folhas de plantas cultivadas em ambientes sombreados representa uma ferramenta eficaz para elucidar o impacto do mecanismo de aprimoramento da absorção de luz pelos pigmentos fotossintéticos. Em geral, folhas submetidas a condições de sombreamento exibem uma maior concentração de pigmentos clorofilados em comparação com aquelas cultivadas sob pleno sol. Essa estratégia pode ser interpretada como uma medida adotada pela espécie para aprimorar a captação da radiação solar, dada a menor disponibilidade de luz solar nesses ambientes.

Segundo Araújo et al., (2019) maiores teores de clorofila total, clorofila *a* e *b* observados nas condições de sombreamento ocorrem como uma forma de adaptação à condição de sombra, sendo este um dos fatores ligados à eficiência fotossintética e consequentemente, ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes é a presença de desses pigmentos foliares. Ainda segundo esses autores as folhas de sombra apresentam maior concentração de clorofila por grama de massa seca do que folhas expostas diretamente ao sol, assim, a combinação das clorofilas *a* e dos pigmentos acessórios possibilitam que as plantas captem maior quantidade de radiação solar fotossinteticamente ativa, como também observaram que os teores de carotenoides específicos que participam do ciclo da xantofila são maiores em folhas crescidas ao sol, pela maior atuação destes carotenoides na dissipação de energia na forma de calor.

Segundo Ferreira et al. (2012) e Felseburgh et al. (2016), é frequente encontrar uma proporção relativamente maior de clorofila *b* em plantas que crescem em ambientes sombreados. Esse aumento tem o propósito de ampliar a habilidade de absorver vários comprimentos de onda, contribuindo para o transporte de energia em direção a uma molécula específica de clorofila, que desempenha um papel essencial nas reações

fotoquímicas da fotossíntese. A redução da relação clorofila a/b, que tende a ocorrer à medida que a intensidade de radiação diminui, está relacionada ao aumento do espectro vermelho distante *a* nas condições sombrias. Isso resulta em um incremento nas reações do fotossistema II, que possui uma maior quantidade de clorofila *b* em relação a clorofila *a*. Esse fenômeno provavelmente age como um mecanismo de adaptação das plantas a ambientes com predominância do espectro vermelho distante.

Desenvolver mudas florestais de diferentes espécies a níveis de sombreamento distintos, resultou em mudanças nos parâmetros de crescimento. Para *H. courbaril*, as maiores alturas foram observadas para o tratamento a pleno sol e para *H. stigonocarpa* as maiores alturas foram para os tratamentos sob sol pleno e sombreamento moderado (figura 6), acompanhados pelo crescimento em diâmetro, o qual foi superior no tratamento a pleno sol (figura 7). O aumento pronunciado em altura para plantas de *A. cearensis* do tratamento sob sombreamento intenso pode ter sido decorrente de um alongamento do caule e isto poderia caracterizar um processo de estiolamento, no entanto, com a redução na disponibilidade luminosa foi observada significativa redução para o parâmetro diâmetro das mudas.

O estiolamento induzido pela baixa intensidade luminosa pode ter sido favorecido pelas temperaturas mais amenas nas folhas, devido à abertura dos estômatos e a fixação de carbono pelas plantas, geralmente, plantas cultivadas em condições de baixa disponibilidade de luz tenderiam a investir maior quantidade de fotoassimilados na parte aérea, além disso, o maior alongamento celular contribuiria para maior altura sob ambientes sombreados (FELSEMBURGH et al., 2016).

Pacheco et al. (2013) apontam que, geralmente, este maior crescimento em altura em ambientes sombreados é atribuído ao fenômeno do estiolamento, como ocorreu para a *A. cearensis*, é uma forma de escapar do déficit de luz, buscando um melhor aproveitamento da baixa intensidade luminosa, associado ao fato do diâmetro ter sido menor com o aumento do sombreamento, levando à conclusão de que o maior crescimento em condições de sombreamento não caracteriza a formação de uma planta apta a ser utilizada em programas de reflorestamento.

O crescimento em diâmetro observado sob condições de maior luminosidade (figura 7) se constitui então, em uma forma de adaptação ambiental ocorrente principalmente devido à atividade cambial, estimulada pelos carboidratos produzidos pela fotossíntese, e em decorrência da maior taxa de assimilação líquida de CO₂ observada no ambiente a pleno sol. Relacionando-se também a isso, a necessidade de um sistema vascular eficiente frente as condições de maior intensidade luminosa associadas a um fluxo transpiratório intenso.

O aumento da AFE nos maiores níveis de sombreamento é uma das maneiras da planta aumentar sua superfície fotossintetizante, assegurando maior aproveitamento de baixas intensidades luminosas fazendo com que as plantas aumentem a proporção investida no crescimento em área foliar resultando em aumento na expansão celular ao longo da lâmina foliar.

A AFE aumentou significativamente em função do aumento dos níveis de sombreamento (tabela 5), indicando que durante o desenvolvimento da planta o regime de luz pode afetar a estrutura foliar e partição de assimilados, sendo que as plantas

cultivadas em baixa intensidade de luz muitas vezes têm folhas mais finas e maiores. Geralmente, estas alterações têm por objetivo aumentar a captação da luz incidente, aumentando a eficiência fotossintética da planta, sendo considerado um fator importante na maximização do ganho de carbono por unidade de massa foliar, em condições de baixa luminosidade. Por outro lado, a redução da área foliar em plantas sob sol pleno (figura 20B) pode ser considerada uma importante defesa contra a perda excessiva de água e danos no aparato fotoquímico, que poderia ser benéfica, uma vez que menos material vegetal é exposto a eventuais danos por excesso de luz (FELSEMBURGH et al. 2016; LIMA et al., 2016; BARTIERES et al., 2020).

A TAL expressa o balanço entre o material produzido pela fotossíntese e aquele perdido através da respiração, podendo ser influenciado pelos fatores ambientais, principalmente da radiação solar sendo o acúmulo de matéria seca por unidade de área foliar. O sombreamento proporcionou redução dos valores da TAL para todas as espécies (tabela 5); a TAL reflete a eficiência fotossintética líquida das plantas e está diretamente ligada com a produção da matéria seca produzida por unidade de área foliar por unidade de tempo, todavia, quanto maior a taxa assimilatória líquida maior é o crescimento da planta (FALQUETO et al., 2009). Segundo Oliveira et al. (2011) a queda nos valores de TAL pode estar ligada na redução acentuada do incremento fotossintético líquido e aumento na respiração celular, em virtude da redução da atividade fotossintética que possibilita no maior gasto de energia para a manutenção do metabolismo celular da planta.

A taxa de crescimento relativo (TCR) foi superior para as plantas que se desenvolveram sob sol pleno (tabela 5), seguindo o mesmo comportamento da TAL indicando uma potencial aclimação para esse regime de luminosidade sobre as plantas. A TCR expressa o incremento na massa de matéria seca, por unidade de peso inicial, em um intervalo de tempo ($g\ g^{-1}dia^{-1}$); segundo Lima et al. (2007) a análise de crescimento estabelece que a taxa de crescimento de uma planta ou de qualquer órgão dela é uma função do tamanho inicial, isso indica que esta medida pode ser mais precisa, uma vez que considera o material alocado sobre o material já existente, de forma que fica proporcional ao tamanho da planta e da sua capacidade fotossintética. Conforme Sabino et al. (2020), as condições de pleno sol, proporcionaram as melhores respostas de crescimento em todas as variáveis para *Handroanthus serratifolius* e *H. ochraceus*, quando comparado para ambientes sombreados, gerando mudas de melhor qualidade nesse ambiente.

Em relação a taxa de crescimento relativo da raiz (tabela 5), percebemos que houve investimento de fotoassimilados na formação da raiz tuberosa (xilopódio) de *A. cearensis* para o ambiente sob sol pleno, o que indica que este é um órgão essencial ao armazenamento de nutrientes e água para as plantas durante o período de escassez de água no solo, no qual ocorre perda das folhas, sendo esta uma estratégia de suma importância para a seleção natural, principalmente quando as espécies estão inseridas em ambientes de intensa estacionalidade climática (OLIVEIRA et al., 2019), como a *A. cearensis*, de ocorrência na caatinga, fato também observado por Ramos et al. (2004), no qual relata que o sombreamento afetou a acumulação de biomassa pelas plantas de *A. cearensis* de modo que a biomassa total foi maior a pleno sol.

O ponto de compensação luminoso é o nível mínimo de intensidade de luz que uma planta precisa para realizar a fotossíntese e, ao mesmo tempo, manter seu consumo de oxigênio e produção de dióxido de carbono em equilíbrio. Abaixo desse ponto, a planta não é capaz de gerar energia suficiente através da fotossíntese para compensar a energia consumida durante a respiração. Em outras palavras, a fotossíntese não é suficiente para sustentar as necessidades metabólicas da planta, sendo este mais baixo em plantas adaptadas a condições de sombreamento e mais alto em plantas que crescem sob alta intensidade de luz.

Já o ponto de saturação luminosa é o nível máximo de intensidade de luz a partir do qual a planta não consegue mais aumentar sua taxa de fotossíntese, mesmo que a intensidade luminosa continue aumentando. Neste ponto, a planta atingiu sua capacidade máxima de absorção de luz e utilização eficiente dessa luz na fotossíntese e qualquer luz adicional não resultará em um aumento significativo na taxa de produção de carboidratos pela planta, sendo este mais alto em plantas que crescem sob pleno sol, onde a intensidade luminosa é alta, e mais baixo em plantas que crescem em condições sombreadas. Em outras palavras, a quantidade de radiação incidente nas folhas na qual não há mais resposta fotossintética é chamada de ponto de saturação luminoso, no qual a fotossíntese líquida estabiliza, assim, apenas parte da radiação incidente nas folhas é absorvida pelas moléculas de clorofila e aproveitada efetivamente na fotossíntese e a energia excedente da radiação absorvida por uma molécula de clorofila é dissipada na forma de calor ou refletida na forma radiação com diferentes comprimentos de onda (TAIZ et al., 2017; LARCHER, 2006).

Os resultados das curvas de resposta à luz das três espécies florestais foram discrepantes entre os regimes de luminosidade (figura 2). As plantas sob sombreamento intenso tiveram valores de saturação muito inferiores em relação aos demais tratamentos, no entanto, os valores dos parâmetros fotossintéticos avaliados estão de acordo com o que se espera de espécies de sol quando são sombreadas: baixa A, baixos pontos de compensação e de saturação de luz e baixa respiração foliar. Estas alterações propiciam que as plantas realizem fotossíntese sob menor disponibilidade de luz. Contudo, elas implicam também que as plantas assimilem uma quantidade menor de carbono, sendo, possivelmente, incapazes de assimilar o que seria necessário para sua sobrevivência em longo prazo em ambiente intensamente sombreado (MARRONI, 2019).

Analisando as espécies estudadas, as três foram capazes de atingir seus pontos de compensação sob sombreamento, apresentando assim potencial de se aclimatar a esta condição, porém, isso por si não deve garantir sua sobrevivência em longo prazo em ambientes muito sombreados, pois tendo menor capacidade fotossintética (figura 2), essas espécies poderiam ter de usar suas reservas para compensar o menor ganho de carbono (figura 5) e também para rebrotar. Essa demanda por carbono poderia levar ao esgotamento das reservas, o que levaria as plantas a morrerem sob sombreamento intenso (figura 8), algo como adensamento vegetal em ambiente natural (MARRONI, 2019).

Verificamos ainda que para todas as espécies florestais a produtividade quântica aparente da assimilação de CO₂ (PQA) diminuiu com a elevação do sombreamento para as espécies *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*, já para *A. cearensis*, o

maior valor para esta variável manteve-se no sombreamento moderado, acompanhando o decréscimo na assimilação de CO₂ (tabela 3). A PQA é um parâmetro que mede a eficiência com que as plantas convertem a energia luminosa em dióxido de carbono em energia química na forma de carboidratos durante o processo de fotossíntese, frequentemente usada para avaliar o desempenho fotossintético das plantas. A PQA assimilada pelas plantas e a quantidade de luz absorvida durante a fotossíntese, em outras palavras, ela expressa a eficiência com que as plantas usam a luz disponível para produzir carboidratos. A PQA é um parâmetro importante para compreender o desempenho fotossintético das plantas em diferentes condições ambientais, especialmente em relação à intensidade luminosa e também disponibilidade de água, nutrientes, temperatura e a concentração de CO₂ na atmosfera.

A Eficiência Quântica Aparente da Assimilação de CO₂ (EQA) é um termo que descreve a eficiência com que as plantas utilizam a luz para realizar a fotossíntese, convertendo dióxido de carbono em compostos orgânicos, sendo uma medida da eficácia da fotossíntese em relação à intensidade de luz. É expressa como a quantidade de dióxido de carbono assimilado pelas plantas em relação à quantidade de luz absorvida, ou seja, ela quantifica a taxa de produção de carbono em relação à quantidade de luz que uma planta absorve durante a fotossíntese.

A EQA varia dependendo da intensidade da luz e da qualidade espectral da luz, ou seja, quais comprimentos de onda de luz estão disponíveis para a planta. Em condições ideais, a EQA é mais alta em intensidades luminosas moderadas, onde as plantas podem usar eficazmente a luz para a fotossíntese, em intensidades muito baixas ou muito altas de luz, a eficiência diminui, uma vez que a fotossíntese se torna limitada por outros fatores, como a disponibilidade de CO₂ ou a capacidade da planta de lidar com o excesso de energia luminosa, mas neste estudo verificamos que a EQA decresceu com o aumento da luminosidade (tabela 3).

Verificamos ainda que a relação da fotorrespiração com o sombreamento está relacionada ao fato de que a fotorrespiração aumentou em condições de alta luminosidade (tabela 3). Assim, quando as plantas estão expostas a altas intensidades de luz, a fotossíntese é altamente eficiente e as plantas assimilam CO₂ para a produção de carboidratos. No entanto, sob essas condições, a taxa de fotossíntese é tão alta que a concentração de O₂ no interior das células aumenta, e isso favorece a ocorrência da fotorrespiração. Em contrapartida, em condições de sombreamento, onde a intensidade da luz é significativamente reduzida, a fotossíntese é menos eficiente, e a fotorrespiração torna-se menos proeminente. Isso ocorre porque, em condições de baixa luminosidade, as plantas têm menos energia luminosa para a fotossíntese e, portanto, a concentração de O₂ nas células é mais baixa, o que inibe a fotorrespiração. Tal comportamento ocorreu para as três espécies florestais.

Embora a luz seja um recurso-chave limitante à fotossíntese, tanto a baixa como a alta disponibilidade de radiação fotossinteticamente ativa podem limitar o desempenho fotossintético da planta e em condições em que a planta é submetida a alta radiação solar, pode ocorrer exacerbação da fotoinibição e de fotodanos ao aparelho fotossintético, caso não haja o desenvolvimento de mecanismos fotoprotetores; e isso pode levar a estresses, conquanto um excesso de energia de excitação no aparelho

fotoquímico pode acarretar estresse oxidativo severo, refletindo em diminuição do crescimento vegetativo e menores taxas fotossintéticas. Esse excesso de energia pode ser dissipado por meio do ciclo das xantofilas ou pela manutenção do fluxo de elétrons envolvendo vias alternativas, como a fotorrespiração, de modo a reduzir a pressão oxidativa e proteger a maquinaria fotossintética (SOUZA et al., 2022), tal como observamos para todas as espécies florestais.

A aclimação de plantas a diferentes regimes de luz desempenha um papel crítico em sua ecologia, fisiologia e sobrevivência. As plantas têm a notável capacidade de ajustar sua estrutura e função em resposta à disponibilidade de luz, otimizando a captura de energia solar para a fotossíntese e minimizando o estresse causado pela radiação excessiva. Essa capacidade de aclimação é essencial para a exploração bem-sucedida de uma variedade de habitats ecológicos e para a colonização de áreas recém-expostas à luz, como clareiras na floresta.

No entanto, em ambientes de baixa luminosidade, onde a capacidade fotossintética pode ser limitada, as plantas que não conseguem ajustar efetivamente sua fisiologia e morfologia podem sofrer uma série de consequências negativas, como crescimento deficiente, alocação ineficiente de recursos e mortalidade. Da mesma forma, em ambientes de alta luminosidade, onde há um risco de dano causado pelo excesso de radiação, a aclimação é vital para a proteção contra a fotoinibição e a maximização da fotossíntese. Assim percebemos que o sombreamento intenso foi prejudicial para as espécies florestais analisadas, agregando um menor percentual de sobrevivência de plantas (figura 8). Marroni et al. (2019) observaram que 43% das plantas de *Hyptis campestris*, *Cissampelos ovalifolia* e *Lepidaploa chamissonis* morreram sob o efeito do sombreamento, o que sugere que essas espécies seriam capazes de aclimatar suas folhas por um período de tempo, porém não conseguiriam lidar com a baixa disponibilidade de recurso luminoso em longo prazo. Fato também observado por Queiroz et al. (2015), no qual relatam mortalidade de plantas de 42,5% de *Platypodium elegans*, o que sugere intolerância das plantas ao sombreamento.

O índice de qualidade de Dickson alcançou valores superiores para o ambiente sob sol pleno para as três espécies florestais (tabela 3), atingindo os resultados de 0,6 para *H. stigonocarpa*, 0,68 para *A. cearensis* e um valor elevado de 0,97 para *H. courbaril*. Isso se deve ao fato dos maiores valores nas relações Alt/Diam serem observados nos tratamentos com maior sombreamento e a MSPA/MSR e MST serem maiores para o tratamento sob sol pleno (tabela 2).

Embora o IQD seja um bom índice que avalia simultaneamente a robustez e a distribuição de biomassa nas mudas, o emprego deste deve ser relativizado com demais aspectos de qualidade das mudas, como o padrão de altura e diâmetro mais viáveis para o plantio em campo (ALMEIDA et al., 2023).

Resultados semelhantes foram apontados por Viana et al. (2022) para *Copernicia alba*, para *Guazuma ulmifolia* e *Hymenaea courbaril* segundo Almeida et al. (2023) e para *Cajoba arborea* segundo Carvalho et al. (2021).

O índice de qualidade de Dickson é um bom indicador da qualidade das mudas, pois seu cálculo considera a robustez e o equilíbrio da distribuição da biomassa na muda, considerando os resultados de diversos parâmetros importantes utilizados para

avaliar a qualidade das mudas (ALMEIDA et al., 2023). Souza e Peres (2016) afirmam que, quanto maior o valor do índice de qualidade de Dickson, melhor é a qualidade da muda produzida.

A análise do IP mostrou que a intensidade luminosa influenciou modificações das características fisiológicas, morfológicas e anatômicas para as espécies florestais do presente estudo. Sendo assim, a luminosidade desempenha um papel fundamental na regulação do índice de plasticidade em plantas, pela capacidade que as plantas têm de ajustar seu crescimento e desenvolvimento em resposta às condições luminosas para otimizar a captação de luz, a realização da fotossíntese e, assim, maximizar sua aclimação ao ambiente circundante. Essa plasticidade é uma estratégia que permite que as plantas prosperem em uma variedade de ambientes. Tal como visto na tabela 6, os parâmetros morfológicos são mais plásticos que os parâmetros fisiológicos. Há de se considerar que mesmo que espécie *H. stigonocarpa* tenha apresentado maior valor geral para o índice de plasticidade, a espécie apresentou o maior percentual de mortalidade no sombreamento intenso.

5. Conclusão

As estruturas de cobertura proporcionaram diferentes condições de sombreamento e microclimas e conseqüentemente afetando o crescimento, formação de biomassa e as variáveis fisiológicas de todas as espécies florestais durante seu desenvolvimento inicial em viveiro.

As espécies *Hymenaea courbaril*, *H. stigonocarpa* e *Amburana cearensis* possuem plasticidade fenotípica, permitindo a aclimação dessas espécies a diferentes intensidades luminosas, sobretudo ao sol pleno e condições moderadas de sombreamento, tornando assim essas espécies recomendadas para projetos de reflorestamento, recuperação de áreas degradadas e enriquecimento florestal.

No entanto, quando as mudas das três espécies florestais foram submetidas ao sombreamento intenso, foram observadas respostas não satisfatórias, sobretudo em relação ao crescimento e taxas fotossintéticas, muito embora, mesmo diante da existência de mecanismos de adaptação à sombra, foi evidenciado que as condições de maior sombreamento não foram as mais adequadas ao melhor desempenho das espécies.

O índice de qualidade de Dickson demonstrou que as mudas das três espécies florestais apresentam melhor qualidade e maiores condições de estabelecimento em campo quando produzidas em condições de sol pleno pelo fato de mostrarem habilidade para conciliar o crescimento e o investimento em atributos adaptativos sob condições de alta radiação.

O índice de plasticidade demonstrou que a espécie *Hymenaea stigonocarpa* foi a mais plástica quando comparada com *Hymenaea courbaril* e *Amburana cearensis*, embora tenham apresentado plasticidade semelhante. Observamos o tempo de início da mortalidade das plantas sob o efeito de cada sombreamento. O sombreamento intenso favoreceu a mortalidade inicial das plantas de *H. courbaril* aos 60 dias, a partir do 16º dia para *H. stigonocarpa* e a partir do 37º dia para *A. cearensis*.

6. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, J.M.; CALABONI, C.; RODRIGUES, P.H.V. Pigments in flower stems of *lisianthus* under different photoselective shade nets. **Ornamental Horticulture**, v.27, n.4, p.535-543, 2021. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v27i4.2389>

ALMEIDA, R.S.; CARVALHO, C.A.; CUNHA, F.L.; DINIZ, P.C.; GONZAGA, M.D.; MELO, L.A. Período de sombreamento na produção de mudas de espécies florestais. **Revista Ciência Agrícola**, v.21, 2023. <https://doi.org/10.28998/rca.21.13260>

ALMEIDA, R.S.; CUNHA, F.L.; ROSSI, J.A.; MELO, L.A. Intensidade de sombreamento e formulação de substrato afetam a qualidade de mudas de *Cordia trichotoma*. **Ciência Florestal**, v.33, n.3, e69010, 2023. <https://doi.org/10.5902/1980509869010>

ALMEIDA, R.S.D.; CUNHA, F.L.; ROSSI, J.A.; MELO, L.A.D. Intensidade de sombreamento e formulação de substrato afetam a qualidade de mudas de *Cordia trichotoma*. **Ciência Florestal**, v.33, 2023. <https://doi.org/10.5902/1980509869010>

ARAÚJO, L.L.N.; MELO, H.C.; CASTIGLIONI, G.L.; GONÇALVES, L.A. Intensidade de radiação influenciando características morfofisiológicas em folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd. **Iheringia, Série Botânica**, v. 74, e2019001, 2019. <https://doi.org/10.21826/2446-82312019v74e2019001>

ARAUJO, L.M.; NETO, M.R.C.; SEGUIN, E. A busca da efetividade do Acordo de Paris. **Revista Direito, Estado e Sociedade**, n. 54, p.280-309, 2019. <https://doi.org/10.17808/des.54.768>

AVOLA, G.; CAVALLARO, V.; PATANE, C.; RIGGI, E. Gas exchange and photosynthetic water use efficiency in response to light, CO₂ concentration and temperature in *Vicia faba*. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n.8, p.796-804, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.09.004>

BARTIERES, E. M.P.Q.; SCALON, S.; DRESCH, D. M.; CARDOSO, E.A.; JESUS, M.V.; PEREIRA, Z. V. Shading as a means of mitigating water deficit in seedlings of *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v.48, n.1, p.234-244, 2020. <https://doi.org/10.15835/nbha48111720>

BESSA, M.C.; LACERDA, C.F.; AMORIM, A.V.; BEZERRA, A.M.E.; LIMA, A. D. Mechanisms of salt tolerance in seedlings of six woody native species of the Brazilian Semiarid. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 1, p. 157-165, 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170018>

BIREAHL, A.; FERMINO JUNIOR, P.C.P. Plasticidade fenotípica em folhas de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista do Instituto Florestal**, v.32, n.2, p. 143-157, 2020. <https://doi.org/10.24278/2178-5031.202032203>

BRADSHAW, A.D. Unravelling phenotypic plasticity: why should we bother? **New Phytologist**, v. 170, n. 4, p. 644-648, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01761.x>

CALZAVARA, A.K.; BIANCHINI, E.; MAZZANATTI, T.; OLIVEIRA, H.C.; STOLF-MOREIRA, R.; PIMENTA, J.A. Morphoanatomy and ecophysiology of tree seedlings in semideciduous forest during high-light acclimation in nursery. **Photosynthetica**, v.53, n.4, p.597-608, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0151-0>

CALZAVARA, A.K.; ROCHA, J.S.; LOURENÇO, G.; SANADA, K.; MEDRI, C.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; MOREIRA, R.S.; OLIVEIRA, H.C. Acclimation responses to high light by *Guazuma ulmifolia* Lam. (*Malvaceae*) leaves at different stages of development. **Plant Biology**, v.19, n.5, p.720-727, 2017. <https://doi.org/10.1111/plb.12592>

CARVALHO, C.A.; OLIVEIRA, R.F.S.; RIBEIRO, I.F.N.; ANDRADE, R.A.; BRITO, R.S.; JUNIOR, D.L.T.; NASCIMENTO, M.M. Produção de mudas de *Cojoba arborea* (L.) Britton & Rose em diferentes substratos e níveis de sombreamento. *Scientia Naturalis*, v.3, n.1, p.124-132, 2021. <https://doi.org/10.29327/269504.3.1-12>

CORTEZ, P.A.; SILVA, D.C.; CHAVES, A.L.F. Manual prático de morfologia e anatomia vegetal, Editus, 2016. 92 p.

FALQUETO, A.R.; CASSOL, D.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.M.D.; OLIVEIRA, A.C.D.; BACARIN, M.A. Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. *Bragantia*, v.68, n.3, p.563-571, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052009000300002>

FELSEMBURGH, C.A.; SANTOS, K.J.S.; CAMARGO, P.B.; CARMO, J.B.; TRIBUZY, E.S. Respostas ecofisiológicas de *Aniba parviflora* ao sombreamento artificial. *Pesquisa Florestal Brasileira*, v. 36, n. 87, p. 201-210, 2016. <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.87.964>

FERMINO JUNIOR, P.; FOCKINK, G.D. Anatomia foliar de plantas jovens de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) sob diferentes níveis de sombreamento. *Scientia Agraria Paranaensis*, v.16, n.3, p.335-341, 2017. <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v16n3p335-341>

FERNANDES, E.T.; CAIRO, P.A.R.; NOVAES, A.B. Respostas fisiológicas de clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação sob deficiência hídrica. *Ciência Rural*, v. 45, n. 1, p. 29-34, 2014. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20120152>

FERREIRA, W.N.; ZANDAVALLI, R.B.; BEZERRA, A.M.E.; MEDEIROS FILHO, S. Crescimento inicial de *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke (Mimosaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altshul (Mimosaceae) sob diferentes níveis de sombreamento. *Acta Botanica Brasilica*, v.26, n.2, p.408-414, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000200016>

FONSECA, L.; ROITMAN, I.; JACOBSON, T.K.B.; OGATA, R.S.; SOLARI, R.A.F.; RIBEIRO, R. J.D.C. Viabilidade do hidrogel na recuperação de Cerrado sensu stricto com espécies nativas. **Floresta e Ambiente**, v.24, 2017. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.022716>

GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; JUSTINO, G. C.; NINA JUNIOR, A. D. R. Efeito do ambiente de luz no crescimento de plantas jovens de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Scientia Forestalis**, v.40, n.95, p.337-344, 2012.

JACINTO JÚNIOR, S.G.; MORAES, J.G.L.; SILVA, F.D.B.D.; SILVA, B.D.N.; SOUSA, G.G.D.; OLIVEIRA, L.L.B.D.; MESQUITA, R.O. Respostas fisiológicas de genótipos de fava (*Phaseolus lunatus* L.) submetidas ao estresse hídrico cultivadas no Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.34, n.3, p.413-422, 2019. <https://doi.org/10.1590/0102-7786343047>

KELLY, J.; JOSE, S.; NICHOLS, J.D.; BRISTOW, M. Growth and physiological response of six Australian rainforest tree species to a light gradient. **Forest Ecology and Management**, v.257, n.1, p. 287-293, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.09.008>

KLEIN, J.; RAMPIM, L.; KESTRING, D.; GUIMARÃES, V. F.; RODRIGUES, J. D. **Influência de protetores físicos coloridos nas trocas gasosas de plântulas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., cap. 15, p. 218-242, In: LIMA, F.S.; MELO NETO, B.A.; MELO, G.J.A.; CAVALCANTE, D.K.; SANTOS, T.R. Agricultura e Agroindústria no contexto do desenvolvimento rural sustentável, Ciência Digital, 2021.420p.**

KLEINE, T.; NÄGELE, T.; NEUHAUS, H.E.; SCHMITZ-LINNEWEBER, C.; FERNIE, A.R.; GEIGENBERGER, P.; GRIMM, B.; KAUFMANN, K.; KLIPP, E.; MEURER, J.; MÖHLMANN, T.; MÜHLHAUS, T.; NARANJO, B.; NICKELSEN, J.; RICHTER, A.; RUWE, H.; SCHRODA, M.; SCHWENKERT, S.; TRENTMANN, O.; WILLMUND, F.; ZOSCHKE, R.; LEISTER, D. Acclimation in plants the Green Hub consortium. **The Plant Journal**, v.106, n.1, p.23-40, 2021. <https://doi.org/10.1111/tpj.15144>

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2006. 532p.

LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. **Plant Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 275-294, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>

LICHTENTHALER, K.; WELBURN, A.R. Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls A e B of Leaf Extracts in Different Solvents. **Biochemical Society Transactions**, v.11, n.5, p.591-592, 1983. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>

LIMA, J.F.D.; PEIXOTO, C.P.; LEDO, C.A.D.S. Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.5, p.1358-1363, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000500013>

LIMA, R.E.M.; FARIAS, F.C.; BEZERRA, M.A.; BEZERRA, F.C. Parâmetros biométricos e fisiológicos de *Heliconia bihai* cultivada em região litorânea sob diferentes níveis de radiação solar. **Ornamental Horticulture**, v.22, n.1, p.50-57, 2016. <http://dx.doi.org/10.14295/oh.v22i1.616>

MAGALHÃES, N.S.; MARENCO, R.A.; MENDES, K.R. Aclimação de mudas de acariquara à alta irradiância. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.7, p.687-694, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000700006>

MARRONI, G.G.D. **Efeito do sombreamento sobre a fotossíntese e mortalidade em espécies não arbóreas do cerrado stricto sensu**. 52p. Dissertação (Mestrado em Biociências). Universidade Estadual Paulista, Assis, São Paulo, 2019.

MARTINS, J. R.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. D.; SILVA, A. P. O. D.; OLIVEIRA, C.; ALVES, E. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.82-87, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008005000040>

MESQUITA, A.C.; GAMA, D.R.S.; FELIX, A.T.R.; SILVA, B.S.; SARAIVA, B.L.; GOES, C.F.; CONCEIÇÃO, P.B.; NOGUEIRA, W.R.S. Leaf anatomy cultivars minitomates cultivated under different shade. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e409111031693, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i10.31693>

MOURA, A.P.C.; GIL, B.V.; PERBONI, A.T.; OLIVEIRA, F.L.R.; SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; DANNER, M.A. Morphophysiological adjustments to shade of jaboticaba tree saplings. **Revista Ceres**, v.69, n.4, p.400-407, 2022. <https://doi.org/10.1590/0034-737X202269040003>

NASCIMENTO, M.E.; BERTOLUCCI, S.K.V.; SANTOS, F.M.; SANTOS JUNIOR, J.M.; CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação morfológica de plantas jovens de *Copaifera langsdorffii* Desf. desenvolvidas em diferentes temperaturas. **Revista**

Brasileira de Plantas Medicinais, v.16, 931-937, 2014.https://doi.org/10.1590/1983-084X/11_176

NICOTRA, A.B.; ATKIN, O.K.; BONSER, S.P.; DAVIDSON, A.M.; FINNEGAN, E.J.; MATHESIUS, U.; POOT, P.; PURUGGANAN, M.D.; RICHARDS, C.L.; VALLADARES, F.; VAN KLEUNEN, M. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science*, v. 15, n. 12, p. 684–692, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.008>

OLIVEIRA, D.; PEIXOTO, C.; VIEIRA, E.; OLIVEIRA, S.; MACHADO, G.; FÁTIMA PEIXOTO, F. M. Índices fisiológicos de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) provenientes de sementes pré-embebidas em Stimulate®. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.13, p.1833-1846, 2011.

OLIVEIRA, M. C.; OGATA, R. S.; ANDRADE, G. A.; SANTOS, D. S.; SOUZA, R. M.; GUIMARAES, T. G.; SILVA JÚNIOR, M. C.; PEREIRA, D. J. S.; RIBEIRO, J. F. **Manual de viveiro e produção de mudas: espécies arbóreas nativas do Cerrado**, Brasília, DF: Universidade de Brasília, Rede de Sementes do Cerrado, 2016. 124p.

OLIVEIRA, M.M.D.; GALVÃO, E.K.D.S.; SOUZA, C.L.M.D.; BOAVENTURA, V.D.J.; OLIVEIRA, L.M.D.; CASTRO NETO, M.T.D.; PELACANI, C.R. Crescimento e partição de massa seca em plantas jovens de amburana (*Amburana cearensis* (Fr. All.) AC Smith) e de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.). **Ciência Florestal**, v.29, n.3, p.1142-1153, 2019. <https://doi.org/10.5902/1980509827189>

PACHECO, F.V.; PEREIRA, C.R.; SILVA, R.L.D.; ALVARENGA, I.C.A. Crescimento inicial de *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex. Benth. (*Fabaceae*) e *Chorisia speciosa* A. St.-Hil (*Malvaceae*) sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v.37, n.5, p.945-953, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000500017>

PINHEIRO, F.A.S.; FALCÃO, J.G.; SILVA, A.C.A.; MORAES, N.J.V.C.; SANTOS, J.; ZANANDREA, I.; PENHA JUNIOR, C. L. M.; CORREA, L.L.D. **Morfofisiologia e anatomia foliar de *Hippeastrum stylosum* Herb. em diferentes condições de luz**, cap.8, p.135-150. In: ROMERO, F.M.B.; CASTRO, R.B.; TELLO, J.C.R. Estudos Dendrológicos e Ecológicos na Amazônia: oportunidades e experiências, v.1, 2022. 176p.

POMPELLI, M.F.; BARATA-LUÍS, R.; VITORINO, H.S.; GONÇALVES, E.R.; ROLIM, E.V.; SANTOS, M.G.; ALMEIDA-CORTEZ, J.S.; FERREIRA, V.M.; LEMOS, E.E.; ENDRES, L. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, v.34, n.8, p. 1207-1215, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.03.001>

PTUSHENKO, V.V.; PTUSHENKO, O.S.; SAMOILOVA, O.P.; SOLOVCHENKO, A.E. An exceptional irradiance-induced decrease of light trapping in two *Tradescantia*

species: an unexpected relationship with the leaf architecture and zeaxanthin-mediated photoprotection. **Biologia Plantarum**, v.60, p.385-393, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10535-016-0593-7>

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2023. URL: <https://www.R-project.org/>.

RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; FAGG, C.W.; SOUSA-SILVA, J.C.; FRANCO, A.C. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.2, p.351-358, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062004000200014>

RIBEIRO, J.E.D.S.; COELHO, E.D.S.; FIGUEIREDO, F.R.A.; PEREIRA, W.E.; ALBUQUERQUE, M.B.D.; MELO, M.F. Aspectos morfofisiológicos de mudas de *Erythroxylum pauferrense* Plowman submetidas ao sombreamento. **Ciência Florestal**, v.32, n.1, p.395-416, 2022. <https://doi.org/10.5902/1980509862951>

SABINO, M.; FERNEDA, B.G.; MARTIM, C.C.; BOUVIÉ, L.; SILVA, C.C.; SOUZA, A.P.; SILVA, A.C.; FELIPE, R.T.A. Crescimento inicial de ipê-amarelo amazônico e de cerrado cultivados sob diferentes intensidades de sombreamento e comprimento espectral de onda. **Interciencia**, v.45, n.4, p.183-191, 2020.

SANTOS, A.S.; PAULETTO, D.; VIEIRA, L.C.S.; SOARES, J.C.R.; LIMA, R.C.N.; ROMANO, M.L.P.C.; TRIBUZY, E.S. Respostas fotossintéticas de *Dipteryx odorata* (aubl.) Willd sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.13, n.4, p.264-273, 2022. <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2022.004.0022>

SANTOS, M.S.; FEIJÓ, N.S.A.; SECCO, T.M.; MIELKE, M.S.; GOMES, F.P.; COSTA, L.C.B.; SILVA, D.C. Efeitos do sombreamento na anatomia foliar de *Gallesia integrifolia* (Spreng) Harms e *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.1, p.89-96, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000100013>

SCHOCK, A.A.; RAMM, A.; MARTINAZZO, E.G.; SILVA, D.M.; BACARIN, M.A.B. Crescimento e fotossíntese de plantas de pinhão-mansó cultivadas em diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.1, p.3-9, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662014000100001>

SCHULZ, D.G., AJALA, M.C., MALAVASI, M.D.M., MALAVASI, U.C. Alterações fisiológicas em mudas de *Eucalyptus grandis* (Hill) ex Maiden submetidas à fertilização nitrogenada e ação do etileno. **Ciência Florestal**, v.31, p. 85-105, 2021. <https://doi.org/10.5902/1980509822318>

SCREMIN-DIAS, E.; KALIFE, C.; MENEGUCCI, Z.R.H.; SOUZA, P.R.D. **Produção de mudas de espécies florestais nativas: manual**. Campo Grande: UFMS, 62 pag, 2006.

SHIMIZU, M.; ISHIDA, A.; TANGE, T.; YAGI, H. Leaf turnover and growth responses of shade-grown saplings of four Shorea rain forest species to a sudden increase in light. **Tree Physiology**, v.26, n.4, p.449-457, 2006. <http://doi.org/10.1093/treephys/26.4.449>.

SILVA, A.T.; PASQUAL, M.; ISHIDA, J.S.; ANTUNES, L. E.C. Aclimação de plantas provenientes da cultura in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.1, p. 49-53, 1995.

SILVA, D.F.; VILLA, F.; PIVA, A.L.; KLOSOSWIKI, E.S.; MEZZALIRA, E.J. Emergência e desenvolvimento de mudas de fisális sob telas de sombreamento coloridas e pleno sol. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.19, n.2, p.139-148, 2020. <http://doi.org/10.5965/223811711922020139>

SILVA, L.R. **Alterações morfofisiológicas em feijoa (*Acca sellowiana*) sob diferentes níveis de sombreamento**. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, 2020.

SILVA, L.R.; MOURA, A.P.C.; GIL, B.V.; ROHR, A.; ALMEIDA, S.M.Z.; DONAZZOLO, J.; PERBONI, A.T.; OLIVEIRA, F.L.R.; SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; GALON, L.; DANNER, M.A. Morphophysiological changes of *Acca sellowiana* (*Myrtaceae: Myrtoideae*) saplings under shade gradient. **Brazilian Journal of Biology**, v.84, e252364, 2021. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.252364>

SOUZA, A.H.D. **Efeitos interativos da concentração de CO₂ e da disponibilidade de luz sobre o crescimento, o desempenho fotossintético e a plasticidade fenotípica do cafeeiro**. 63p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2022.

SOUZA, L.R.; PERES, F.S.B. Uso de biofertilizantes à base de aminoácidos na produção de mudas de *Eucalyptus dunnii*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.36, n.87, p.211-218, 2016. <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.87.1127>

SULTAN, S.E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & Development**, v.5, n.1, p. 25-33, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**, 6. ed., Porto Alegre, RS: Artmed, 2017. 858p.

USHIMARU, T. **Influência do sombreamento sobre a fisiologia, crescimento e qualidade das mudas de juçara (*Euterpe edulis* Mart.)**. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2021.

VALLADARES, F.; ARRIETA, S.; ARANDA, I.; LORENZO, D.; SANCHEZ-GOMES, D.; TENA, D.; SUAREZ, F.; PARDOS, J.A. Shade tolerance, photoinhibition sensitivity and phenotypic plasticity of *Illex aquifolium* in continental Mediterranean sites. **Tree Physiology**, v.25, p.1041-1052, 2005. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.8.1041>

VALLADARES, F.; SANCHEZ-GOMES, D.; ZAVALA, M.A. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, v.94, p. 1103-1116, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>

VIANA, E.D.O.; BEZERRA, A.M.E.; PEREIRA, D.D.S.; LACERDA, C.F.D.; MEDEIROS FILHO, S. Crescimento e qualidade de mudas de três espécies de Copernicia sob diferentes condições de sombreamento. *Ciência Florestal*, v.32, n.4, p.2094-2112, 2023. <https://doi.org/10.5902/1980509866763>

VOLKWEIS, C.R.; DRANSKI, J.A.L.; ORO, P.; MALAVASI, U.C.; MALAVASI, M.D.M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. *Ciência Florestal*, v.24, 339-342, 2014. <https://doi.org/10.5902/1980509814571>

EFEITO DO DOADOR DE ÓXIDO NÍTRICO LIVRE E NANOENCAPSULADO NA RESPOSTA DE PLANTAS ARBÓREAS EM SEU PROCESSO DE RUSTIFICAÇÃO

Resumo: O óxido nítrico (NO) desempenha papel crucial como molécula sinalizadora em diversos processos biológicos das plantas, atuando na resposta delas a diferentes tipos de estresses ambientais. Embora a aplicação exógena de doadores de NO traga benefícios para as plantas, a sua relativa instabilidade torna desafiador o seu uso em contextos agrícolas e ambientais. A técnica de nanoencapsulação dos doadores de NO, que protege essas substâncias da rápida degradação, surge como uma abordagem promissora para expandir e viabilizar a aplicação externa de óxido nítrico em programas ambientais de recomposição. Diante disso, este trabalho teve como objetivo verificar o efeito da utilização de doador de NO, na forma livre e encapsulada em nanocápsulas poliméricas de quitosana, na aclimação de mudas de três espécies arbóreas nativas brasileiras, sendo: jatobá-da-mata (*Hymenaea courbaril*), amburana (*Amburana cearensis*) e jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa*). As mudas foram cultivadas durante 3 meses sob sombreamento moderado em um viveiro florestal e translocadas para o setor de rustificação, permanecendo por 3 meses, onde foram realizados os tratamentos: nanopartículas de quitosana contendo o S-nitrosoglutationa (NP-CS-GSNO) nas concentrações de 0,025; 0,5; 0,1 e 0,2 mM, S-nitrosoglutationa livre nas concentrações de 0,1 e 0,2 mM, além do Controle (sem adição do doador de NO). Para *H. stigonocarpa*, os tratamentos com GSNO livre ou nanoencapsulado não diferiram entre si, diferindo apenas do tratamento testemunha ao analisar as variáveis fisiológicas e de crescimento. *H. courbaril* teve comportamento semelhante em relação às variáveis de crescimento, porém em análise das variáveis fisiológicas, somente os tratamentos NP-CS-GSNO 0,1 e 0,2 mM diferiram dos demais tratamentos. *A. cearensis* manteve comportamento semelhante aos jatobás, tendo praticamente diferença apenas no tratamento testemunha em relação aos demais. Para as variáveis fisiológicas a concentração de 0,2 mM de NP-CS-GSNO apresentou melhor desempenho para condutância estomática e para a fotossíntese, por outro lado, os tratamentos com GSNO diferiram apenas da testemunha. Esses resultados indicam que a GSNO, doador de NO utilizado na forma livre e nanoencapsulada, apresenta efeitos fisiológicos benéficos quando disponibilizado para espécies florestais nativas, como *H. stigonocarpa*, *H. courbaril* e *A. cearensis*, desencadeando atividades de proteção e incremento no que tange a fotossíntese, condutância estomática e formação de biomassa.

Palavras-chave: *Hymenaea stigonocarpa*, *Hymenaea courbaril*, *Amburana cearensis*, aclimação, nanotecnologia.

1. Introdução

No contexto contemporâneo, a preservação da biodiversidade e a mitigação dos impactos antrópicos sobre os ecossistemas se erguem como imperativos científicos e ambientais. O processo de degradação de áreas ecologicamente sensíveis, o incremento do desflorestamento e as mudanças climáticas têm aguçado a urgência de empreender ações enérgicas para aplacar os danos perpetrados e estabelecer um equilíbrio ecológico sustentável. A pecuária expansiva, a agricultura intensiva e a exploração

desmesurada dos recursos naturais têm desencadeado a deterioração de ecossistemas outrora enriquecidos em biodiversidade e serviços ecossistêmicos.

Os danos ambientais no Brasil são sentidos em todos os biomas, sobretudo no Bioma Amazônico, cujo intenso desmatamento apoiado por políticas fracassadas causou significativos danos à Floresta Amazônica, simplesmente pelo papel da gestão política de 2019-2022 se solidarizar com madeireiros, mineiros e fazendeiros que promoveram o desmatamento, e agora secas, incêndios florestais e outras mudanças induzidas pelo homem que estão agravando os danos das motosserras (THE ECONOMIST, 2019). No entanto, as adoções de políticas inapropriadas não são exclusividade das gestões políticas recentes, visto que só nos últimos 50 anos, o Brasil perdeu 17% da extensão original da floresta amazônica, mais do que a área da França, para a construção de estradas e barragens, extração de madeira, mineração, plantio de soja e pecuária (THE ECONOMIST, 2019).

O desmatamento desenfreado configura-se como uma das primordiais contribuições do Brasil aos efeitos das mudanças climáticas (HUGUENIN; MEIRELLES, 2022). Nossos biomas são suprimidos para ceder espaço a atividades econômicas desprovidas de ponderação em relação às ramificações de longo prazo. A área desmatada no Brasil cresceu 22,3% em 2022 segundo o mais recente Relatório Anual de Desmatamento (RAD, 2023), do total desmatado em 2022, 58% ocorreu no bioma Amazônia, representando uma área de 1.192.635 ha desmatados e 62,1% do total de eventos de desmatamento em todo o Brasil. O bioma Cerrado aparece em seguida com 659.670 mil ha desmatados (32,1% da área e 8,3% dos alertas). A Caatinga ficou com 6,8% da área desmatada, totalizando 140.637 ha e 18,4% dos alertas. O Pantanal teve 31.211 ha desmatados (1,5% da área), seguido da Mata Atlântica com 30.012 ha desmatados (1,5% da área) e o Pampa com 3.087 ha (0,2%).

Nesse cenário, a produção meticulosa e numerosa de mudas arbóreas se consolida como uma estratégia estrutural para reverter tal panorama preocupante. A introdução criteriosa de mudas arbóreas em sítios reconhecidamente degradados ostenta-se como passo-chave na restauração dessas áreas. As árvores não só concorrem para a estabilização do solo e a contenção da erosão, mas também fomentam a reabilitação da flora e fauna endêmicas, engendrando microambientes propícios à regeneração.

A geração sistemática de mudas arbóreas, mediante alicerces científicos, perfaz uma abordagem multifacetada e indelével para a regeneração de ecossistemas degradados, contenção do desmatamento exacerbado e enfrentamento das

contingências decorrentes do aquecimento global. Para tanto iniciativas que visam implantação de corredores ecológicos, projetos agroflorestais, enriquecimento florestal e o cumprimento legal de recomposição de áreas de preservação permanente são necessárias para gerir projetos e selecionar áreas prioritárias para a conservação ambiental (GUARIZ; GUARIZ, 2020).

Estudos focados na análise da resposta de mudas de árvores a fatores abióticos de estresse, bem como na avaliação de estratégias utilizadas para melhorar sua tolerância ao estresse, são, portanto, essenciais para ajudar a aumentar o sucesso da restauração e ou recuperação florestal.

Estudos têm demonstrado o papel do óxido nítrico (NO) como molécula sinalizadora na indução da tolerância das plantas à seca, visto que, seu pequeno tamanho, propriedades redox e caráter hidrofóbico permitem sua participação efetiva na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como nas respostas ao estresse (KOLBERT *et al.*, 2021).

O NO oferece diversos benefícios às plantas, tais como elencados por Carmo *et al.* (2021): proteger as plantas do estresse oxidativo devido à indução de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX); regular a fisiologia estomática, aumentar a eficiência fotossintética; promover o acúmulo de osmólitos (como prolina e glicina betaína) e melhorar o estado da água em plantas submetidas a condições de seca e controlar o crescimento e o desenvolvimento das raízes.

No entanto, os doadores de NO são suscetíveis a fatores ambientais, como temperatura, luz e pH, que levam à liberação rápida e excessiva de NO e à perda de seus efeitos benéficos (SILVEIRA *et al.*, 2021). Para tanto a nanotecnologia traz novas aplicações agrícolas que têm se concentrado na pesquisa para a ativação do metabolismo secundário nas plantas e uso de nanopartículas como defesa às duras condições ambientais, adequadas para melhorar as características das plantas e sua implementação nas práticas silviculturais (BECERRA *et al.*, 2022).

Para isso, os progressos da nanotecnologia nos setores agrícola e ambiental desbravaram oportunidades para o progresso de partículas transportadoras de doadores de óxido nítrico, tal como o GSNO, por exemplo. Isso viabilizou novas abordagens, mais seguras e específicas, a fim de intensificar o desenvolvimento das plantas. A utilização de nanopartículas (NP) como carregadores é relevante, visto que as dimensões na escala nanométrica conferem a essas partículas uma área de superfície

maior para interação e facilitam a transposição de membranas. Isso é complementado pelo controle da liberação de óxido nítrico e pela salvaguarda contra mecanismos de deterioração (LOWRY *et al.*, 2019).

Para Fincheira *et al.* (2021), grande ênfase tem sido dada aos nanomateriais (NMs) devido à sua eficiência na modulação do crescimento das plantas sendo uma ferramenta eficiente devido às suas propriedades químicas, térmicas e físicas (composição da superfície, densidade dos locais e reatividade), que desencadeiam uma melhor resposta das plantas. Essas partículas constituem uma tecnologia inteligente focada em melhorar a eficiência do uso de GSNO e a liberação controlada, minimizando perdas no ecossistema. A aplicação de NMs em plantas pode melhorar a entrega específica do alvo e a liberação controlada no tempo para modular suas respostas fisiológicas e metabólicas. Além disso, os NMs são caracterizados por sua formulação de baixo custo, biodegradabilidade, baixa toxicidade e maior atividade, permitindo produção em larga escala para aplicação na agricultura.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tratamento com nanopartículas de quitosana contendo o S-nitrosoglutationa (NP-CS-GSNO) e S-nitrosoglutationa livre (GSNO livre) nas respostas morfofisiológicas de mudas de jatobá-da-mata (*Hymenaea courbaril*), amburana (*Amburana cearensis*) e jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa*), em comparação com o tratamento controle em mudas sob rustificação em viveiro florestal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DAS MUDAS ARBÓREAS

Os frutos de *H. courbaril* foram colhidos em árvores matrizes de 10-12 m de altura localizadas no município de Primeiro de Maio/PR (22°53'14''S, 50°56'42''W). Já os frutos de *H. stigonocarpa* e *A. cearensis* foram colhidos na região de Guanambi/BA (14°13'01'' S, 42°46'40'' W). A coleta das sementes foi realizada com catação no chão e retirada na copa das árvores com uso de podão. Em seguida, todos os frutos foram beneficiados e as sementes retiradas. As espécies *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* possuem fruto indeiscente, com sementes inseridas em um arilo farináceo, fazendo-se necessário o uso de martelos para abrir os frutos e separar as sementes do arilo. A amburana possui fruto seco deiscente com sementes aladas, sendo necessário retirar as alas para o plantio.

Todas as mudas foram produzidas no viveiro florestal do Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas – LABRE, pertencente a Universidade Estadual de Londrina – UEL, seguindo toda a rotina de produção de mudas em viveiro, conforme recomendações de Oliveira *et al.* 2016. A semeadura ocorreu de forma indireta, em caixas de 1,00 X 1,00 X 0,60 m, com utilização de areia como único substrato. A repicagem ocorreu após a formação das plântulas, descartando aquelas com possíveis defeitos ou má-formação. As plântulas foram transferidas para tubetes de polipropileno de 280 cm³ com substrato comercial (Ouro Negro[®]).

As mudas permaneceram num viveiro florestal, sob sombreamento de 50% com tela tipo sombrite, com regime de irrigação automático, três vezes por dia por 30 minutos, até atingirem as condições desejáveis de desenvolvimento, algo que perdurou por um tempo médio de três meses, atingindo altura média de 15 cm para jatobá-da-mata e 10 cm para jatobá do cerrado e amburana. Após esse período as plantas foram transferidas para o setor de rustificação do viveiro, mantendo-se sob sol pleno por três meses. O tempo total de permanência em viveiro foi em torno de 6 meses, tempo necessário para as mudas atingirem altura entre 20 e 30 cm, tamanho ideal para serem transferidas para o campo.

2.2 PREPARAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS (NPS) E DOS TRATAMENTOS

A GSNO livre e as suspensões de NPs de quitosana contendo a S-nitrosoglutationa (GSNO) como molécula doadora de NO foram disponibilizadas pela Prof^a. Dr^a. Amedea Barozzi Seabra da Universidade Federal do ABC. A GSNO foi sintetizada e caracterizada segundo a metodologia de Silveira *et al.* (2016). Glutathione reduzida (GSH) foi dissolvida em ácido clorídrico (1 mol L⁻¹) a 1,2 mol L⁻¹. Uma quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO₂) foi adicionado à solução de GSH a fim de nitrosar GSH, em banho de gelo por 30 minutos e agitação magnética. Posteriormente realizou-se a adição de acetona e esta solução filtrada e lavada várias vezes com água fria obtendo o GSNO precipitado. O sólido obtido foi liofilizado durante 24 horas e armazenado a -20°C.

Para a obtenção de NPs, as mesmas foram preparadas usando o método de gelificação iônica (MARCATO *et al.*, 2013; PELEGRINO *et al.*, 2017). Resumidamente, a quitosana (CS) foi dissolvida em ácido acético (1%) e 26 mmol L⁻¹ de GSH foram adicionados à solução. Após 90 minutos de agitação magnética à temperatura

ambiente ($25\pm 2^\circ\text{C}$), uma solução de tripolifosfato de sódio (TPP) a $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$ foi adicionada gota a gota a a solução CS/GSH. A mistura final foi magneticamente agitada por pelo menos 90 minutos e obtendo concentração final de GSH igual a 20 mmol L^{-1} .

Para obter NPs de quitosana contendo GSNO, uma quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO_2) foi adicionada à suspensão de NP-CS/TPP-GSH, seguido por manutenção por 60 minutos no escuro. A concentração final de NP-CS/TPP-GSNO foi de 20 mM. As formulações foram caracterizadas por tamanho, dispersão dinâmica de luz, análises de rastreamento de NPs, potencial zeta, eficiência de encapsulamento, índice de polidispersividade (PDI) e pH.

Todas as formulações foram diluídas em água destilada para obter as concentrações desejáveis. As concentrações as quais as plantas foram submetidas foram de 0,025; 0,05; 0,1 e 0,2 mM com NP-CS-GSNO; 0,1 e 0,2 mM na condição de doador livre de GSNO e o próprio tratamento controle (0 mM).

Anteriormente à disponibilização das formulações para as plantas, todas as mudas foram elevadas à capacidade de campo, recebendo 30 mL de formulação aplicada diretamente no substrato das plantas. Esse procedimento ocorreu por três vezes, em dias intercalados. Somente após o último fornecimento das soluções, as mudas foram trasladadas para o ambiente sob pleno sol.

2.3 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS AVALIADOS

Os parâmetros de troca gasosa foliar foram medidos de forma quinzenal após o fornecimento das soluções. A folha mais jovem totalmente expandida de cada muda foi utilizada para análises fisiológicas. As medições foram realizadas em dias ensolarados entre 7h e 10h. A fotossíntese líquida (A), a condutância estomática (g_s) foram determinadas com base no analisador de gases infravermelho portátil modelo LICOR 6400 XT (Biosciences, Lincoln NE, EUA), que foi conectada a uma câmara de 6cm^2 sob radiação fotossinteticamente ativa saturada ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

A medida da fluorescência da clorofila a foi realizada no terço médio da primeira folha totalmente expandida, na face abaxial, evitando-se a nervura central, no período matutino (entre 7-10 h), com um fluorômetro OS1p (Opti Sciences), que permitiu verificar a eficiência máxima do fotossistema II (razão F_v/F_m) e a existência de fotoinibição em folhas intactas (SHIMIZU *et al.*, 2006). Durante 15 minutos, as folhas foram mantidas no escuro com cliques específicos para medida da fluorescência inicial

(F0). Em seguida, a fluorescência máxima (Fm) foi analisada após pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (Fv) ($Fv = Fm - FO$).

As medições da condutância estomática foram realizadas no terço médio da primeira folha totalmente expandida, na face abaxial, no período matutino (entre 7-10 h), com auxílio de um porômetro SC-1 (METER Group).

2.4 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

Ao final do experimento, foram analisadas variáveis morfológicas de todas as mudas. O diâmetro do caule foi medido no coleto de todas as plantas, para o qual utilizamos um paquímetro digital. A altura e o comprimento da raiz foram medidos com o auxílio de régua milimetrada e a área foliar total (AF), com um integrador de área foliar portátil modelo LI-3000CAP (LiCor Inc., Lincoln, NE, EUA). Para a determinação das massas secas foliar (MSF), caulinar (MSC) e radicial (MSR), os diferentes órgãos das mudas foram separados e acondicionados em sacos de papel, secos em estufa a 60°C por 72h.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento foi o inteiramente casualizado, com 7 tratamentos (GSNO nas dosagens de 0,025; 0,5; 0,1; 0,2 no formato nanoencapsulado; 0,1 e 0,2 mM no formato livre e o tratamento controle) e 6 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e se significativo, as médias foram analisadas pelo teste de médias de Scott-Knott a 5% de significância ($p < 0,05$).

As pressuposições de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram testadas por Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do Software R, usando os pacotes AgroR (SHIMIZU *et al.*, 2022) e AgroReg (SHIMIZU *et al.*, 2021).

3. RESULTADOS

Após a aplicação das distintas formulações, foi observado que para a espécie *H. stigonocarpa* que os parâmetros de crescimento vegetativo não diferiram entre si para as formulações nanoencapsuladas e GSNO livre, apenas o tratamento controle apresentou os menores valores diferindo dos demais tratamentos (tabela 1A). Mesmo não diferindo das demais soluções, os maiores resultados foram registrados para a dosagem de 0,2 mM.

A aplicação das NP-CS-GSNO 0,2 mM promoveu o aumento dos parâmetros morfológicos em relação ao controle, incluindo a área foliar, com um aumento de 190,85%; o comprimento de parte aérea (29,12%); diâmetro do caule (31,18%); massa seca do caule (44,04%); massa seca de raiz (80,12%) massa seca de folhas (163,15%), massa seca total (57,2%) e tamanho de raiz (36,05%).

Para *H. courbaril*, o comportamento foi semelhante a *H. stigonocarpa*, não mostrando diferença entre os diferentes tratamentos fornecedores de GSNO livre ou nanoencapsulado e tendo o controle como tratamento que gerou os menores valores (Tabela 1B). Para essa espécie a dosagem de NP-CS-GSNO 0,1 mM obteve maior destaque e foi responsável pelo maior incremento nas variáveis morfológicas analisadas em relação ao controle, estabelecendo um aumento de 80,35% na altura, 78,39% no diâmetro, 20,37% no comprimento da raiz, 107,99% na área foliar, 129,14% na massa seca de raiz, 129,69% na massa seca de caule, 25% na massa seca de folha e 94,77% na massa seca total.

As plantas de *A. cearensis* tiveram menor incremento no tratamento controle. As demais concentrações não mostraram diferença significativa, no entanto, tal como ocorreu em *H. stigonocarpa*, a dosagem de 0,2 mM obteve maior destaque, tendo um acréscimo considerável em relação ao tratamento controle (tabela 1C), com acréscimo de 54,99% em altura, 49,05% em diâmetro, 32,5% no tamanho de raiz, 149,65% na área foliar, 102,92% na massa seca de raiz, 128,67% em massa seca de caule, 1035,43% em massa seca de folha e 165,17% na massa seca total.

Dessa forma, observamos que as diferentes dosagens de GSNO livre ou nanoencapsulado não causaram efeitos negativos nos parâmetros morfológicos para as espécies de *H. courbaril*, *H. stigonocarpa* e *A. cearensis* avaliados em relação ao controle, não mostrando inibição, toxicidade ou agravamento na mortalidade das plantas.

Em relação aos parâmetros fisiológicos, foi observada diferença significativa entre os tratamentos para condutância estomática (*gs*) para *H. stigonocarpa*, tal como visualizado na tabela 2A. Os tratamentos sob a dosagem de 0,1 GSNO livre, NP-CS-GSNO 0,1 mM e o tratamento controle não diferiram entre si, porém diferindo dos demais tratamentos.

Conforme figura 1, o tratamento controle mostrou elevação de seus valores na condução inicial do experimento, porém seguiu-se uma queda constante nos valores de *gs*, permanecendo entre as menores taxas entre todos os tratamentos. De forma contrária à dosagem de 0,2 mM NP-CS-GSNO, que inicialmente configurava resultados

insatisfatórios em relação ao controle, obteve vertiginosa recuperação, agregando maiores valores de condutância ao final da experimentação.

As demais dosagens de 0,025, 0,05 e 0,2 mM GSNO livre mostraram comportamento semelhante, porém apenas o tratamento 0,2 mM GSNO livre apresentou uma tímida recuperação, os demais tratamentos não mantiveram valores expressivos para *gs*, com posterior queda de seus valores no final da experimentação.

Para os tratamentos com GSNO livre, apenas a dosagem de 0,2 mM mostrou comportamento satisfatório, com pico de resposta na *gs*, favorecida pela rápida liberação de NO para as plantas, posterior queda e novamente com elevação dos resultados de forma crescente até o término da análise. De forma contrastante, a dosagem de 0,1, mesmo também conferindo disponibilidade de NO de forma rápida, não demonstrou benefícios para as plantas no que refere aos valores de *gs*, possivelmente pela concentração não produzir efeito relevante. Ao final do experimento, o tratamento NP-CS-GSNO 0,2 mM foi 74,74% superior ao tratamento controle.

Os tratamentos de *H. courbaril* diferiram entre si ao final da experimentação, com valores superiores de *gs* para os tratamentos com GSNO nanoencapsulado quando comparados com o tratamento controle e com os tratamentos com GSNO livre (tabela 2B). Percebe-se que os tratamentos com a dosagem de 0,2 mM para NP-CS-GSNO e GSNO livre mantiveram elevados os valores de *gs* no decorrer da avaliação (figura 2), fato importante para o desenvolvimento inicial das mudas, visto que mudas vigorosas e resistentes apresentam maiores chances de sobrevivência quando transplantadas no campo.

Em termos comparativos dos resultados de *gs* do tratamento NP-CS-GSNO 0,2 mM com o tratamento controle, houve maior discrepância entre os valores observados, visto que na primeira avaliação, as plantas sob a dosagem de 0,2 mM nanoencapsulado apresentaram um valor 61,6% superior e para a última avaliação esse incremento elevou para 173,12%, diferindo também do tratamento sob 0,2 mM de GSNO livre, com valor 98,12% superior.

As plantas de *A. cearensis* obtiveram maior destaque para *gs* com o tratamento de NP-CS-GSNO 0,2 mM (tabela 2C), onde mantiveram valores elevados durante a experimentação, acompanhando um declínio e aproximação de valores com os demais tratamentos que também utilizaram GSNO nanoencapsulado em distintas dosagens (figura 3). O valor de *gs* foi 165,45% superior ao valor atribuído para o tratamento controle.

Foi observado aumento na *A* para *H. stigonocarpa* em plantas tratadas com GSNO livre e nanoencapsulado em relação ao controle, mostrando diferença significativa entre os tratamentos, com registro de maiores valores para NP-CS-GSNO 0,2mM, sendo este 65,11% maior que o tratamento controle. Diferentemente, *H. courbaril* não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, não sendo observado aumento na *A* das plantas tratadas com NP-CS-GSNO e GSNO livre em relação ao Controle. Não houve diferença significativa entre os tratamentos com NP-CS-GSNO e GSNO livre para *A. cearensis*, no entanto, estes tratamentos diferiram do tratamento controle. Percebemos que o tratamento NP-CS-GSNO 0,2 mM alcançou uma recuperação de seus valores não ocorrendo decréscimo posterior tal como visualizado para os demais tratamentos, permanecendo 170,61% maior que o tratamento controle.

Pela análise de fluorescência da clorofila *a* (tabela 2 A, B e C) as três espécies mantiveram o F_v/F_m alto, próximo de 0,8, durante o amanhecer, embora percebemos que para a leitura final os valores não diferiram estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 1- Desenvolvimento inicial de mudas de *H. stigonocarpa* (A), *H. courbaril* (B) e *A. cearensis* (C) sob sol pleno e com adição de formulações distintas de GSNO, na forma livre e nanoencapsulada. Onde: Alt. PA: altura de parte aérea (cm), Diam: diâmetro (mm), C.raiz: Comprimento de raiz (cm); AF: área foliar (cm²), MSr: massa seca de raiz (g), MSc: massa seca de caule (g), MSf: massa seca foliar (g), MStot: massa seca total (g), * S-nitrosoglutaciona (GSNO) livre.

A	Alt. PA	Diam	C. raiz	AF ^t	MSr ^t	MSc ^t	MSf ^t	MStot ^t
0,025	20,033 a	4,792 a	15,25 a	63,627 a	4,982 a	1,676 a	0,685 a	7,344 a
0,05	22,05 a	5,49 a	15,75 a	91,467 a	5,994 a	1,788 a	1,007 a	8,79 a
0,1	19,386 a	5,413 a	16,857 a	62,184 a	5,082 a	1,524 a	0,759 a	6,422 a
0,2	22,42 a	5,546 a	16,9 a	95,068 a	6,653 a	1,847 a	1,035 a	9,535 a
0,1*	21,1 a	5,462 a	15,6 a	72,668 a	5,146 a	2,238 a	0,933 a	8,317 a
0,2*	19,417 a	4,915 a	13,75 a	73,04 a	5,092 a	1,42 a	0,857 a	7,226 a
0	17,367 b	4,193 b	12,417 b	32,685 b	3,693 b	1,282 b	0,393 b	6,068 b
CV(%)	17,915	15,158	13,767	26,875	17,035	18,276	24,286	17,372

B	Alt. PA	Diam	C. raiz	AF ^t	MSr ^t	MSc ^t	MSf ^t	MStot ^t
0,025	32,7 a	6,152 a	15,833 a	240,068 a	3,652 a	3,359 a	2,188 a	9,2 a
0,05	28,457 a	6,34 a	15,286 a	277,059 a	2,635 a	2,908 a	1,371 b	6,914 b
0,1	36,317 a	7,423 a	16,25 a	295,789 a	3,967 a	4,642 a	2,331 a	10,94 a
0,2	32,05 a	6,993 a	14,5 a	287,567 a	3,107 a	3,59 a	2,269 a	9,967 a
0,1*	32,514 a	6,213 a	15,929 a	270,013 a	3,367 a	3,618 a	2,208 a	9,192 a
0,2*	32,243 a	5,983 a	15,5 a	209,619 a	2,133 a	2,749 a	1,179 b	6,439 b
0	20,14 b	4,158 b	13,5 a	142,19 b	1,731 b	2,021 b	1,865 b	5,617 b
CV(%)	29,293	19,952	9,132	33,551	25,414	25,912	30,785	25,173

C	Alt. PA	Diam	C. raiz	AF ^t	MSr ^t	MSc ^t	MSf ^t	MStot ^t
0,025	15,417 a	3,323 a	15,583 a	49,547 a	6,321 a	0,569 a	1,038 a	7,928 a
0.05	17,233 a	3,947 a	14,333 a	41,24 a	5,039 a	0,787 a	0,201 a	6,027 a
0.1	13,233 b	3,022 b	13,417 b	48,06 a	5,769 a	0,484 b	0,225 a	6,478 a
0.2	18,65 a	4,562 a	16,167 a	78,025 a	6,949 a	0,965 a	1,44 a	10,795 a
0,1*	16,78 a	3,908 a	15,6 a	69,512 a	6,772 a	0,697 a	0,271 a	7,74 a
0,2*	18,16 a	3,99 a	14,7 a	71,576 a	8,524 a	0,924 a	0,326 a	9,774 a
0	12,04 b	3,06 b	12,2 b	31,274 b	3,42 b	0,422 b	0,127 a	4,07 b
CV(%)	25,098	20,846	10,456	24,921	23,988	22,896	64,662	23,655

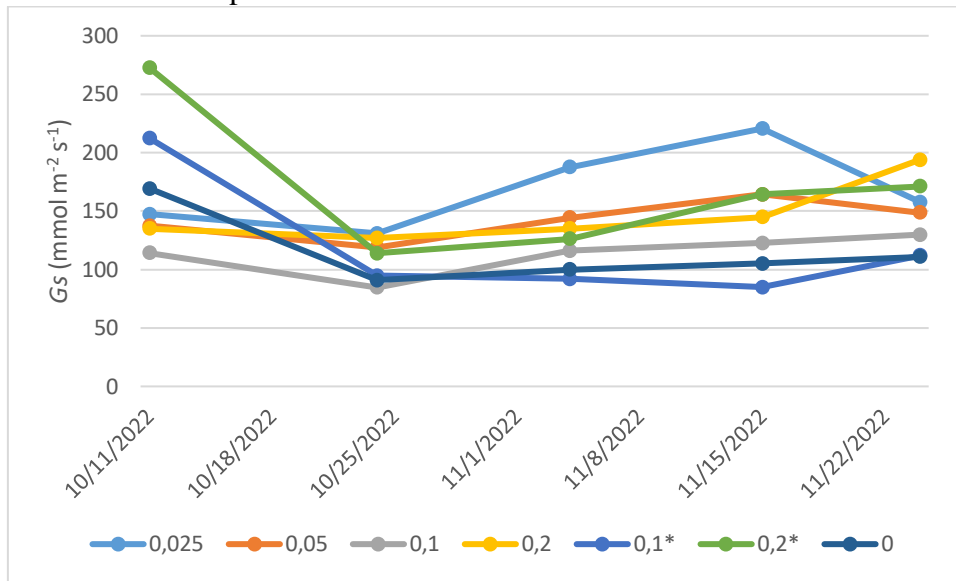
Tabela 2- Avaliações fisiológicas de mudas de *H. stigonocarpa* (A), *H. courbaril* (B) e *A. cearensis* (C) sob sol pleno e com adição de formulações distintas de GSNO, na forma livre e nanoencapsulada. Onde: A: fotossíntese líquida ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Fv/Fm: fluorescência da clorofila *a*, *gs*: condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), * S-nitrosoglutationa (GSNO) livre. Identificação temporal: A1-11/10/22, A2-24/10/22, A3-17/12/22, A4-13/01/22, Fv/Fm1-24/10/22, Fv/Fm2-31/10/22, Fv/Fm3-17/12/22, *gs*1-11/10/22, *gs*2-24/10/22, *gs*3-04/11/22, *gs*4-15/11/22, *gs*5-24/11/22.

A	A1 ^t	A2 ^t	A3 ^t	A4 ^t	Fv/Fm1	Fv/Fm2	Fv/Fm3	<i>gs</i> 1	<i>gs</i> 2	<i>gs</i> 3	<i>gs</i> 4	<i>gs</i> 5
0,025	6,604 a	5,342 a	10,076 a	11,831 a	0,698 a	0,639 a	0,786 a	147,3 b	130,983 a	187,583 a	220,6 a	157,75 a
0.05	6,684 a	3,745 b	9,113 a	10,593 a	0,674 a	0,669 a	0,791 a	137,533 b	118,883 a	144,183 b	164,4 a	148,733 a
0.1	5,476 a	3,562 b	6,78 b	8,066 b	0,637 a	0,609 a	0,739 a	114,229 b	84,586 b	116,086 b	123,717 b	129,883 b
0.2	5,62 a	3,53 b	6,063 b	12,656 a	0,684 a	0,629 a	0,768 a	135,12 b	127 a	135,24 b	144,8 b	193,92 a
0,1*	5,876 a	3,957 b	7,012 b	9,75 a	0,691 a	0,619 a	0,761 a	212,4 a	94,6 b	92,06 b	85 b	112,48 b
0,2*	7,901 a	5,662 a	10,519 a	10,844 a	0,725 a	0,669 a	0,784 a	272,667 a	114 a	126,35 b	164,167 a	171,033 a
0	6,502 a	3,295 b	7,666 b	7,684 b	0,682 a	0,6 a	0,776 a	169,333 b	90,967 b	100,317 b	105,6 b	111,033 b
CV (%)	11,139	15,604	13,782	9,82	10,273	11,168	4,111	41,735	31,649	37,806	37,856	34,31

B	A1 ^t	A2 ^t	A3 ^t	A4 ^t	Fv/Fm1	Fv/Fm2	Fv/Fm3	gs 1	gs 2	gs 3	gs 4	gs 5
0,025	7,225 a	4,627 a	5,148 a	6,033 a	0,758 a	0,712 b	0,802 a	180,9 b	135,35 a	101,133 b	134,283 a	62,2 b
0,05	7,526 a	5,029 a	4,897 a	4,828 b	0,756 a	0,723 b	0,799 a	138,314 b	121,786 b	128,186 b	117,214 a	86,829 b
0,1	6,99 a	5,365 a	7,554 a	8,048 a	0,726 a	0,716 b	0,784 a	164,786 b	147,157 a	112,071 b	126,667 a	142,05 a
0,2	7,283 a	4,56 a	5,144 a	7,833 a	0,745 a	0,708 b	0,816 a	362,28 a	288,44 a	186,56 a	146,74 a	154,32 a
0,1*	7,958 a	5,31 a	4,814 a	6,545 a	0,765 a	0,757 a	0,819 a	194,586 b	160,829 a	136,957 b	84,071 b	75,686 b
0,2*	7,798 a	6,916 a	6,23 a	6,155 a	0,761 a	0,762 a	0,812 a	178,129 b	168,543 a	272,097 a	81,143 b	77,9 b
0	8,14 a	6,192 a	4,361 a	3,005 b	0,768 a	0,693 b	0,806 a	224,2 b	127,157 b	110,757 b	83,275 b	56,486 b
CV(%)	10,71	15,598	20,424	18,56	5,111	4,702	3,559	29,196	31,605	44,061	34,587	25,382

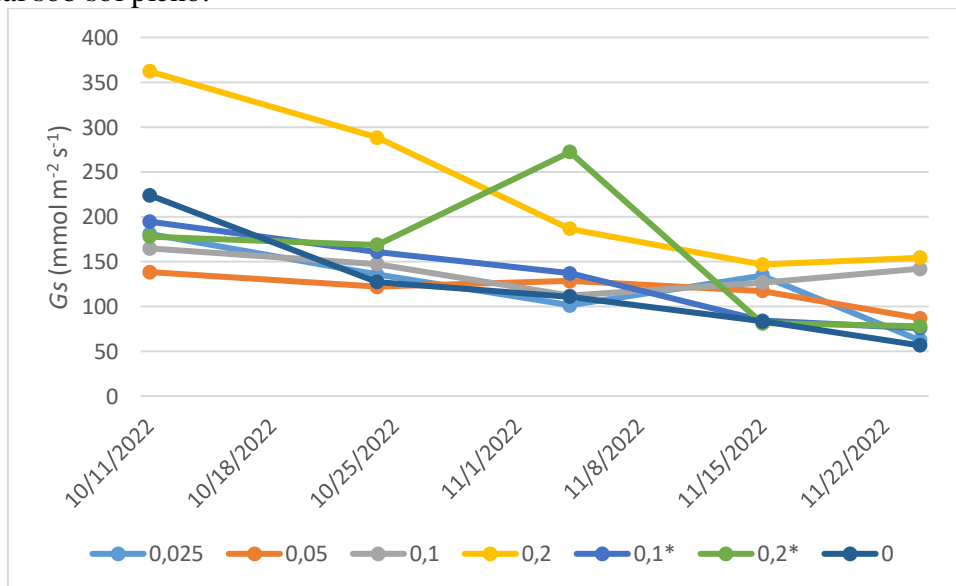
C	A1 ^t	A2 ^t	A3 ^t	A4 ^t	Fv/Fm1	Fv/Fm2	Fv/Fm3	gs 1	gs 2	gs 3	gs 4	gs 5
0,025	4,862 a	2,842 a	5,094 a	4,594 a	0,751 a	0,752 a	0,763 a	123,817 a	103,483 a	102,633 a	106,433 a	130,14 b
0,05	4,464 a	2,248 a	4,134 a	4,002 a	0,742 a	0,73 a	0,794 a	112,65 a	80,05 a	72,183 b	56,783 b	115,55 b
0,1	4,486 a	2,612 a	5,932 a	5,843 a	0,736 a	0,718 a	0,792 a	76,633 a	104,283 a	98,483 b	62,45 b	127,017 b
0,2	4,527 a	3,13 a	5,395 a	6,292 a	0,74 a	0,711 a	0,786 a	133,917 a	128,967 a	165,2 a	154,383 a	159,383 a
0,1*	5,393 a	2,864 a	5,31 a	4,858 a	0,748 a	0,727 a	0,8 a	144,54 a	99,94 a	63,86 b	60,4 b	66 c
0,2*	5,269 a	3,148 a	5,122 a	4,369 a	0,716 a	0,69 a	0,779 a	127,925 a	121,725 a	66,44 b	73,22 b	65,44 c
0	4,732 a	2,112 a	2,2 a	2,326 b	0,706 a	0,714 a	0,782 a	158,44 a	65,54 a	62,14 b	88,34 b	63,625 c
CV(%)	8,464	15,888	14,639	18,487	5,327	6,2	2,819	34,759	16,165	43,421	36,254	25,176

Figura 1 - Condutância estomática ($gs\ mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) de plantas de *H. stigonocarpa* sob ação de diferentes concentrações de GSNO livre e nanoencapsulado cultivado sob em viveiro florestal sob sol pleno.



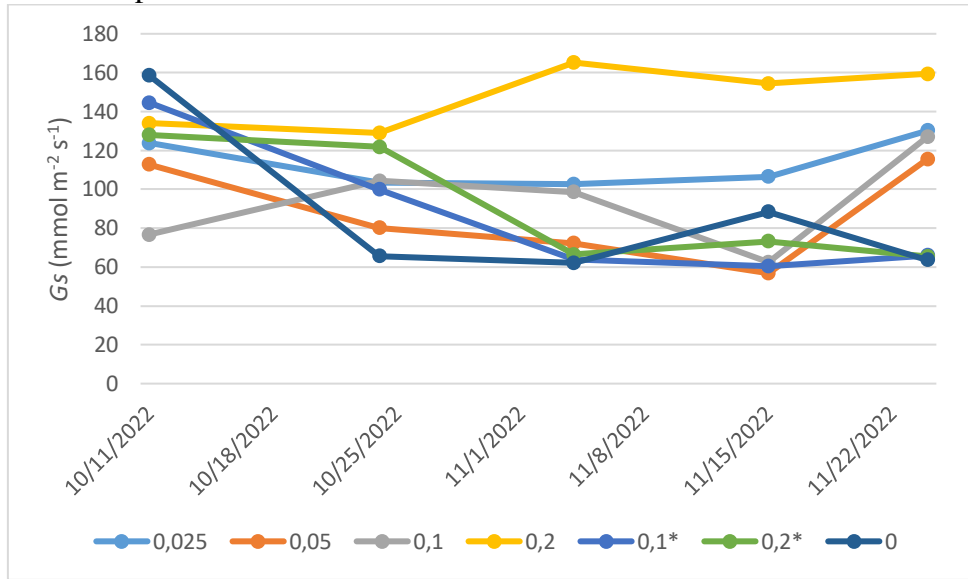
* S-nitrosoglutaciona (GSNO) livre.

Figura 2 - Condutância estomática ($gs, mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) de plantas de *H. courbaril* sob ação de diferentes concentrações de GSNO livre e nanoencapsulado cultivado sob em viveiro florestal sob sol pleno.



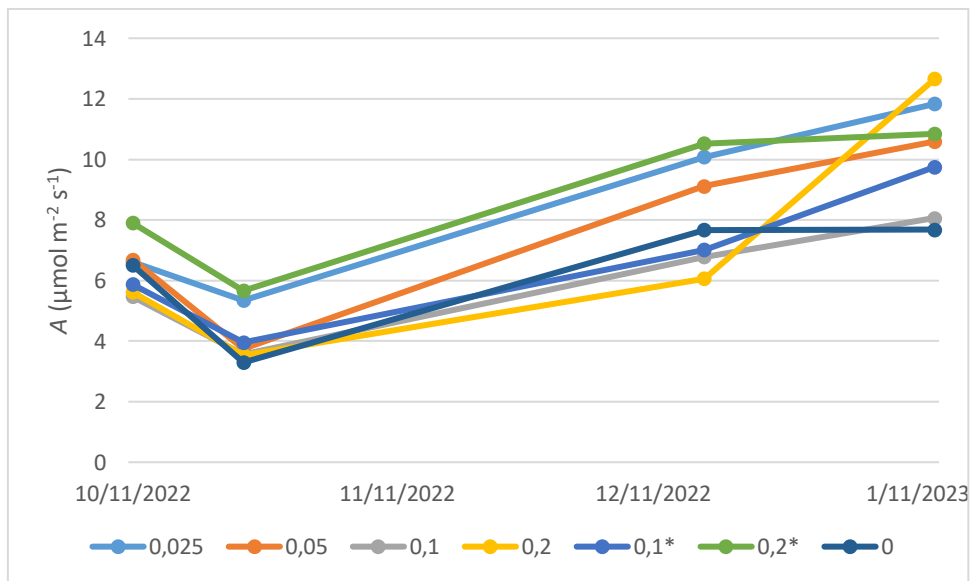
* S-nitrosoglutaciona (GSNO) livre.

Figura 3 - Condutância estomática (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de plantas de *A. cearensis* sob ação de diferentes concentrações de GSNO livre e nanoencapsulado cultivado sob em viveiro florestal sob sol pleno.



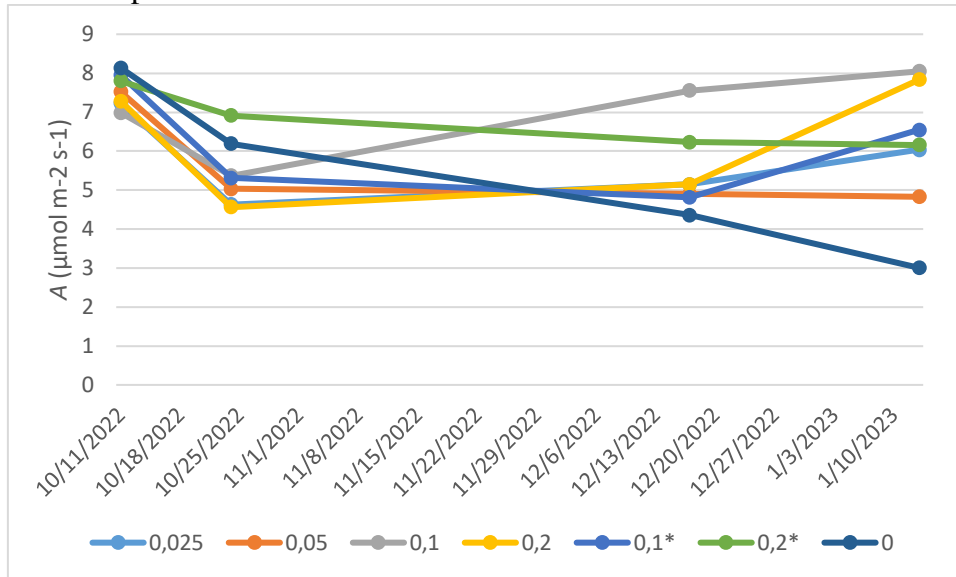
* S-nitrosoglutationa (GSNO) livre.

Figura 4- Fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de plantas de *H. stigonocarpa* sob ação de diferentes concentrações de GSNO livre e nanoencapsulado cultivado sob em viveiro florestal sob sol pleno.



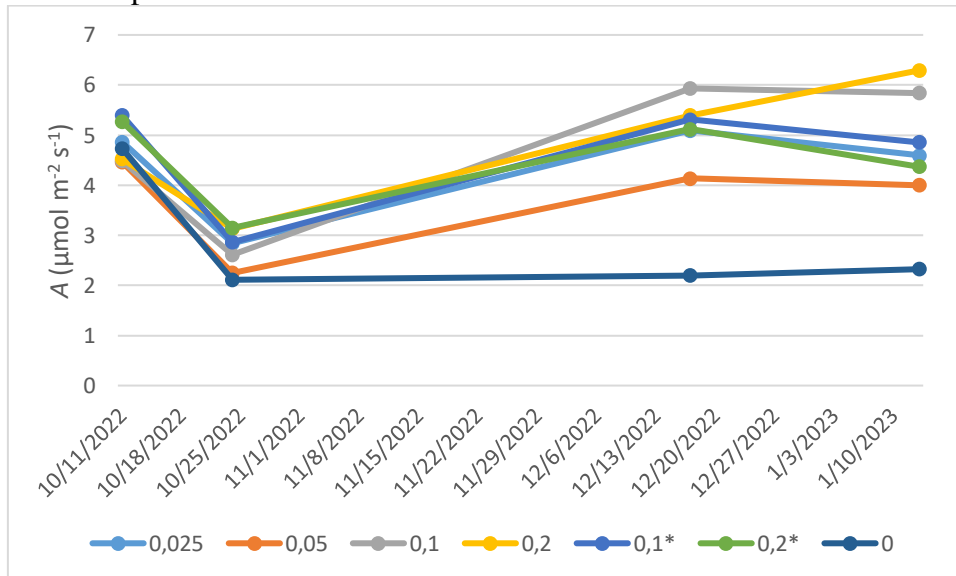
* S-nitrosoglutationa (GSNO) livre.

Figura 5 - Fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de plantas de *H. courbaril* sob ação de diferentes concentrações de GSNO livre e nanoencapsulado cultivado sob em viveiro florestal sob sol pleno.



* S-nitrosoglutaciona (GSNO) livre.

Figura 6- Fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de plantas de *A. cearensis* sob ação de diferentes concentrações de GSNO livre e nanoencapsulado cultivado sob em viveiro florestal sob sol pleno.



* S-nitrosoglutaciona (GSNO) livre.

4. DISCUSSÃO

Percebemos cada vez mais presente e crescente a necessidade de mudança da consciência sobre a vital importância do equilíbrio do meio ambiente para a qualidade da vida humana e a conservação dos recursos naturais. Por este motivo

entendemos que a produção de mudas com qualidade e resistentes aos ambientes adversos destinados à recuperação, como áreas ciliares e demais formas de áreas de preservação permanente degradadas, assume caráter prioritário, tendo em vista os benefícios alcançados com atividades de revegetação.

Para tanto, o fornecimento de óxido nítrico (NO) para as plantas torna-se uma prática satisfatória, visto que o óxido nítrico desempenha um papel multifacetado na fisiologia das plantas, influenciando o crescimento, desenvolvimento, resposta ao estresse e a capacidade de interagir com o ambiente (KOLBERT *et al.*, 2021). Seu papel como molécula sinalizadora é essencial para a aclimação das plantas a uma ampla gama de condições ambientais e para a otimização de seu desenvolvimento.

Conforme exposto por Seabra *et al.* (2022), a entrega adequada de NO para células vegetais ainda é um desafio que dificulta seu uso em condições naturais de campo, e como o NO é um radical livre gasoso com meia-vida curta em condições aeróbicas, o tratamento exógeno com moléculas que atuam como doadoras de NO tem sido utilizado como principal estratégia para aumentar o conteúdo endógeno de NO nas plantas e provocar efeitos biológicos do NO. Mas esta estratégia é frequentemente dificultada pela relativa instabilidade dos doadores, portanto a maneira promissora de melhorar a entrega de NO às plantas seria por meio de nanomateriais liberadores de NO (como no caso a quitosana), numa forma de manter uma distribuição sustentada de NO no desenvolvimento inicial das plantas e assim, configurar resistência e aclimação no processo de rustificação em viveiro florestal.

No entanto, para as três espécies florestais analisadas, não encontramos diferença estatística entre os tratamentos com GSNO nanoencapsulado e livre na análise da *A*, tendo estes diferido apenas do tratamento controle. Fato semelhante também foi percebido por Carmo *et al.* (2021), que ao analisarem plantas de *Heliocarpus popayanensis* sob estresse hídrico, verificaram que tanto o S-nitroso-MSA livre quanto o nanoencapsulado impediram a deterioração da fotossíntese líquida e evidenciaram a importante contribuição do NO para mudas de árvores submetidas a estresse.

Embora não verificamos diferença estatística entre os tratamentos com GSNO nanoencapsulado e livre para as espécies florestais analisadas, percebemos um destaque para NP-CS-GSNO 0,2 mM na *A* para *H. stigonocarpa*, cuja concentração promoveu uma recuperação e elevação expressiva dos valores de *A* nas plantas. Esse comportamento também foi percebido em *H. courbaril* e *A. cearensis*. A dosagem NP-CS-GSNO 0,2 mM comportou-se como narrado por Lopes-Oliveira *et al.* (2019), em que

o encapsulamento do doador de NO utilizando nanomateriais (NP-CS-GSNO) tornou-se uma estratégia para proteger essas moléculas da decomposição, permitindo liberação controlada de NO e prolongando seu período de ação, fato demonstrado nas figuras 4, 5 e 6. Esse incremento nos valores da *A* é favorecido por características apreciáveis da quitosana, por ser um polímero biodegradável, mucoadesivo, com baixa toxicidade e facilidade de absorção celular (PASCOLI *et al.*, 2018).

Como os efeitos não diferiram, tanto o GSNO livre quanto o nanoencapsulado impediram a deterioração da fotossíntese líquida nas plantas sob rustificação (Tabela 2), e evidenciou a importante contribuição do NO para as mudas de árvores. Porém, como apontado por Oliveira *et al.* (2016), no qual analisaram o efeito de nanopartículas de quitosana carreando o doador S-nitroso-MSA sobre plantas de milho submetidas ao estresse salino constatando que o doador nanoencapsulado mostrou-se mais eficiente do que o doador livre, promovendo uma liberação mais lenta e controlada do NO, resultando em proteção contra os efeitos da alta salinidade, mas vale destacar que no trabalho citado, as plantas eram cultivadas em areia, sob condições controladas em casa de vegetação e o presente estudo foi realizado em condições de cultivo em viveiro de mudas.

De acordo com Lopes-Oliveira (2021), ao longo do seu ciclo de vida, as plantas podem enfrentar desvios sazonais e esporádicos das condições ideais de luz, incluindo intensidade de luz excessiva ou insuficiente, tanto as irradiâncias abaixo do ponto de compensação de luz quanto muito acima do ponto de saturação de luz da fotossíntese, podem levar ao estresse oxidativo, à fotoinibição e ao crescimento e desenvolvimento limitado das plantas, e esses altos níveis de radiação, sobretudo UV-B, podem causar danos ao DNA, fotooxidação de pigmentos, inibição da atividade fotossintética e redução do acúmulo de biomassa.

Esse estresse luminoso pode aumentar a produção de EROs induzida por estresse leve (por exemplo, oxigênio singlete, ânion superóxido, H₂O₂ e radicais hidroxila) pode levar à peroxidação lipídica e danos às membranas celulares, inibindo consequentemente a fotossíntese, a respiração e o crescimento das plantas, e também altas quantidades de luz visível ou UV-B modulam a produção de NO nas células vegetais, que por sua vez ativa as defesas antioxidantes das plantas nessas circunstâncias, promovendo uma proteção contra esses efeitos do estresse luminoso (ZHAO *et al.*, 2020; LAU *et al.*, 2021). Tal como observamos, o fornecimento de NO exógeno em todas as concentrações

tiveram um efeito benéfico no crescimento e na atividade fotossintética das plantas sob estresse (KOLBERT *et al.*, 2021).

Assim, conforme Lau *et al.* (2021), a fotossíntese é um importante processo biológico para a sobrevivência das plantas, é significativamente influenciada por estresse abiótico, como a radiação, em seu excesso ou redução intensa, afetando a redução da assimilação de dióxido de carbono pelas folhas, regeneração de ribulose-1,5-bifosfato (RuBP), conteúdo de clorofila e carotenóides e pigmentos acessórios, no entanto o NO é capaz de melhorar o desempenho fotossintético em resposta ao estresse.

Além da taxa líquida de assimilação de dióxido de carbono saturado (A), outros eventos fisiológicos podem ser beneficiados com o fornecimento exógeno de NO, como a concentração de dióxido de carbono subestomático, taxa de transpiração e a condutância estomática (LAU *et al.*, 2021). Referindo-se à condutância estomática, percebemos que a os efeitos positivos da nanoencapsulação de GSNO e a adoção de sua forma livre foram observados distintos resultados, indicando que a resposta fisiológica também é dependente da espécie vegetal (LOPES-OLIVEIRA, 2019).

Um dos danos descritos provocados pelo estresse em plantas é a lesão da membrana das células-guarda e a liberação de íons da célula para o espaço extracelular. Isto é uma consequência de uma explosão oxidativa que leva à peroxidação lipídica, permeabilização da membrana e morte celular, e conforme relatado por Mata e Lamattina (2001), o NO pode gerar uma diminuição na liberação de íons como também atuar no controle das células-guarda e promover alterações na transpiração e condutância estomática.

Mariyam e Seth (2023) argumentam que a suplementação de NO tem mostrado seu comportamento surpreendente em influenciar de forma proeminente a regulação fotossintética e estomática das plantas e ainda segundo os autores, o NO conquistou um novo lugar na ciência vegetal direcionada à fisiologia do estresse devido ao seu envolvimento direto em estresses bióticos e abióticos.

O óxido nítrico controla o processo de abertura e fechamento estomático. Isso ocorre, pois este composto interage com sinalizadores metabólicos, dentre eles o Ca^{2+} , altamente atuante no controle homeostático das células, incluindo células-guarda. Além disso, é comprovada que a associação de NO com o ácido abscísico (ABA) pode refletir na amplitude de abertura e fechamento estomático (FERRAZ, 2021). Assim, entendemos que o NO desempenha um papel importante na regulação da condutância estomática, que dentre algumas maneiras, pode promover a interferência na

sinalização de outros reguladores, como ABA. Em algumas situações, o NO pode antagonizar os efeitos do ABA, que tende a fechar os estômatos em plantas sob alta irradiância (LOPES-OLIVEIRA *et al.*, 2021). Isso resulta na abertura dos estômatos e, portanto, no aumento da condutância estomática, favorecendo o incremento na fotossíntese.

Em relação às variáveis de crescimento, percebemos que os tratamentos que utilizaram NO, livre ou nanoencapsulado, independente da concentração promoveu efeitos positivos nos parâmetros morfológicos avaliados em relação ao controle para as três espécies florestais, com algumas peculiaridades entre as espécies. *H. stigonocarpa* não mostrou diferença entre os tratamentos que envolvem NO, com incremento nos valores para a dosagem de 0,2 mM.

H. courbaril não mostrou diferença para a variável tamanho de raiz e as variáveis tamanho da parte aérea, diâmetro, área foliar e massas secas de raiz e caule, apenas o tratamento controle diferiu dos demais e os tratamentos com as dosagens de NP-CS-GSNO 0,05 e 0,1 mM GSNO livre não diferiu do controle para as variáveis massa seca foliar e massa seca total. Já *A. cearensis* teve um comportamento similar com *H. stigonocarpa*, sendo que apenas o tratamento NP-CS-GSNO 0,1 mM não diferiu do tratamento controle em relação aos demais.

Desse modo, dependendo de sua concentração, o NO pode afetar o crescimento e desenvolvimento das plantas sendo que baixas doses do NO podem estimular o crescimento, porém doses mais altas podem ser tóxicas e prejudiciais ao desenvolvimento vegetal (LOPES-OLIVEIRA, 2019). A eficácia das NP-CS-GSNO em mitigar os efeitos do estresse luminoso provavelmente está relacionada à liberação mais lenta do NO, fato que pode justificar a igualdade estatística entre os tratamentos com dosagem nanoencapsulada para as variáveis de crescimento, visto que um maior tempo disponibilizado para a análise de crescimento ao que executamos nessa pesquisa poderia ter um resultado diferente e ser melhor compreendido o efeito no NO, por meio de seu doador nanoencapsulado, ciente que a nanoencapsulação do doador GSNO pode proteger o NO da degradação por altas temperaturas e luminosidade, o que é particularmente favorecido em condições reais de campo.

Um ponto importante a ser destacado é que este estudo foi desenvolvido em um viveiro florestal, com condições de irrigação controladas, livre de matocompetição e ataques de formiga e outras pragas agrícolas, ou seja, um ambiente controlado aos estresses mencionados, fato que pode favorecer o desenvolvimento vegetal em todos os

tratamentos. Vale também lembrar que o fornecimento das soluções com doador de NO livre e nanoencapsulado ocorreu anteriormente ao período de rustificação das plantas, cerca de 24 h, e após esse período as plantas foram realocadas no ambiente sob sol pleno.

5. CONCLUSÕES

- O GSNO, doador de NO utilizado na forma livre e nanoencapsulada apresenta efeitos fisiológicos benéficos quando disponibilizado para espécies florestais nativas, como *H. stigonocarpa*, *H. courbaril* e *A. cearensis*, desencadeando atividades de proteção e incremento no que tange a fotossíntese e condutância estomática. No entanto, recomendamos a dosagem de 0,2 mM de NP-CS-GSNO.
- Os tratamentos com a NP-CS-GSNO e GSNO livre promoveram o desenvolvimento inicial das mudas das três espécies arbóreas nativas, porém de forma geral, não diferiram entre si, agregando diferença somente quando comparados aos resultados obtidos com o tratamento controle. Faz-se necessário expandir o tempo de análise do desenvolvimento inicial em viveiro para agregar maior veracidade aos objetivos lançados.
- A utilização de nanopartículas transportadoras de doadores de óxido nítrico (NO) se apresenta como uma tática para alcançar plantas com maior resistência a condições de estresse, o que, por conseguinte, resulta na aprimoração de iniciativas de reflorestamento e na restauração de ecossistemas deteriorados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECERRA, H.A.; PEREZ, A.A.F.; ESQUIVEL, K.; GARCIA, C.E.P.; HERNANDEZ, M.C.V.; ALVARADO, A.M. Nanomaterials as an alternative to increase plant resistance to abiotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v.13, p.1-15, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1023636>

CARMO, G.C.; IASTRENSKI, L.F.; DEBIASI, T.V.; SILVA, R.C.; GOMES, D.G.; PELEGRINO, M.T.; BIANCHINI, E.; STOLF-MOREIRA, R.; PIMENTA, J.A.; SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. Nanoencapsulation improves the protective effects of a nitric oxide donor on drought-stressed *Heliocarpus popayanensis* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 225, p.112713, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112713>

FERRAZ, A.K.L. **Óxido nítrico na redução do estresse oxidativo induzido por herbicida em plantas de melão**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, UNESP, 2021.

FINCHEIRA, P.; TORTELLA, G.; SEABRA, A.B.; QUIROZ, A.; DIEZ, M.C.; RUBILAR, O. Nanotechnology advances for sustainable agriculture: current knowledge and prospects in plant growth modulation and nutrition. **Plant**, v.254, n.4, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03714-0>

GUARIZ, H.R.; GUARIZ, F.R. Avaliação do tamanho e forma de fragmentos florestais por meio de métricas de paisagem para o Município de São Roque do Canaã, Noroeste do Estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.13, n.5, p. 2193-2153, 2020. <https://doi.org/10.26848/rbgf.v13.5.p2139-2153>

HUGUENIN, L.; MEIRELLES, R.M.S. Do período colonial à COP26: breve resgate histórico sobre as mudanças climáticas relacionadas ao uso da terra no Brasil. **Revista Brasileira de Educação Ambiental**, v.17, n.5, p. 132-149, 2022. <https://doi.org/10.34024/revbea.2022.v15.13930>

KOLBERT, Z.; LINDERMAYR, C.; LOAKE, G.J. The role of nitric oxide in plant biology: current insights and future perspectives. **Journal of Experimental Botany**, v.72, n.3, p. 777-780, 2021. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab013>

KOLBERT, Z.; SZÖLLÖSI, R.; FEIGL, G.; KONYA, Z.; RONA VARI, A. Nitric oxide signalling in plant nanobiology: current status and perspectives. **Journal of Experimental Botany**, v.72, n.3, p.928-940, 2021. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa470>

LAU, S.E.; HAMDAN, M.F.; PUA, T. L.; SAIDI, N. B.; TAN, B.C. Plant nitric oxide signaling under drought stress. **Plants**, v.10, n.2, p.360, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10020360>

LOPES-OLIVEIRA, P.J.; GOMES, D.G.; PELEGRINO, M.T.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; STOLF-MOREIRA, R.; SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. Effects of nitric oxide-releasing nanoparticles on neotropical tree seedlings submitted to acclimation under full sun in the nursery. **Scientific Reports**, v.9, n.1, p.17371, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54030-3>

LOPES-OLIVEIRA, P.J.; OLIVEIRA, H.C.; KOLBERT, Z.; FRESCHI, L. The light and dark sides of nitric oxide: multifaceted roles of nitric oxide in plant responses to light. **Journal of Experimental Botany**, v.72, n.3, p. 885-903, 2021. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa504>

LOWRY, G.V.; AVELLAN, A.; GILBERTSON, L.M. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. **Nature Nanotechnology**, v.14, p. 517-522, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0461-7>

MARCATO, P.D.; ADAMI, L.F.; BARBOSA, R.M.; MELO, O.S.; FERREIRA, I.R.; DE PAULA, L.; DURAN, N.; SEABRA, A.B. Development of a sustained-release system for nitric oxide delivery using alginate/chitosan nanoparticles. **Current Nanoscience**, v.9, n.1, p.1-7, 2013. <https://doi.org/10.2174/1573413711309010003>

MARIYAM, S.; SETH, C.S. Nitric oxide: a key player in reinforcement of photosynthetic efficiency under abiotic stress, chapter 8, pag. 157-171. In: KHAN, M.I.R.; POOR, P.;

IQBAL, N. FERRANTE, A. **Nitric Oxide in Developing Plant Stress Resilience**, 2023. <https://doi.org/10.1016/C2020-0-04483-X>

MATA, C.G.; LAMATTINA, L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. **Plant Physiology**, v.126, n.3, p.1196-1204, 2001.

OLIVEIRA, H. C.; GOMES, B. C. R.; PELEGRINO, M. T.; SEABRA, A. B. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric oxide**, v.61, p.10-19, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.09.010>

OLIVEIRA, M. C.; OGATA, R. S.; ANDRADE, G. A.; SANTOS, D. S.; SOUZA, R. M.; GUIMARAES, T. G.; SILVA JÚNIOR, M. C.; PEREIRA, D. J. S.; RIBEIRO, J. F. **Manual de viveiro e produção de mudas: espécies arbóreas nativas do Cerrado**, Brasília, DF: Universidade de Brasília, Rede de Sementes do Cerrado, 2016. 124p.

PASCOLI, M.; LOPES-OLIVEIRA, P.J.; FRACETO, L.F.; SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications: a minireview. **Energy, Ecology and Environment**, v.3, n.3, p. 137-148, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40974-018-0090-2>

PELEGRINO, M.T.; SILVA, L.C.; WATASHI, P.S.; HADDAD, T.R.; SEABRA, A.B. Nitric oxide-releasing nanoparticles: synthesis, characterization, and cytotoxicity to tumorigenic cells. **Journal of Nanoparticle Research**, v.19, n.57, p.57-72, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11051-017-3747-4>

RAD - **Relatório Anual de Desmatamento 2022**, São Paulo, Brasil, MapBiomass. 2023. 125p.

SEABRA, A.B.; SILVEIRA, N.M.; RIBEIRO, R.V.; PIERETTI, J.C.; BARROSO, J.B.; CORPAS, F.J.; PALMA, J.M.; HANCOCK, J.T.; PETŘIVALSKÝ, M.; GUPTA, K.J.; WENDEHENNE, D.; LOAKE, G.J.; DURNER, J.; LINDERMAYR, C.; MOLNÁR, Á.; KOLBERT, Z.; OLIVEIRA, H.C. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agriculture. **New Phytology**, v.234, n.4, p.1119-1125, 2022. <https://doi.org/10.1111/nph.18073>

SHIMIZU, G.D.; GONÇALVES, L.S.A. **AgroReg: Regression Analysis Linear and Nonlinear for Agriculture**. R package version 1.2.1. 2021. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/AgroReg/index.html>>.

SHIMIZU, G.D.; MARUBAYASHI, R.Y.P.; GONÇALVES, L.S.A. **AgroR: Experimental Statistics and Graphics for Agricultural Sciences**. R package version 1.2.2. 2022. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/AgroR/index.html>>.

SHIMIZU, M.; ISHIDA, A.; TANGE, T.; YAGI, H. Leaf turnover and growth responses of shade-grown saplings of four Shorea rain forest species to a sudden increase in light. **Tree Physiology**, v.26, p.449-457, 2006. <https://doi.org/10.1093/TREEPHYS/26.4.449>

SILVEIRA, N. M.; FRUNGILLO, L.; MARCOS, F.C.C.; PELEGRINO, M.T.; MIRANDA, M.T.; SEABRA, A.B.; SALGADO, I.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, v. 244, n. 1, p. 181-190, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2501-y>

SILVEIRA, N.M.; PRATAVIERA, P.J.; PIERETTI, J. C.; SEABRA, A.B.; ALMEIDA, R.L.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Chitosan-encapsulated nitric oxide donors enhance physiological recovery of sugarcane plants after water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, v.190, p.104593, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104593>

THE ECONOMIST. **Deathwatch for the Amazon**. 2019. Disponível em: <<https://www.economist.com/briefing/2019/08/01/the-amazon-is-approaching-an-irreversible-tipping-point>>.

ZHAO, Y.; WEI, X.; LONG, Y.; JI, X. Transcriptional analysis reveals sodium nitroprusside affects alfalfa in response to PEG-induced osmotic stress at germination stage. **Protoplasma**, v. 257, n.5, p. 1345-1358, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01508-x>

Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa melhoram o desempenho morfofisiológico de mudas de espécies arbóreas nativas do Brasil após o plantio no campo

Resumo: Os estresses ambientais pós-plantio desempenham papel significativo na formação e no desenvolvimento de um plantio florestal saudável, podendo ter um impacto negativo no estabelecimento e sobrevivência das mudas. Uma técnica que pode ser aliada às práticas silviculturais é a suplementação com doadores de óxido nítrico, que podem ser eficientemente carregados por nanopartículas poliméricas. Neste estudo, o objetivo foi avaliar o efeito da aplicação prévia de S-nitrosoglutationa (GSNO), nas formas livre e nanoencapsulada, na fisiologia e crescimento inicial de mudas de *Hymenaea courbaril* (jatobá-da-mata) e *Amburana cearensis* (amburana) após o plantio no campo. Inicialmente foram testadas as concentrações de 0, 25, 50, 100 e 200 μM de GSNO encapsulada em nanopartículas de quitosana (GSNO-CS-NPs). Com a concentração que resultou em melhores respostas (200 μM), foi comparado a aplicação de GSNO-CS-NPs com as nanopartículas de quitosana sem o ativo e GSNO livre. Os melhores resultados foram observados para o tratamento com GSNO-CS-NPs, que resultou em melhor desempenho fisiológico das mudas, observado através de avaliações de fotossíntese, condutância estomática e atividade do fotossistema II. O tratamento com GSNO ocasionou menor mortalidade das mudas, apesar de os parâmetros de crescimento não terem sido afetados. Dessa forma, os resultados sugerem que a aplicação de GSNO-CS-NPs é uma estratégia promissora para proporcionar maior tolerância de mudas ao estresse pós-plantio.

Palavras-chave: *Hymenaea courbaril*, *Amburana cearensis*, reflorestamento, fotossíntese, óxido nítrico.

1. INTRODUÇÃO

Inúmeras são as preocupações ambientais que norteiam as discussões governamentais, culminando com a produção de diversos documentos tais como tratados e acordos internacionais direcionados à normatização da proteção do ar, do mar, dos ecossistemas naturais e do uso da terra, sendo a questão do aquecimento global a mais acalorada entre todas. Sabemos que o aquecimento do planeta é causado por emissões de gases de efeito estufa (GEE), como o dióxido de carbono proveniente da queima de combustíveis fósseis, do desmatamento e da degradação florestal decorrentes das mudanças de uso da terra para atividades agropecuárias e ocupação urbana (REI *et al.*, 2017; BALDUINO, 2020), e a solução deve estar pautada sob um viés de sustentabilidade e justiça socioambiental à luz das responsabilidades comuns, porém diferenciadas, de cada nação.

Nesse cenário, o Brasil buscando papel de destaque e liderança na 21^a Conferência do Clima (COP 21) assumiu compromisso audacioso em 2015, no Acordo de Paris comprometendo-se em reduzir em 43% as emissões de GEE, tendo como referência o ano de 2005, atingir o desmatamento ilegal zero em 2030, restaurar em torno de 12 milhões de hectares, recuperar 15 milhões de hectares de pastagens degradadas e integrar 5 milhões de hectares de lavoura-pecuária-florestas. Assim, cada país propôs suas contribuições determinadas a reduzir as emissões de GEE e conter a temperatura em 1,5°C até 2100 (ARAÚJO *et al.*, 2019).

Inevitavelmente, os reflorestamentos serão alvo de destaque para atingir o compromisso brasileiro no alcance dessas metas, visto que o reflorestamento é uma das maneiras mais eficazes de recuperação e/ou restauração de áreas degradadas, sendo um dos pontos chave de conservação da biodiversidade e estoque de carbono.

Contudo, as crescentes alterações antrópicas no cenário ecológico dificultam e impõem limitações ao pleno desenvolvimento das plantas. Assim, as plantas estão sujeitas às condições de múltiplos estresses (LARCHER, 2006), os quais limitarão seu desenvolvimento e suas chances de sobrevivência, especialmente em ambientes degradados.

Dentre os fatores abióticos que podem interferir no desenvolvimento vegetal, destacam-se os estresses hídrico, salino e luminoso, estudado por inúmeros pesquisadores e, mesmo que essas condições desfavoráveis não sejam necessariamente letais, podem retardar grandemente o desenvolvimento de um reflorestamento até atingir uma estratificação.

Dentre os danos causados pelo estresse podemos destacar a elevada formação de espécies reativas de oxigênio e a fotoinibição (CINTRA *et al.*, 2020). No entanto, esses estresses em plantas podem ser evitados e/ou amenizados pela ação do óxido nítrico (NO), que possui um importante papel na resposta das plantas contra estresses (AMÂNCIO *et al.*, 2022).

Diversos pesquisadores têm demonstrado o comportamento vegetal frente à ação de resposta do NO em situações de estresse abiótico que impõem restrições ao desenvolvimento das plantas, como por exemplo, sob estresse salino (OLIVEIRA *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2020), estresse hídrico (SEABRA; OLIVEIRA, 2016; AGUIAR *et al.*, 2015; CARMO *et al.*, 2021), contaminação por metais pesados (GONZÁLES *et al.*, 2020) e estresse luminoso (ESRINGU *et al.*, 2016).

Contudo, os doadores de NO são relativamente instáveis e possuem alta taxa de decomposição em temperaturas elevadas e exposição à luz, levando a uma rápida liberação de NO, o que, além de reduzir sua eficácia, resulta em efeitos tóxicos. Assim, a nanoencapsulação permite a obtenção de um sistema de liberação controlada, protegendo a molécula bioativa contra a degradação e reduzindo o risco de contaminação ambiental e toxicidade para organismos não-alvo (SEABRA *et al.*, 2022a).

Para Lowry *et al.* (2019) a nanotecnologia é um importante impulsionador da iminente revolução agrotecnológica que promete um sistema agrícola mais sustentável, eficiente e resiliente, ao mesmo tempo em que promove a segurança alimentar, podendo melhorar a eficiência do uso de insumos necessários para a agricultura e para um melhor gerenciamento dos estresses, biótico e abiótico. Ao contrário, ainda segundo o autor, as práticas agrícolas atuais são inerentemente ineficientes e insustentáveis e levaram a uma degradação ambiental inaceitável.

Assim, a nanoencapsulação pode melhorar a eficiência dos sistemas de plantios por meio de mecanismos de entrega mais eficientes dos insumos, melhorando a eficiência da utilização de nutrientes e melhor gerenciamento de doenças e mortalidade, permitindo que as plantas adquiram funções fisiológicas melhoradas para gerenciar as tensões ambientais (PASCOLI *et al.*, 2018).

Diante do exposto, este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da utilização de um doador de NO, nas formas livre e nanoencapsulada, no desenvolvimento inicial de mudas de duas espécies arbóreas nativas do Brasil, para maior tolerância aos estresses enfrentados após o plantio no campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Espécies florestais e produção de mudas

Foram utilizadas duas espécies arbóreas nativas de grupos ecológicos distintos: o jatobá-da-mata (*Hymenaea courbaril* L.), que é uma espécie secundária tardia, e a espécie pioneira amburana (*Amburana cearensis* (Allemao) A. C. Smith.). Os frutos de *H. courbaril* foram colhidos em árvores matrizes de 10-12 m de altura localizadas no município de Primeiro de Maio/PR (22°53'14''S, 50°56'42''W). Já os frutos de *A. cearensis* foram colhidos na região de Guanambi/BA (14°13'01''S, 42°46'40'' W).

A coleta das sementes foi realizada com catação no chão e na copa das árvores com uso de podão. Em seguida, todos os frutos foram beneficiados e as sementes retiradas. O jatobá-da-mata possui fruto indeiscente, com sementes inseridas em um arilo

farináceo, fazendo-se necessário o uso de martelos para abrir os frutos e separar as sementes do arilo. A amburana possui fruto seco deiscente com sementes aladas, sendo necessário retirar as alas para o plantio.

Todas as mudas foram produzidas no viveiro florestal do Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas – LABRE, pertencente a Universidade Estadual de Londrina – UEL, seguindo toda a rotina de produção de mudas em viveiro, conforme recomendações de Oliveira *et al.*, 2016. A semeadura ocorreu de forma indireta, com utilização de areia como único substrato. A repicagem ocorreu após a formação das plântulas, descartando aquelas com possíveis defeitos ou má-formação. As plântulas foram transferidas para tubetes de polipropileno de 280 cm³ com substrato comercial (Ouro Negro[®]).

O tempo de permanência em viveiro foi em torno de 5 meses, tempo necessário para as mudas atingirem altura entre 20 e 30 cm, tamanho ideal para serem transferidas para o campo. Nesse período as plantas se desenvolveram em ambiente com sombreamento parcial (sombrite 50%) e, após atingir o crescimento desejável, as mudas foram rustificadas sob sol pleno por um período de 2 meses. Por todo o tempo de formação das mudas, as plantas estiveram sob um regime de irrigação automático diário, três vezes por dia, durante 30 minutos.

2.2 Caracterização da área

O experimento foi realizado em uma área localizada no Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina/PR (23°19'28"S, 51°11'54"O, 602 m de altitude).

A área utilizada para a pesquisa é ocupada por *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. Basilisk, não possui uso econômico e possui poucas árvores esparsas. Antes do plantio, foram realizados todos os procedimentos silviculturais recomendados, como capina semimecanizada e manual, abertura de covas de forma semimecanizada e controle de formigas cortadeiras. O espaçamento entre as plantas foi de 0,6 m, distribuídas aleatoriamente no local do plantio. Não houve irrigação das plantas no período de estudo. A análise química do solo foi determinada para as profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, conforme recomendações indicadas na tabela 1, com coleta de cinco amostras simples, reunidas em um recipiente de plástico para a formação de uma amostra composta e livre de impurezas, como folhas e outros resíduos vegetais.

Tabela 1 - Métodos para determinação da análise química do solo para as profundidades de 0-10 e 10-20 cm.

DETERMINAÇÃO	REFERÊNCIA	L.Q.
Alumínio Cloreto de Amônio por Espectrofotometria	Raij, <i>et al.</i> , 2001	0,063 cmol _c /dm ³
Cálcio Mehlich III por ICP-OES	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,101 cmol _c /dm ³
Enxofre Fosfato de Cálcio por Espectrofotometria	Raij, <i>et al.</i> , 2001	5 mg/dm ³
Fósforo Mehlich I por Espectrofotometria	Silva <i>et al.</i> , 2009	1,44 mg/dm ³
Fósforo Mehlich III por ICP-OES	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,42 mg/dm ³
Fósforo Remanescente Cloreto de Cálcio por Espectrofotometria	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,752 mg/L
Magnésio Mehlich III por ICP-OES	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,053 cmol _c /dm ³
Matéria Orgânica Dicromato de Sódio por Espectrofotometria	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,001 g/dm ³
pH Cloreto de Cálcio por Potenciometria	Silva <i>et al.</i> , 2009	Faixa 3 a 8
pH SMP por Potenciometria	Silva <i>et al.</i> , 2009	Faixa 3 a 8
Potássio Mehlich III por ICP-OES	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,04 cmol _c /dm ³
Sódio Mehlich III por ICP-OES	Silva <i>et al.</i> , 2009	0,002 cmol _c /dm ³

L.Q. = Limite de Quantificação

Fonte: Raij, *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2009

Os resultados da análise química completa do solo para as profundidades de 0 – 10 cm e de 10 – 20 cm estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Análise química de solo para as profundidades de 0 -10 e 10 - 20 cm.

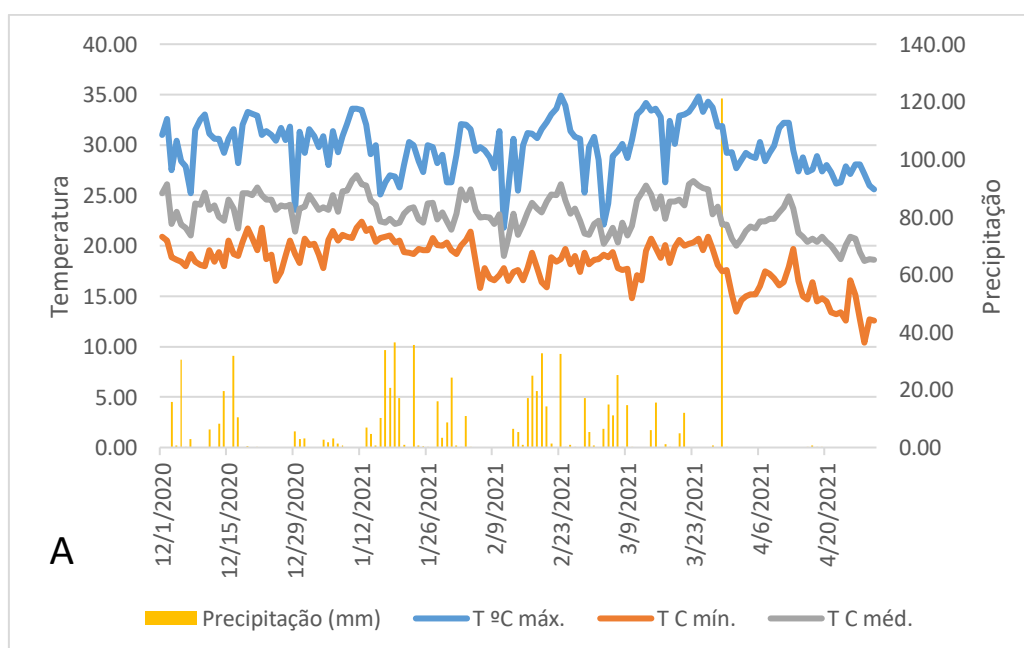
Profundidade	0 – 10 cm (1)	10 – 20 cm (2)	Interpretação
Propriedades e características			
CTC (pH 7,0) (cmol _c /dm ³)	15,45	12,89	alta (1,2)
CTC (efetiva)	8,14	4,96	alta(1)/médio (2)

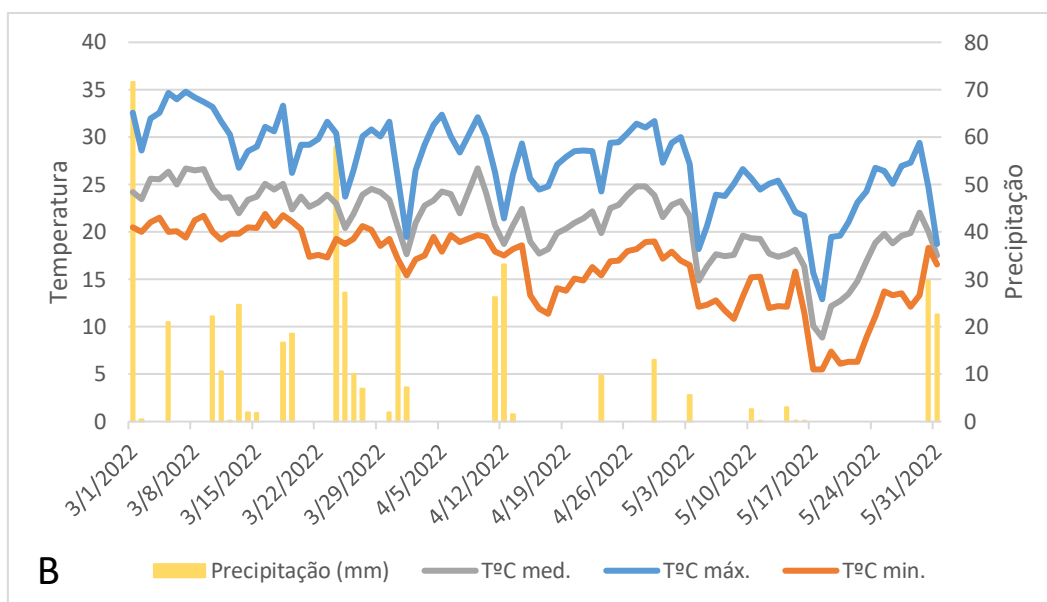
Matéria orgânica (M.O.S) (g/dm ³)	18,92	10,35	alta (1,2)
Fósforo remanescente (P-Rem.) (mg/L)	6,87	5,52	textura argilosa (1,2)
Macronutrientes catiônicos (cmol/dm ³)			
Cálcio (Ca ²⁺)	5,62	3,71	baixa (1,2)
Magnésio (Mg ²⁺)	2,02	1,09	média (1)/ baixa (2)
Potássio (K ⁺)	0,48	0,14	média (1)/ baixa (2)
Sódio (Na ⁺)	0,02	0,02	média (1,2)
Macronutrientes aniônicos (mg/dm ³)			
Fósforo Mehlich 1	4,25	3,14	baixa (1,2)
Fósforo Mehlich 3	0,65	N.D.	baixa (1,2)
Enxofre (SO ₄ ²⁻)	58,66	64,05	alta (1,2)
Micronutrientes (mg/dm ³)			
Boro (B)	0,48	0,68	média (1,2)
Cobre (Cu ²⁺)	11,33	9,22	alta (1,2)
Ferro (Fe ²⁺)	294,47	247,18	alta (1,2)
Manganês (Mn ²⁺)	220,63	200,44	alta (1,2)
Zinco (Zn ²⁺)	5,13	1,86	alta (1)/ média(2)
Reação do solo			
pH em CaCl ₂	4,87	4,92	elevada (1,2)
pH em H ₂ O	5,54	5,59	média (1)/ fraca (2)
pH em SMP	5,48	5,37	
Acidez Potencial (H+Al) (cmol/dm ³)	7,31	7,93	alto (1,2)
Acidez não trocável (H+) (cmol/dm ³)	7,31	7,93	média (1,2)
Acidez trocável (Al ³⁺) (cmol/dm ³)	N.D.	N.D.	-
Índice de Saturação (%)			
Ca	36,38	28,78	limite de tolerância (1,2)
Mg	13,07	8,46	equilibrado (1)/ lim. de tolerância (2)
K	3,11	1,09	equilibrado (1)/ lim. de tolerância (2)
Na	0,13	0,16	equilibrado (1,2)
H	47,31	61,52	lim. de tolerância (1,2)
Al	0	0	equilibrado (1,2)
V	52,69	38,49	média (1)/ baixa (2)
Restituição do equilíbrio da saturação (cmol/dm ³)			

Bases Trocáveis	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	
Cálcio (Ca ²⁺)	2,10	4,42	2,74	4,67	-
Magnésio (Mg ²⁺)	0	1,07	0,2	1,49	-
Potássio (K ⁺)	0	0,29	0,25	0,5	-
Capacidade Tampão – Nível crítico (mg/dm ³)					
Fósforo	6,93		6,46		-
Enxofre	4,15		3,88		-
Zinco	1,10		1,06		-
Valores relativos (%)					
Fósforo Mehlich 1	61		49		baixa (1,2)
Enxofre (SO ₄ ⁻²)	1413		1651		alta (1,2)
Zinco (Zn ₂ ⁺)	466		175		alta (1)/ média (2)

Os dados climáticos para os períodos de experimentação analisados foram obtidos junto ao Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR) e estão representados na figura 1.

Figura 1- Precipitação, temperaturas máxima, média e mínima para a região de Londrina no período de manutenção do experimento (Fases 1A e 1B).





Fonte: Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR)

2.3 Preparação das nanopartículas (NPs)

A GSNO livre e as suspensões de NPs de quitosana contendo a S-nitrosoglutationa (GSNO) como molécula doadora de NO foram disponibilizadas pela Prof^a. Dr^a. Amedea Barozzi Seabra da Universidade Federal do ABC. A GSNO foi sintetizada e caracterizada segundo a metodologia de Silveira *et al.* (2016). Glutathione reduzida (GSH) foi dissolvida em ácido clorídrico (1 mol L^{-1}) a $1,2 \text{ mol L}^{-1}$. Uma quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO_2) foi adicionado à solução de GSH a fim de nitrosar GSH, em banho de gelo por 30 minutos e agitação magnética. Posteriormente realizou-se a adição de acetona e esta solução filtrada e lavada várias vezes com água fria obtendo o GSNO precipitado. O sólido obtido foi liofilizado durante 24 horas e armazenado a -20°C .

Para a obtenção de NPs, as mesmas foram preparadas usando o método de gelificação iônica (MARCATO *et al.*, 2013; PELEGRINO *et al.*, 2017). Resumidamente, a quitosana (CS) foi dissolvida em ácido acético (1%) e 26 mmol L^{-1} de GSH foram adicionados à solução. Após 90 minutos de agitação magnética à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), uma solução de tripolifosfato de sódio (TPP) a $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$ foi adicionada gota a gota a a solução CS/GSH. A mistura final foi magneticamente agitada por pelo menos 90 minutos e obtendo concentração final de GSH igual a 20 mmol L^{-1} . O mesmo procedimento foi realizado sem a presença de GSH, para obter as NPs contendo apenas CS/TPP. As formulações foram caracterizadas por tamanho, dispersão dinâmica

de luz, análises de rastreamento de NPs, potencial zeta, eficiência de encapsulamento, índice de polidispersividade (PDI) e pH.

Para obter NPs de quitosana contendo GSNO, uma quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO_2) foi adicionada à suspensão de NP- CS/TPP-GSH, seguido por manutenção por 60 minutos no escuro. A concentração final de NP-CS/TPP-GSNO foi de 20 mM. Em seguida, as formulações foram diluídas em água para a obtenção das seguintes concentrações: 25; 50; 100 e 200 μM . Tais suspensões de GSNO-CS-NPs foram usadas imediatamente após sua preparação.

2.4 Análise temporal e definição dos tratamentos

Dividimos o experimento em duas fases de pesquisa. Na primeira, testamos distintas concentrações da formulação de GSNO-CS-NPs com o intuito de encontrar a melhor resposta no desenvolvimento inicial das plantas, com as concentrações de 25, 50, 100 e 200 μM de GSNO. Já na segunda fase, realizamos novos testes com a concentração que obteve melhor desempenho (200 μM), adicionando aos testes as NPs sem o ativo e o GSNO livre na mesma concentração. As formulações foram adicionadas no substrato das plantas num volume de 30 mL. Foram realizadas três aplicações, em dias intercalados, e somente após a terceira aplicação o plantio em campo foi efetuado. Em todos os ensaios, utilizaram-se plantas tratadas apenas com água como controle. O experimento durou 103 dias de análises e acompanhamento para a primeira fase e 90 dias para a segunda etapa.

2.5 Parâmetros fisiológicos analisados

Foram realizadas medições de condutância estomática e fluorescência da clorofila um dia antes do início dos tratamentos, um dia após e a cada 15 dias, até o término da experimentação. A medida da fluorescência da clorofila *a* foi realizada no terço médio da primeira folha totalmente expandida, na face abaxial, evitando-se a nervura central, no período matutino (entre 7-10 h), com um fluorômetro OS1p (Opti Sciences), que permitiu verificar a eficiência máxima do fotossistema II (razão F_v/F_m) e a existência de fotoinibição em folhas intactas (SHIMIZU *et al.*, 2006). Durante 15 minutos, as folhas foram mantidas no escuro com cliques específicos para medida da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, a fluorescência máxima (F_m) foi analisada após pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (F_v) ($F_v = F_m - F_0$).

As medições da condutância estomática foram realizadas no terço médio da primeira folha totalmente expandida, na face abaxial, no período matutino (entre 7-10 h), com auxílio de um porômetro SC-1 (METER Group).

Os parâmetros de trocas gasosas foliares foram medidos 1 dia após o fornecimento das formulações e no final do período de experimentação. A folha mais jovem totalmente expandida de cada muda foi utilizada para essas medições, em dias ensolarados entre 7h e 10h. A fotossíntese líquida (A) foi determinada por meio de um analisador de gases infravermelho portátil modelo LICOR 6400 XT (Biosciences, Lincoln NE, EUA), conectado a uma câmara de 6 cm² sob radiação fotossinteticamente ativa saturante (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

2.6 Parâmetros de crescimento

O diâmetro do caule e a altura da muda foram acompanhados ao longo do experimento, ao passo que os parâmetros destrutivos foram avaliados ao final de cada experimento. O diâmetro do caule foi medido no coleto com o uso de um paquímetro digital. A altura e o comprimento da raiz foram medidos com o auxílio de régua milimetrada e a área foliar total, com um integrador de área foliar portátil modelo LI-3000CAP (LiCor Inc., Lincoln, NE, EUA). Para a determinação das massas secas foliar, caulinar e radicial, os diferentes órgãos das mudas foram separados e acondicionados em sacos de papel, secos em estufa a 60°C por 72h.

2.7 Análise estatística

O delineamento foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (fase 1) e 4 tratamentos (fase 2) e 12 repetições. A fase 1 teve por objetivo testar as concentrações de 0, 25, 50, 100 e 200 μM de GSNO emcapsulada em nanopartículas de quitosana (GSNO-CS-NPs). A fase 2 teve por objetivo testar com a dosagem que resultou melhores respostas, a mesma dosagem com as nanopartículas sem o ativo e GSNO livre. Os dados de crescimento em altura e diâmetro ao longo do tempo de plantas jovens de jatobá-da-mata e amburana foram submetidos à análise de variância e se significativo, foi realizado à análise de regressão linear ou não-linear ($p < 0,05$). Para os dados da fase 1, foi realizada a regressão não-paramétrica loess ou a representação por meio de estatística descritiva. Os dados da fase 2 foram submetidos à análise de variância e se significativo o teste de médias de Tukey a 5% de significância. As pressuposições de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram testadas por Shapiro-Wilk e Levene,

respectivamente. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do Software R, usando os pacotes AgroR (SHIMIZU *et al.*, 2022) e AgroReg (SHIMIZU *et al.*, 2021).

3. RESULTADOS

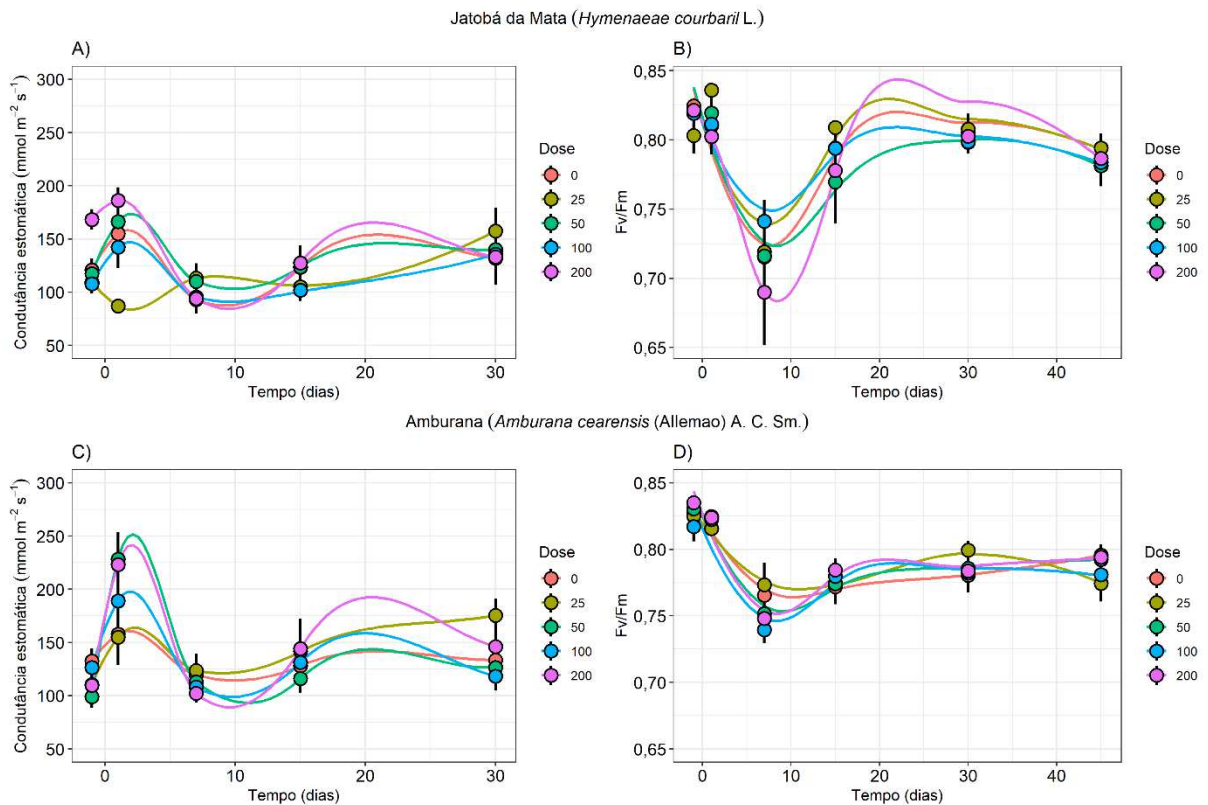
Os parâmetros de eficiência máxima do fotossistema II e condutância estomática foram utilizados como método não destrutivo para determinar o estado funcional da maquinaria fotossintética. As mudas de ambas as espécies florestais foram afetadas pelo estresse pós-plantio. Foi observado comportamento semelhante da eficiência máxima do fotossistema II entre os tratamentos, marcado por um valor elevado inicialmente, posterior queda, seguida de uma recuperação.

Comportamento similar foi observado para a condutância estomática para os tratamentos analisados ao amanhecer. Porém, deve-se salientar que houve ação distinta dos tratamentos sobre o alívio proporcionado frente aos danos do estresse pós-plantio. De posse dos resultados obtidos na primeira avaliação, verificamos que a concentração de 200 μM GSNO-CS-NPs foi a que proporcionou melhores resultados.

Em *H. courbaril*, a dosagem de 200 μM foi favorável para a condutância estomática (Figura 2A), por manter valores elevados nos primeiros dias após o plantio. No decorrer da avaliação, houve uma redução, próximo do décimo dia após o plantio, porém houve ligeira recuperação nos dias subsequentes, e ao final, os resultados se mantiveram similares com os demais tratamentos. Resultados semelhantes foram observados para a eficiência quântica máxima do fotossistema II (Figura 2B).

Para *A. cearensis*, as plantas expostas à concentração de 200 μM apresentaram valores elevados na condutância estomática (Figura 2C), acompanhando uma redução nos valores com os demais tratamentos, seguida de uma recuperação, mantendo seus valores elevados até uma similaridade com os demais tratamentos. O mesmo tratamento teve influência positiva no rendimento quântico máximo do fotossistema II, mantendo valores elevados nas primeiras avaliações, seguido de ligeira queda, próximo ao décimo dia (Figura 2D). Após o décimo dia, os valores aumentaram, mantendo-se elevados em comparação aos demais tratamentos.

Figura 2 - Efeito das dosagens de GSNO-CS-NP (μM) na condutância estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e na eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) de plantas jovens de *A. cearensis* e *H. courbaril*.



Conforme a tabela 3, não houve diferença significativa para as diferentes dosagens de GSNO-CS-NPs nos dados de massa seca e área foliar de mudas de ambas as espécies.

Tabela 3 - Incremento vegetal das espécies florestais sob efeito de dosagens de GSNO-CS-NP.

	Jatobá				Amburana			
FV	Folha (g)	Caule (g)	Raiz (g)	Área foliar (cm ²)	Folha (g)	Caule (g)	Raiz (g)	Área foliar ¹ (cm ²)
Tratamento	0,8698	0,0545	0,05338	0,7344	0,6355	0,719	0,5709	0,3012
CV (%)	54,62	29,60	34,85	53,07	66,27	43,26	51,84	40,62

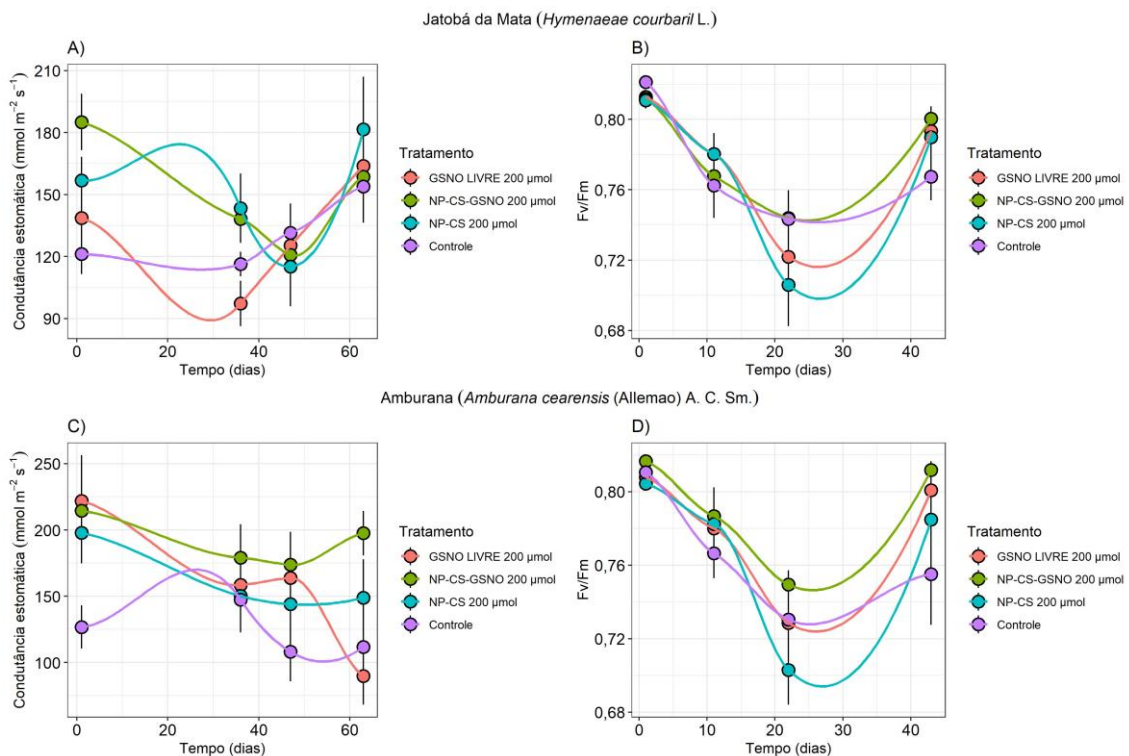
¹Dados transformados para \sqrt{x} .

Os dados do primeiro experimento indicam que a dosagem de 200 μ M GSNO-CS-NP resultou em melhor efeito na fisiologia das plantas. Por essa razão, no segundo ensaio, testamos novamente esta dosagem de GSNO nanoencapsulada, bem como o doador livre (GSNO) e as nanopartículas de quitosana sem o ativo (CS-NP).

Foi observada variação dos valores no tempo, porém também é visto que a dosagem de 200 μM amenizou os efeitos negativos do estresse pós-plantio, garantindo uma proteção eficiente e manutenção dos processos de condutância estomática e fluorescência da clorofila. Os melhores resultados também foram observados para a dosagem de 200 μM com o doador de NO nanoencapsulado em quitosana (GSNO-CS-NP) para as espécies de *A. cearensis* e *H. courbaril* (Figura 3).

No entanto, as nanopartículas de quitosana sem o ativo apresentou substancial recuperação da condutância estomática para as plantas de *H. courbaril*, sobretudo após os 25 dias após o plantio (D.A.P.). Um ponto importante a ser mencionado foi o comportamento pouco expressivo na manutenção dos processos fisiológicos do tratamento com GSNO livre 200 μM , cujos valores de Gs e Fv/Fm permaneceram próximos ou inferiores à testemunha para *H.courbaril* e inferior GSNO-CS-NP em plantas de *A. cearensis*.

Figura 3 - Efeito dos tratamentos com GSNO livre 200 μM , nanopartículas de quitosana contendo 200 μM , nanopartículas de quitosana sem o ativo e o controle na condutância estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e na eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* (A, B) e *Amburana cearensis* (C, D) em diferentes tempos após o transplântio para o campo.



Na tabela 4 foram esquematizados os valores referentes à condutância estomática para as duas espécies estudadas. Nota-se que, para *A. cearensis*, o tratamento com 200 µM GSNO-CS-NP manteve-se superior aos demais. Foi observado que os valores referentes à análise para fluorescência da clorofila. Para jatobá-da-mata, embora os valores do tratamento 200 µM GSNO-CS-NP permanecessem com relevância, não houve diferença estatística entre os mesmos para a última leitura, mantendo-se cerca de 8% superior ao valor atribuído para o tratamento testemunha. Para a amburana apenas o tratamento testemunha diferiu do tratamento 200 µM GSNO-CS-NP, findando com um percentual de 7,5% maior que o valor atribuído para a testemunha.

Tabela 4 - Efeito das dosagens de GSNO livre 200 µM (T1), GSNO-CS-NP 200 µM (T2), nanocápsulas de quitosana vazias 200 µM (T3) e o tratamento testemunha (T4) nos processos fisiológicos numa simulação de reflorestamento de plantas jovens de *A. cearensis* e *H. courbaril*.

<i>H. courbaril</i>						
	T1	T2	T3	T4	CV (%)	p-value
<i>gs</i> 1	138,6 b	185,088 a	156,878 ab	121,325 b	21,761	0,004
<i>gs</i> 2	97,257 b	138,213 a	143,44 a	116,425 ab	22,705	0,022
<i>gs</i> 3	125,317 a	120,771 a	115,157 a	131,550 a	35,231	0,902
<i>gs</i> 4	163,800 a	158,717 a	181,48 a	153,875 a	29,609	0,785
Fv/Fm1	0,813 a	0,812 a	0,811 a	0,821 a	1,132	0,12
Fv/Fm2	0,780 a	0,768 a	0,777 a	0,762 a	4,692	0,818
Fv/Fm3	0,722 a	0,744 a	0,706 a	0,743 a	5,547	0,265
Fv/Fm4	0,793 a	0,800 a	0,790 a	0,768 a	3,758	0,258
<i>A. Cearensis</i>						
	T1	T2	T3	T4	CV (%)	p-value
<i>gs</i> 1	221,9 a	214,613 a	197,838 ab	126,771 b	30,01	0,02
<i>gs</i> 2	158,517 a	179,125 a	150,171 a	147,360 a	42,534	0,814
<i>gs</i> 3	163,933 a	173,775 a	143,967 a	108,050 a	43,103	0,293
<i>gs</i> 4	89,800 b	197,520 a	148,800 ab	111,650 ab	18,706	0,021
Fv/Fm1	0,808 a	0,817 a	0,804 a	0,811 a	1,297	0,15
Fv/Fm2	0,788 a	0,787 a	0,782 a	0,766 a	3,35	0,492
Fv/Fm3	0,729 a	0,749 a	0,703 a	0,730 a	4,946	0,162
Fv/Fm4	0,801 a	0,812 a	0,785 a	0,755 a	4,618	0,128

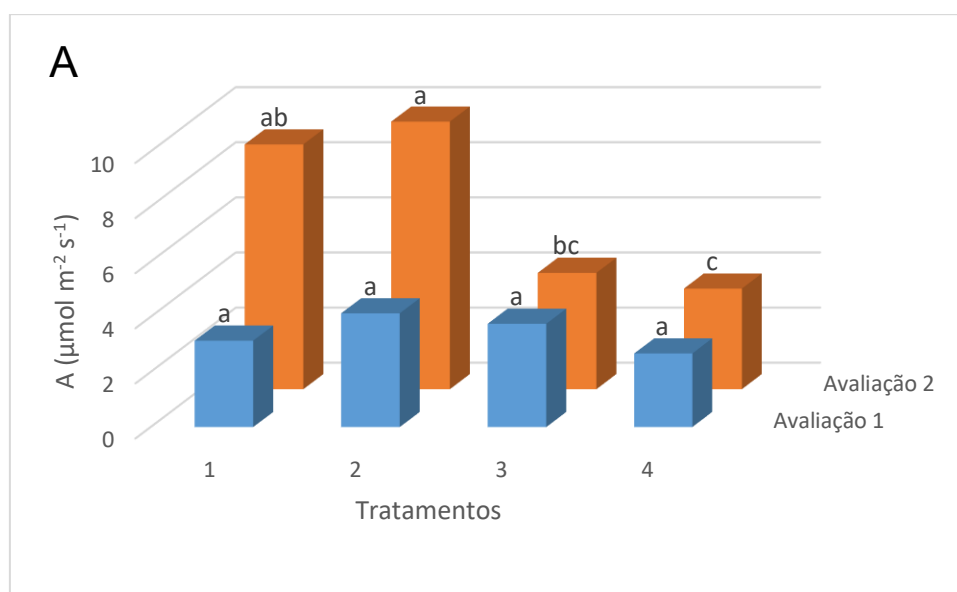
Onde: GSNO livre 200 µM (T1), GSNO-CS-NP 200 µM (T2), nanocápsulas de quitosana sem o ativo e 200 µM (T3) e o tratamento testemunha (T4), Gs1 a Gs5 – Avaliações de condutância estomática (mmol m⁻² s⁻¹), Fv/Fm1 a Fv/Fm4 – Avaliações da fluorescência da clorofila, A1 e A2 – Avaliações da fotossíntese líquida (µmol m⁻² s⁻¹). Tratamentos com letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

No segundo ensaio, o fornecimento de GSNO-CS-NP 200 μM aliviou as plantas das duas espécies ao estresse pós-plantio, favorecendo a recuperação da fotossíntese na segunda análise. Para *H. courbaril*, nas primeiras leituras de fotossíntese líquida realizadas no início do experimento, não houve diferença entre os tratamentos (Figura 4A). Porém, na segunda avaliação, GSNO-CS-NP e GSNO proporcionaram os maiores valores, cerca de 2 vezes maiores que a testemunha. Para *A. cearensis*, apenas o tratamento com GSNO-CS-NP resultou em valores de fotossíntese líquida maiores que a testemunha, em ambas as leituras realizadas (Figura 4B).

Apesar dos efeitos positivos nos parâmetros fisiológicos, os tratamentos com GSNO-CS-NP e GSNO não afetaram os parâmetros relacionados ao crescimento das mudas (Tabela 5). O único efeito significativo detectado foi o aumento do comprimento da raiz de *H. courbaril* por CS-NP em relação à testemunha.

No entanto, os efeitos fisiológicos induzidos por GSNO-CS-NP resultaram em uma menor porcentagem de mortalidade das mudas, para ambas as espécies (Figura 5).

Figura 4 - Efeito na fotossíntese líquida das dosagens de GSNO livre 200 μM (1), GSNO-CS-NP 200 μM (2), nanocápsulas de quitosana vazias 200 μM (3) e o tratamento testemunha (4) em plantas de *A. cearensis* (A) e *H. courbaril* (B).



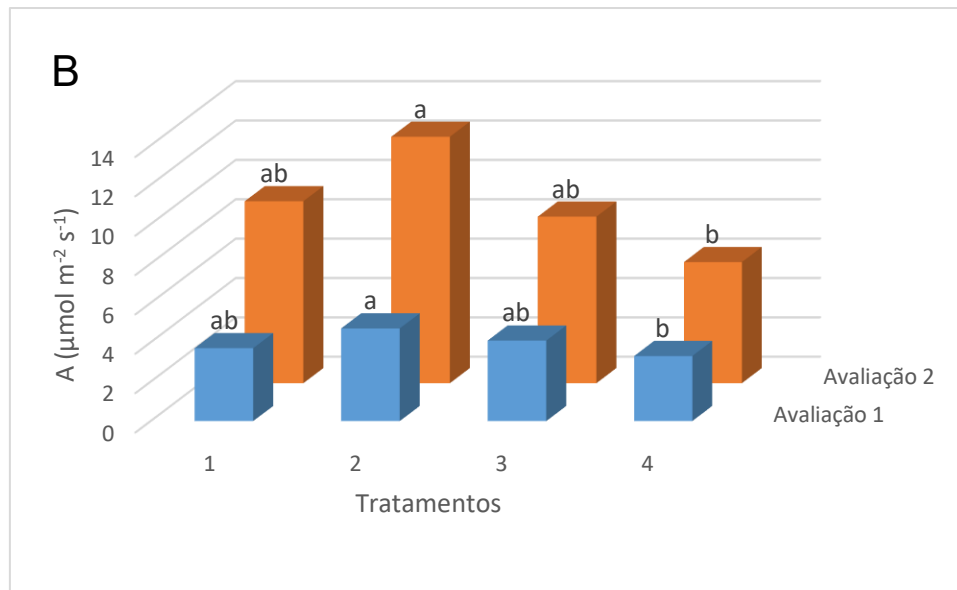
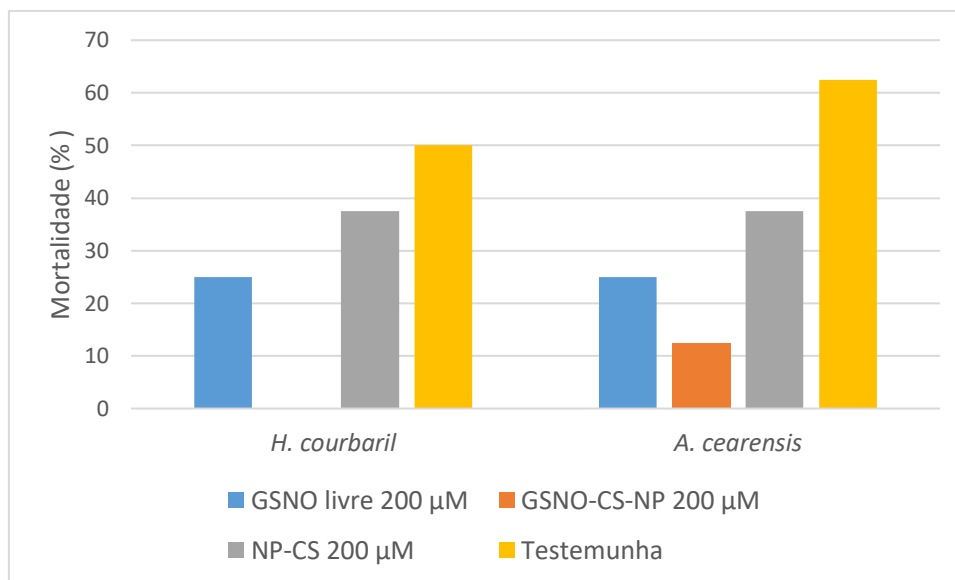


Tabela 5 - Efeito das dosagens de GSNO livre 200 μM (1), GSNO-CS-NP 200 μM (2), nanocápsulas de quitosana vazias 200 μM (3) e o tratamento testemunha (4) crescimento e formação de biomassa numa simulação de reflorestamento de plantas jovens de *A. cearensis* e *H. courbaril*.

<i>H. courbaril</i>						
	T1	T2	T3	T4	CV (%)	p-value
Alt PA	38,586 a	41,675 a	37,737 a	36,763 a	12,988	0,256
Diâmetro	7,179 a	6,975 a	7,155 a	7,048 a	12,19	0,963
Comp. raiz	14,786 ab	16,038 ab	17,000 a	14,043 b	9,974	0,007
AF	200,445 a	220,654 a	184,23 a	174,58 a	41,152	0,694
MS raiz	3,895 a	4,192 a	4,034 a	4,484 a	22,382	0,714
MS caule	4,139 a	4,142 a	4,414 a	4,451 a	22,356	0,868
MS Folha	1,670 a	2,424 a	1,694 a	1,551 a	38,211	0,138
<i>A. Cearensis</i>						
	T1	T2	T3	T4	CV (%)	p-value
Alt PA	19,671 a	19,413 a	19,188 a	18,643 a	15,394	0,926
Diametro	4,287 a	4,671 a	4,652 a	4,970 a	18,355	0,531
Comp raiz	13,429 a	12,175 a	14,025 a	11,357 a	26,068	0,419
MS raiz	2,986 a	5,434 a	4,069 a	3,457 a	37,796	0,6
MS caule	0,682 a	0,713 a	0,755 a	0,692 a	32,325	0,923

Onde: GSNO livre 200 μM (T1), GSNO-CS-NP 200 μM (T2), nanocápsulas de quitosana sem o ativo e 200 μM (T3) e o tratamento testemunha (T4), Alt Pa – Altura de Parte aérea (cm), Comp. Raiz – Comprimento de raiz (cm), AF – área foliar (cm^2); MS raiz – Massa seca de raiz (g), MS caule – Massa seca do caule (g), MS folha – Massa seca de folha (g). Tratamentos com letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 5 - Efeito das dosagens de GSNO livre 200 μM , GSNO-CS-NP 200 μM , nanocápsulas de quitosana sem o ativo 200 μM e o tratamento testemunha no percentual de sobrevivência de plantas jovens de *A. cearensis* e *H. courbaril* numa simulação de reflorestamento.



4. DISCUSSÃO

Os estresses ambientais desempenham um papel significativo na formação e no desenvolvimento de um plantio florestal saudável. Esses fatores de estresse podem incluir condições edafoclimáticas adversas, como temperatura extrema, qualidade do solo, falta ou excesso de chuvas, ventos fortes e geadas, as quais podem ter um impacto negativo no estabelecimento e no crescimento inicial das mudas, com aumento de mortalidade (SAMPAIO *et al.*, 2021).

Para minimizar os efeitos negativos, é essencial tomar medidas de manejo, como escolha de espécies adequadas, preparação apropriada do solo e suplementação de água para os períodos de estiagem (SILVA *et al.*, 2004). Todas essas técnicas ou práticas silviculturais podem não ser totalmente eficazes, de forma que a suplementação de NO, através do tratamento com um doador livre ou nanoencapsulado, é uma estratégia promissora para proteger as mudas contra fatores abióticos de estresse e induzir um melhor desenvolvimento fisiológico das mudas em seu estágio inicial.

Tal como visto por Oliveira *et al.* (2019) os resultados obtidos no presente trabalho ratificam o benefício da nanoencapsulação do doador de NO, permitindo a aplicação bem-sucedida de NO em plantas posteriormente transferidas para condições de campo, com simulação de um reflorestamento, salientando que os autores

focaram na produção de mudas em viveiro e no presente trabalho avaliamos os efeitos em campo. Nesse sentido, mostramos que o fornecimento de GSNO nanoencapsulado na dosagem de 200 μM foi capaz de atenuar os efeitos negativos dos estresses ambientais no desenvolvimento inicial das plantas de *H. courbaril* e *A. cearensis*, sobretudo favorecendo um maior percentual de sobrevivência das mudas das duas espécies florestais (Figura 5). Fato também defendido por Silveira *et al.* (2021) que concluíram que a aplicação de doadores de NO encapsulados em nanopartículas de quitosana protege esse composto contra a degradação, permitindo liberação controlada e prolongada.

No geral, os resultados indicam que as nanopartículas de quitosana têm um efeito protetor na estabilidade térmica e fotoquímica de S-nitroso-GSNO, aliado aos benefícios de ser uma molécula biodegradável com baixa toxicidade para as plantas, muitos estudos com quitosana relatam os efeitos positivos desta molécula no crescimento da planta e respostas ao estresse, tal como apontado por Oliveira *et al.* (2019). Esses autores verificaram que a nanoencapsulação de um doador de NO permitiram o aumento de parâmetros de crescimento como área foliar, comprimento e diâmetro do caule e massas secas de folha e caule, em plantas de *Heliocarpus popayanensis* Kunth em condições de viveiro.

Por isso propusemos documentar o uso de nanopartículas que liberam óxido nítrico (NO) em mudas de espécies arbóreas nativas em condições de campo, indo além das condições controladas de viveiro, considerando não apenas trocas gasosas foliares e fotoquímica primária, mas também produção de biomassa, visto a carência de estudos nessa simulação de reflorestamento. Essa abordagem pode ter implicações significativas para melhorar as respostas das plantas aos estresses abióticos, permitindo o controle das taxas e quantidades de liberação de NO proveniente dos doadores de NO encapsulados em nanomateriais, embora a entrega adequada de NO às células vegetais ainda é um desafio que dificulta seu uso em condições naturais de campo, o que sabemos é que a nanoencapsulação de doadores de NO aumentou a entrega de NO às plantas devido a uma liberação sustentada de NO (SEABRA *et al.*, 2022b).

De fato, a encapsulação de doadores de NO em nanomateriais surgiu como uma estratégia para proteger essas moléculas de degradação rápida e permitir uma liberação mais controlada de NO, prolongando seus efeitos (SILVEIRA *et al.*, 2019; SEABRA *et al.*, 2022b). Além disso, os nanomateriais (como a própria nanoquitosana) podem aumentar a tolerância das culturas a diferentes estresses abióticos, como seca, salinidade e temperatura (EL-SAADONY *et al.*, 2022).

Tal motivação para também testar as nanocápsulas sem o ativo é justificado pelo que foi descrito por Kumaraswamy *et al.* (2018), no qual relatam que nanomateriais à base de quitosana têm o potencial de estimular o crescimento e a produtividade das plantas, induzindo o crescimento de mudas, a fotossíntese e aumentando a absorção de nutrientes, além de desencadear várias respostas fisiológicas e bioquímicas nas plantas que ajudam no crescimento sustentado e na proteção contra doenças, sendo capazes de aumentar a imunidade inata da planta, potencializar o crescimento e desenvolvimento de várias culturas.

Embora os nanomateriais liberadores de NO tenham sido extensivamente explorados em diferentes aplicações biomédicas, seus usos em plantas ainda são pouco conhecidos (SEABRA *et al.*, 2022b). Ingle *et al.* (2022) descreve a quitosana como um polímero natural amplamente utilizado na indústria farmacêutica e o material mais utilizado para a síntese de nanopartículas liberadoras de NO que surgiram recentemente com grande potencial para serem usadas em diferentes ciências vegetais devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, baixo custo e alta permeabilidade nos tecidos vegetais, podendo fornecer moléculas e/ou material genético, possuem atividade antifúngica e antibacteriana, atuam como bioestimulantes e possuem ação protetora contra o estresse abiótico. Porém, neste estudo, as nanocápsulas sem o ativo não proporcionaram efeitos significativos ou então de destaque no desenvolvimento inicial das plantas em campo.

Fato importante a ser mencionado é que a nanoencapsulação do GSNO em nanocápsulas de quitosana proporcionou uma liberação de NO mais equilibrada e uma proteção contra a degradação ambiental antes de atingir seu alvo, em relação ao GSNO livre, fato que proporcionou a manutenção de valores mais elevados para condutância e fluorescência da clorofila. Fato semelhante foi relatado por Oliveira *et al.* (2019) cujo doador nanoencapsulado afetou positivamente o desenvolvimento inicial de mudas de *Heliocarpus popayanensis* quando comparado ao tratamento com o doador livre, sendo considerada uma estratégia para melhorar a aclimação de árvores neotropicais com impactos potenciais em programas de reflorestamento. Carmo *et al.* (2021) também evidencia que em produção de plantas de *Heliocarpus popayanensis* sob estresse hídrico, em que a nanoencapsulação do doador de NO melhorou o efeito protetor das plantas frente ao estresse e, segundo os autores, surge como estratégia promissora para obtenção de mudas arbóreas com maior tolerância à seca.

Tal como visto nesse estudo, Wei *et al.* (2022) verificaram que o tratamento com GSNO teve um efeito significativo nos parâmetros de fluorescência da clorofila das folhas de tomate sob estresse salino, promovendo um aumento da eficiência fotoquímica máxima (Fv/Fm), quando comparados com o controle. Segundo os autores, pela análise do parâmetro de fluorescência da clorofila, o estresse salino causou uma diminuição significativa em Fv/Fm em folhas de tomate, o que implica redução da eficiência da conversão da energia luminosa primária e da captação de energia desses centros abertos levando a uma diminuição da atividade do PSII, no entanto o NO melhorou Fv/Fm, indicando que o NO pode aliviar o estresse salino em mudas de tomate ativando fotossistemas.

Em consonância ao fato observado, Oliveira *et al.* (2016) testaram um doador de NO nanoencapsulado e concluíram que houve melhoria dos efeitos deletérios da salinidade na atividade do fotossistema II em plantas de milho. Sami *et al.* (2021) provaram que a aplicação de NO em plantas de mostarda (*Brassica juncea*), foi benéfica por aumentar os valores de Fv/Fm, bem como os parâmetros de trocas gasosas e abertura estomática.

A capacidade de recuperação das atividades fisiológicas das plantas analisadas após o estresse pós-plantio é essencial para a retomada do pleno desenvolvimento da planta, sendo essa uma característica fundamental a ser avaliada quando se estuda a tolerância a estresses. Silveira *et al.* (2021) mostraram que plantas de cana-de-açúcar tratadas com GSNO nanoencapsulado tiveram uma recuperação pronunciada da fotossíntese, condutância estomática e transpiração de plantas sob déficit hídrico em comparação com outros doadores de NO.

Tal como relatado por Kolbert *et al.* (2019) uma ampla gama de atividades fisiológicas envolve o NO nas plantas, desde a germinação das sementes, passando pela modulação do crescimento e controle da abertura estomática, até a senescência e morte celular programada. Além disso, durante a vida de uma planta, o NO também ajuda na proteção contra patógenos e uma infinidade de estresses.

Claramente foram percebidos efeitos benéficos do uso de GSNO nanoencapsulado em quitosana para o desenvolvimento inicial das duas espécies florestais utilizadas. Tais vantagens obtidas por meio da dosagem de 200 µM GSNO-CS-NP seriam a eficiência na entrega do composto, permitindo que o GSNO seja liberado de forma controlada e sustentada no ambiente, aumentando sua eficácia. Seabra *et al.* (2022b) ressalta ainda a minimização de impactos ao meio ambiente e aos organismos

que interagem com as plantas dos nanomateriais liberadores de NO, visto pelas baixas doses de doadores de NO aplicadas às plantas. Como a concentração de NO necessário para a sinalização nas plantas é baixa costuma-se realizar uma alta razão de diluição das nano formulações estoque minimizando assim a exposição da planta/ambiente/humano ao nanomaterial e derivados de NO, além também, pelo fato da quitina possuir propriedades biocompatíveis e biodegradáveis.

Embora a fotossíntese tenha sido influenciada por tratamentos com doadores de NO, eles não afetaram o crescimento das plantas, e sugere que os fotoassimilados foram orientados para a manutenção de mecanismos e estruturas de proteção aos estresses pós-plantio. Carmo *et al.* (2021) aponta como mecanismos de proteção a formação de antioxidantes e pêlos radiculares. Fato semelhante foi apontado por Pereira *et al.* (2015), onde para todas as concentrações testadas, as nanopartículas de alginato/quitosana contendo GSH ou GSNO não tiveram efeito significativo no crescimento e desenvolvimento de *Zea mays* e *Glycine* sp., em termos de parte aérea, altura, comprimento da raiz e massa seca, e mesmo assim, os autores concluem que doadores de NO nanoencapsulados detêm de potencial uso na agricultura como sistemas de liberação sustentada.

Nesse sentido, Sousa *et al.* (2020) mostraram que o NO foi capaz de reduzir a perda de água das plantas de soja sob déficit hídrico, mantendo a produção de biomassa por meio da alteração das características estomáticas, da condutividade hidráulica, não alterando a formação de biomassa entre os tratamentos. Pelegrino *et al.* (2021) descrevem que o NO modula vários processos fisiológicos no crescimento vegetal e a administração de doadores de NO tem sido relacionada ao aumento da produção de biomassa, porém, também não verificaram aumento de biomassa em plantas de alface tratadas com GSNO em relação ao tratamento controle e ressaltam que se deve notar que o NO pode ter efeitos benéficos ou deletérios nas plantas, e essas diferenças são atribuídas principalmente à sua concentração.

A massa seca das plantas não variou significativamente entre os diferentes tratamentos utilizados, tal como visualizado na fase 1 da experimentação. Fato também detalhado por Silveira *et al.* (2021), em estudo com cana de açúcar, não encontraram nenhum efeito significativo do doador GSNO no crescimento das plantas, assim argumentam que o aumento da troca gasosa foliar durante a recuperação causada pelo GSNO não foi suficiente para aumentar o acúmulo de biomassa em plantas sob estresse abiótico.

Tal fato é apontado por Wieczorek *et al.* (2006), visto que, em uma concentração de doador de NO muito alta, em vez de estimulação, pode ser observada uma inibição do processo e, portanto, os resultados obtidos não refletirão a ação do NO endógeno na célula. As concentrações de doadores comumente aplicadas variam de 10 a 500 μM , embora haja relatos de quantidades muito maiores do doador de NO, no máximo 10 mM. Ainda segundo os autores, em relação à questão supracitada, inúmeras questões podem ser levantadas, nomeadamente se o doador de NO aplicado a uma planta em diferentes formas e em diferentes doses, à luz e no escuro, pode refletir adequadamente as funções desempenhadas pelo NO endógeno no tecido.

Oliveira *et al.* (2015) aponta que o sucesso do projeto de restauração de áreas degradadas por meio do plantio de mudas, depende do estabelecimento das espécies vegetais, considerando a taxa de sobrevivência e de crescimento dessas plantas, de maneira que o monitoramento, a partir do transplante da muda do viveiro para a área em restauração/recuperação é essencial. Observa-se também que, devido à variedade de espécies florestais empregadas na recuperação de áreas degradadas, surgem disparidades significativas na taxa de sobrevivência. Isso aponta para possibilidades de adaptação, além de apresentar índices variáveis de sobrevivência e crescimento, além disso, as distintas respostas ao ambiente de plantio são influenciadas pelas diversas condições abióticas presentes no local.

Por esse entendimento que a adoção de uma suplementação de doador nanoencapsulado, tal como aqui exposto, torna-se um meio eficaz de garantir bons resultados em projetos de recuperação e/ou restauração de ambientes florestais, assim, espera-se que as plantas estejam mais aptas para suportar as condições de estresse ambiental e assim, conseqüentemente, apresentarão melhor desempenho fisiológico e sobrevivência após o plantio.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que a aplicação de um doador de NO (GSNO) incorporado em nanopartículas de quitosana sob a dosagem de 200 μM , propiciou um melhor desempenho fisiológico e sobrevivência de mudas de *H. courbaril* e *A. cearensis* após o plantio no campo, despontando como uma estratégia promissora para redução do estresse pós-plantio em programas de reflorestamento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, Y.V.; MARQUEZ, A.P.; GARCIA, L.F. Óxido Nítrico y su papel en las respuestas de las plantas al estrés hídrico. **Cultrop**, v.36, n.1, p.51-58, 2015.

AMÂNCIO, V.O.; SILVA, J.C.B.; OLIVEIRA, S.C.F.; BRITO, A.E.A.; OLIVEIRA NETO, C.F.; FREITAS, J.M.N.; NOGUEIRA, G.A.S.; SOUZA, L.C.; NASCIMENTO, V.R.; MONTEIRO, G.G.T.N. **Óxido nítrico como mitigador de estresses em plantas**, cap.8, pag.115-126. In: PACHECO, C.S.G.R.; RIBEIRO, G.F.; CALDEIRA, M.V.W.; MARTINS, W.F.; PRATA, E.G.; LIMA, C.R.; AYOUB, J.P. Biomassa: recursos, aplicações e tecnologias em pesquisas, Ed. Científica Digital, Guarujá/SP, 1 ed., 144 p., 2022.

ARAÚJO, L.M.; NETO, M.R.C.; SEGUIN, E. A busca da efetividade do Acordo de Paris. **Revista Direito, Estado e Sociedade**, n. 54, p.279-309, 2019.

BALDUINO, M. C. J. M. **Mudanças climáticas: análise da implementação das contribuições nacionalmente determinadas do Brasil no Acordo de Paris**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal, 2020. 215p.

CARMO, G.C.; IASTRENSKI, L.F.; DEBIASI, T.V.; SILVA, R.C.; GOMES, D.G.; PELEGRINO, M.T.; BIANCHINI, E.; MOREIRA, R.S.; PIMENTA, J.A.; OLIVEIRA, H.C. Nanoencapsulation improves the protective effects of a nitric oxide donor on drought-stressed *Heliocarpus popayanensis* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.225, n.1, p.112713, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112713>

CINTRA, P.H.N.; MELO, O.F.P.; MENEZES, J.O.S.; PADILHA, R.C.; REZENDE, A.G.; MATOS, E.R. Análise de fluorescência da clorofila a em mudas de cafeeiro sob estresse hídrico. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.5, p.28006-28014, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-301>

EL-SAADONY, M.; SAAD, A; SOLIMAN, S.M.; SALEM, H.M. DESOKY, E.S.M.; BABALGHITH, A.O.; EL-TAHAN, A.M.; IBRAHIM, O.M.; EBRAHIM, A.A.M.; EL-MAGEED, T.A.A.; ELRYS, A.S.; ELBADAWI, A.A.; EL-TARABILY, K.A.; ABUQAMAR, S.F. Crop Tolerance to Role of Nanoparticles in Enhancing Abiotic Stress: A Comprehensive Review. **Frontiers in Plant Science**, v.13, p. 946717, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.946717>

ESRINGU, A.; AKSAKAL, O.; TABAY, D.; KARA, A.A. Effects of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on UV-B stress tolerance in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, n.1, p.589-597, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5301-1>

GONZÁLES, A.R.; CAMERO, L.C.T.; PUERTAS, M.C.R. Funciones del óxido nítrico en la respuesta de la planta a la toxicidad por cadmio. **Ecosistemas**, v.29, n.2, p.1935-1935, 2020. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1935>

INGLE, P.U.; SHENDE, S.S.; SHINGOTE, P.R.; MISHRA, S.S.; SARDA, V.; WASULE, D.L.; RAJPUT, V.D.; MINKINA, T.; RAI, M.; SUSHKOVA, S.; MANDZHIEVA, S.; GADE, A. Chitosan nanoparticles (ChNPs): A versatile growth promoter in modern agricultural production. **Heliyon**, v.8, p. 1-10, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11893>

KOLBERT, Z.S.; BARROSO, J.B.; BROUQUISSE, R.; CORPAS, F.J.; GUPTA, K.J.; LINDERMAYR, C.; LOAKE, J.G.; PALMA, J.M.; PETŘIVALSKÝ, M.; WENDEHENNE, D., HANCOCK, J.T. A forty year journey: The generation and roles of NO in plants. **Nitric Oxide**, v.93, p.53-70, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.006>.

KUMARASWAMY, R.V.; KUMARI, S.; CHOUDHARY, R.C.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P.; SAHARAN, V. Engineered chitosan based nanomaterials: Bioactivities, mechanisms and perspectives in plant protection and growth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.1, n.113, p.494-506, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.130>.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo/SP, Rima. 2006. 531p.

LOWRY, G.V.; AVELLAN, A.; GILBERTSON, L.M. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. **Nature Nanotechnology**, v.14, n.6, p. 517-522, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0461-7>

MARCATO, P.D.; ADAMI, L.F.; BARBOSA, R.M.; MELO, O.S.; FERREIRA, I.R.; DE PAULA, L.; DURAN, N.; SEABRA, A.B. Development of a sustained-release system for nitric oxide delivery using alginate/chitosan nanoparticles. **Current Nanoscience**, v.9, n.1, p.1-7, 2013. <https://doi.org/10.2174/1573413711309010003>

OLIVEIRA, H. C.; GOMES, B. C. R.; PELEGRINO, M. T.; SEABRA, A. B. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric oxide**, v.30, n.61, p.10-19, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.09.010>

OLIVEIRA, M. C.; OGATA, R. S.; ANDRADE, G. A.; SANTOS, D. S.; SOUZA, R. M.; GUIMARAES, T. G.; SILVA JÚNIOR, M. C.; PEREIRA, D. J. S.; RIBEIRO, J. F. **Manual de viveiro e produção de mudas: espécies arbóreas nativas do Cerrado**. Brasília, DF: Universidade de Brasília, Rede de Sementes do Cerrado, 2016. 124p.

OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO, J.F.; PASSOS, F.B.; AQUINO, F.G.; OLIVEIRA, F.F.; SOUSA, S.R. Crescimento de espécies nativas em um plantio de recuperação de Cerrado sentido restrito no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 1, p. 25-32, 2015.

OLIVEIRA, P.J.L.; GOMES, D.G.; PELEGRINO, M.T.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; STOLF-MOREIRA, R., SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. Efeitos de nanopartículas liberadoras de óxido nítrico em mudas de árvores neotropicais submetidas à aclimação a pleno sol no viveiro. **Relatórios científicos**, v.9, n.1, p. 1-10, 2019.

PASCOLI, M.; LOPES-OLIVEIRA, P.J.; FRACETO, L.F.; SEABRA, A. B.; OLIVEIRA, H. C. State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications. **Energy. Ecology. and the Environment**, v.3, p.137-148, 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s40974-018-0090-2>

PELEGRINO, M.T.; PIERETTI, J.C.; LANGE, C.N.; KOHATSU, MY, FREIRE, BM, BATISTA, BL; FINCHEIRA, P.; TORTELLA, G.R.; RUBILAR, O.; SEABRA, AB. Foliar spray application of CuO nanoparticles (NPs) and S-nitrosoglutathione enhances productivity, physiological and biochemical parameters of lettuce plants. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 96, n.8, p.2185-2196, 2021. <https://doi.org/10.1002/jctb.6677>

PELEGRINO, M.T.; SILVA, L.C.; WATASHI, P.S.; HADDAD, T.R.; SEABRA, A.B. Nitric oxide-releasing nanoparticles: synthesis, characterization, and cytotoxicity to tumorigenic cells. **Journal of Nanoparticle Research**, v.19, n.57, p.57-72, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11051-017-3747-4>

PEREIRA, A.E.S.; NARCISO, A.M.; SEABRA, A.B.; FRACETO, L.F. Evaluation of the effects of nitric oxide-releasing nanoparticles on plants. **Journal of Physics: Conference Series**, v.617, n.1, p.12-25, 2015. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/617/1/012025>

PEREIRA, T.M.; SANTOS, H.O.D.; CUNHA NETO, A.R.D.; PELISSARI, F.; PEREIRA, W.V.; MELO, L.A.D. Óxido nítrico protege as sementes de *Eucalyptus urophylla* sob condições de estresse salino? **Journal of Seed Science**, v.42, e202042041, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42236272>

RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. & QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Instituto Agrônomo de Campinas**, 2001. 285p.

REI, F.C.F.; GONÇALVES, A.F.; SOUZA, L.P. Acordo de Paris: reflexões e desafios para o regime internacional de mudanças climáticas. **Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 29, p. 81-99, 2017. <https://doi.org/10.18623/rvd.v14i29.996>

SAMI, F.; SIDDIQUI, H.; HAYAT, S. Nitric Oxide-Mediated Enhancement in Photosynthetic Efficiency, Ion Uptake and Carbohydrate Metabolism that Boosts Overall Photosynthetic Machinery in Mustard Plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p.1088-1110, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10166-5>.

SAMPAIO, A.B.; RIBEIRO, K.T.; VIEIRA, D.M.; SILVA, D.C.B. **Guia para restauração ecológica para gestores de unidades de conservação**. Brasília, DF: Instituto Chico Mendes, 1 ed., 2021. 68p.

SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. How nitric oxide donors can protect plants in a changing environment: what we know so far and perspectives. **AIMS Molecular Science**, v.3, n.4, p. 692-718, 2016. <https://doi.org/10.3934/molsci.2016.4.692>

SEABRA, A.B.; PELEGRINO, M.T.; LOPES-OLIVEIRA, P.J.; GOMES, D.G.; OLIVEIRA, H.C. Overview of nitric oxide homeostasis: strategies for altering the levels of this signaling molecule in plants. **Nitric Oxide in Plant Biology**, p.3-41, 2022a. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818797-5.00012-1>

SEABRA, A.B.; SILVEIRA, N.M.; RIBEIRO, R.V.; PIERETTI, J.C.; BARROSO, J.B.; CORPAS, F.J.; PALMA, J.M.; HANCOCK, J.T.; PETRIVALSKY, M.; GUPTA, K.J.; WENDEHENNE, D.; LOAKE, G.J.; DURNER, J. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agriculture. **New Phytologist**, v.234, n.4, p.1119-1125, 2022b. <https://doi.org/10.1111/nph.18073>

SILVA A.N.; HANH, C.M.; OLIVEIRA, C.; AMARAL, E.M.; SOARES, P.V. Recuperação Florestal: da muda à floresta. Fundação para a Conservação e a Produção Florestal do Estado de São Paulo, 2004.112 p.

SILVA, F.C.; ABREU, M.F.; PEREZ, D.V.; EIRA, P.A.; ABREU, C.A.; RAIJ, B.V.; GIANELLO, C.; COELHO, A.M.; QUAGGIO, J.A.; TEDESCO, M.J.; SILVA, C.A. BARRETO, W.O. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. pt. 2, cap. 1, p. 107-189.

SILVEIRA, N.M.; FRUNGILLO, L.; MARCOS, F.C.C.; PELEGRINO, M.T.; MIRANDA, M.T.; SEABRA, A.B.; SALGADO, I.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, v.244, n.1, p.181-190, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2501-y>

SILVEIRA, N.M.; PRATAVIERA, P.J.; PIERETTI, J. C.; SEABRA, A.B.; ALMEIDA, R.L.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Chitosan-encapsulated nitric oxide donors enhance physiological recovery of sugarcane plants after water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, v.190, p.104593, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104593>

SILVEIRA, N.M.; SEABRA, A.B.; MARCOS, F.C.; PELEGRINO, M.T.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Encapsulation of S-nitrosoglutathione into chitosan nanoparticles improves drought tolerance of sugarcane plants. **Nitric Oxide**, v.84, n.1, p.38-44, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.01.004>

SHIMIZU, M.; ISHIDA, A.; TANGE, T.; YAGI, H. Leaf turnover and growth responses of shadegrown saplings of four Shorea rain forest species to a sudden increase in light. **Tree Physiol**, v.26, p.449-457, 2006.

SHIMIZU, G.D.; MARUBAYASHI, R.Y.P.; GONÇALVES, L.S.A. 2021. **AgroR: Experimental Statistics and Graphics for Agricultural Sciences**. R package version 1.2.2. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/AgroR/index.html>

SHIMIZU, G.D.; MARUBAYASHI, R.Y.P.; GONÇALVES, L.S.A. **AgroR: Experimental Statistics and Graphics for Agricultural Sciences**. R package version 1.2.2. 2022. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/AgroR/index.html>>.

SOUSA, L.F.; SILVA, P.E.M.; LOURENÇO, L.L.; GALMÉS, J.; GUIMARÃES, A.C.; SILVA, A.F.; LIMA, A.P.R.; HENNING, L.M.M.; COSTA, A.C.; SILVA, F.G.; FARNESE, F.D.S. Improving water use efficiency by changing hydraulic and stomatal characteristics in soybean exposed to drought: the involvement of nitric oxide. **Physiologia plantarum**, v. 168, n.3, p.576-589, 2020. <https://doi.org/10.1111/ppl.12983>

WEI, L.; ZHANG, J.; WEI, S.; HU, D.; LIU, Y.; FENG, L.; LI, C.; QI, N.; WANG, C.; LIAO, W. Nitric oxide enhanced salt stress tolerance in tomato seedlings, involving phytohormone equilibrium and photosynthesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.23, n.9, p. 4539, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23094539>

WIECZOREK, J.F.; MILCZAREK, G.; ARASIMOWICZ, M. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants? **Planta**, v.224, n.6, p.1363-1372, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0321-1>

Efeito do tratamento com doador de óxido nítrico na fisiologia de mudas de mogno africano sob déficit hídrico

Resumo: O plantio de mogno africano (*Khaya grandifoliola*) tem crescido no Brasil como alternativa de investimento seguro e rentável. No entanto, áreas com déficit hídrico, oriundo de estiagens prolongadas, podem ocasionar maior mortalidade das mudas e resultar em limitações no incremento de biomassa. A aplicação de óxido nítrico (NO) pode desempenhar importante papel em plantas na defesa contra o déficit hídrico. Assim, objetivou-se avaliar o potencial mitigador do NO sobre características fisiológicas de plantas de *K. grandifoliola* sob déficit hídrico. Para isso, mudas de *K. grandifoliola* foram elevadas à condição de saturação de solo por umidade por três vezes em dias intercalados, com intervalo de um dia. Na sequência, as plantas receberam diferentes dosagens do doador de NO ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) nas dosagens de 0; 0,1; 0,2 e 0,4 mM e não mais foram irrigadas, formando quatro tratamentos, com 15 repetições. O experimento teve duração total de 20 dias. A aplicação de MSNO na concentração de 0,2 mM promoveu a atenuação dos efeitos do déficit hídrico sobre o desempenho fotossintético, mantendo o maior valor de fotossintética líquida (A), sendo este 46,5% superior ao da testemunha. A dosagem de 0,2 mM de MSNO foi capaz de promover maior tolerância às plantas de *K. grandifoliola* ao déficit hídrico severo, promovendo também a maior sobrevivência das plantas, desempenho fisiológico adequado, com maiores valores de transpiração, eficiência no uso da água, conteúdo relativo de água e condutância de água.

Palavras-chave: fotossíntese, *Khaya grandifoliola*, seca, *S-nitrosotiol*, silvicultura.

1. INTRODUÇÃO

O setor florestal brasileiro vem expandindo nos últimos anos em área com florestas plantadas e na produção e consumo de produtos florestais, madeireiros e não madeireiros, especialmente devido à crescente demanda mundial por esses produtos. O Brasil, detentor de alto potencial florestal, ampliou sua área plantada na última década. Em 2021, a área total de árvores plantadas totalizou 9,93 milhões de hectares, um crescimento de 1,9% em relação ao dado de 2020 (9,75 milhões de hectares). Entre as espécies, 75,8% da área são compostas pelo cultivo de eucalipto, com 7,53 milhões de

hectares, e 19,4% de pinus, com aproximadamente 1,93 milhão de hectares. Além desses cultivos, existem 475 mil hectares plantados de outras espécies, entre elas a seringueira, acácia, teca, paricá e mogno africano. Os Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul seguem como principais produtores de florestas plantadas no país (IBA, 2022).

O Brasil é referência mundial quando o assunto é produtividade de plantios florestais, com alto volume de produção anual de madeira por área e um curto ciclo. Além das condições de clima e solo, o setor investe anos em pesquisa e desenvolvimento das melhores técnicas de manejo florestal, aliados ao melhoramento genético e práticas sustentáveis (IBA, 2022).

Embora todos os grupos de produtos madeireiros indiquem predomínio da produção à base de madeira de eucalipto no território nacional (IBGE, 2018), dentre as espécies florestais plantadas para a produção de madeira tropical nobre, a produção de *K. grandifoliola* tem crescido muito no Brasil, como alternativa de investimento seguro e rentável para pequenas, médias e grandes áreas rurais (AQUINO *et al.*, 2018).

A madeira de *K. grandifoliola* tem sido mundialmente reconhecida como nobre sendo a principal substituta da madeira do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla*), possuindo ampla utilidade. Entre suas principais aplicações, se destacam a fabricação de móveis de luxo, adornos, entalhes, instrumentos musicais, faqueados, laminados, construção civil e naval, e em revestimentos internos e decorativos em várias partes do mundo (REIS *et al.*, 2019; RONDON NETO, 2021).

No Brasil, os cultivos de mogno africano (*K. anthotheca*, *K. grandifoliola*, *K. ivorensis* e *K. senegalensis*) têm crescido de forma significativa nos últimos anos. Estima-se que a área plantada em território brasileiro já tenha ultrapassado 37 mil hectares em 2018, o que torna o Brasil, muito provavelmente, o maior plantador desse gênero, seguido da Austrália com 14 mil hectares de *K. senegalensis* (REIS *et al.*, 2019). Porém, o setor detém de desafios para implantar novas florestas capazes de atender a demanda do mercado de forma sustentável e equilibrada, sendo aptas a atender as exigências do mercado consumidor (AQUINO *et al.*, 2018).

Sabemos que as variações no microclima influenciam os processos fisiológicos dos vegetais, como fotossíntese e respiração, o que interfere diretamente no crescimento das plantas (OTTO *et al.*, 2013) e a disponibilidade hídrica é uma variável com bastante influência no desenvolvimento vegetal.

Dentre os fatores limitantes à produção vegetal, destaca-se o déficit hídrico, o qual ocorre em grandes extensões de áreas cultiváveis, afetando as relações hídricas das plantas e alterando seu metabolismo, visto que a água se relaciona ao transporte de substâncias orgânicas e inorgânicas pelo corpo da planta, além de participar de vários processos metabólicos e fisiológicos como alterações na taxa de assimilação líquida do CO₂, na condutância estomática e na transpiração. Esse tipo de estresse ocorre nas plantas quando a perda de água pela transpiração ultrapassa a capacidade de absorção pelas raízes, resultando em desidratação celular, com consequentes danos às células, que pode desencadear a morte celular (SANTOS *et al.*, 2022).

Um dos compostos de alta eficiência na proteção de plantas contra o déficit hídrico é o óxido nítrico (NO), uma molécula sinalizadora de importante papel na resposta de plantas submetidas a estresses abióticos. Nessas condições, um dos mecanismos de defesa mais importantes é o fechamento estomático induzido pela redistribuição e síntese do ABA (ZHANG *et al.*, 2023).

Em ambiente sob deficiência hídrica, o NO é apontado como um potencial mitigador dos efeitos negativos do estresse, mostrando-se como uma possibilidade efetiva para a indução da tolerância à seca, sendo o estresse hídrico um dos fatores de estresse abiótico mais difundido e que limita significativamente o crescimento das plantas e o rendimento das culturas, fato de que a aplicação exógena de doadores de NO contribuiu para a manutenção de diversos parâmetros fisiológicos e bioquímicos, como germinação de sementes, crescimento vegetativo, fotossíntese, respiração e equilíbrio hídrico em plantas submetidas ao estresse (ALLAGULOVA *et al.*, 2023).

Como mencionado, condições de seca, entre outras restrições ambientais, geram estresse oxidativo nas plantas e nesse contexto, o óxido nítrico (NO) alivia os sintomas de várias consequências prejudiciais derivadas de uma explosão oxidativa, como clorose, fragmentação do DNA e morte celular apoptótica, quando as plantas são desafiadas por estresses (a)bióticos (DEL CASTELLO *et al.*, 2019). Ainda segundo Lau *et al.* (2021) a restrição de água causa sinais de necrose; prolonga a duração da iniciação dos primórdios; e reduz o número de brotos por explante, comprimento do broto, número de folhas, área foliar, produção de frutos e biomassa vegetal, além das partes aéreas das plantas, as partes subterrâneas, também respondem à seca, alterando o comprimento das raízes tornando-as mais curtas e no nível fisiológico, o estresse hídrico reduz a condutância estomática e aumenta a taxa de transpiração, o potencial hídrico, a eficiência do uso da água e a condutividade hidráulica notavelmente reduzidos e a

fotossíntese, é significativamente influenciada pela seca, pois ocorre a redução da assimilação de dióxido de carbono pelas folhas, da regeneração da ribulose-1,5-bifosfato (RuBP), do conteúdo de clorofila, carotenoides e pigmentos acessórios.

Como relatado por Faraji e Sepehri (2019), a aplicação do NO pode aliviar significativamente os efeitos adversos da seca na germinação de sementes, como também proteger pigmentos fotossintéticos e complexos de coleta de luz em condição de seca, o preservar o conteúdo relativo de água, reduzir radicais livres como H₂O₂, aumentar a atividade de enzimas antioxidantes, o conteúdo de clorofila b e aumentar também o conteúdo relativo de água em plantas estressadas pela seca (CHAVOUSHI *et al.*, 2020) e outros benefícios como aumento taxa líquida de assimilação de dióxido de carbono saturado, da condutância estomática, a concentração de dióxido de carbono subestomático e da taxa de transpiração (LAU *et al.*, 2021).

Há uma ampla gama de moléculas doadoras que podem apresentar mecanismos diferentes de liberação de NO. Os doadores frequentemente utilizados são: nitrato de potássio (KNO₃), nitroprussiato de sódio (SNP), S-nitrosoglutationa (GSNO), S-nitroso-N-acetil-D-penicilamina (SNAP), ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (S-nitroso-MSNO), NONOatos. Essas moléculas ao serem aplicadas exogenamente atuam em diversos genes e vias de transdução de sinal, além disso, atuam em mecanismos enzimáticos e antioxidantes para combater os efeitos adversos do déficit hídrico (LAU *et al.*, 2021).

O ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) trata-se de uma molécula doadora de NO que atua sobre os efeitos adversos em plantas através do aumento da eficácia do sistema antioxidante nas plantas, além de promover maior proteção do sistema radicular das plantas, promover aumento da atividade fotossintética e até atuar nos efeitos deletérios proporcionados por alguns elementos químicos, como o cobre (GOMES *et al.*, 2022).

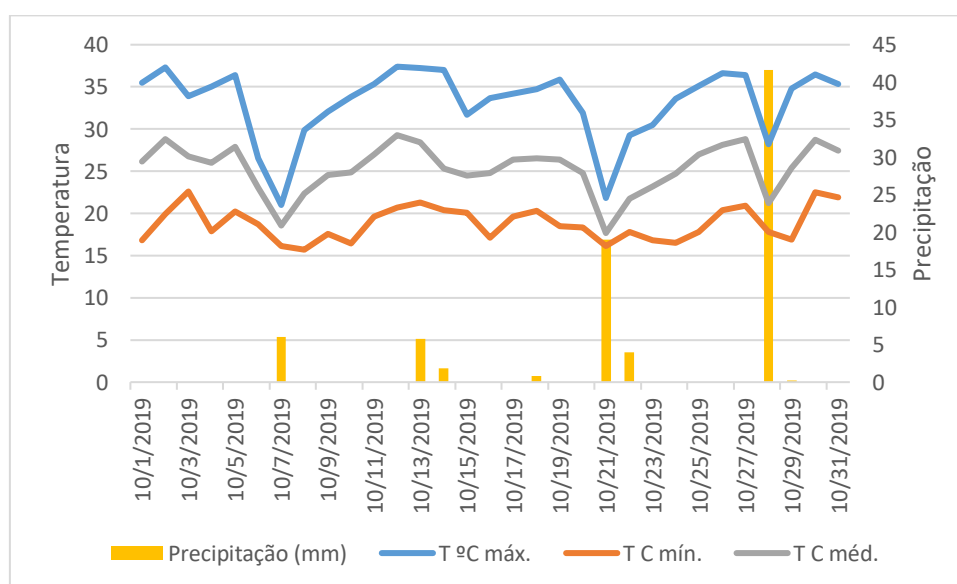
Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar se o tratamento com MSNO pode amenizar os efeitos do déficit hídrico severo na fisiologia de plantas jovens de *K. grandifoliola*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As plantas foram adquiridas junto ao Instituto Brasileiro de Florestas – IBF, localizado em Apucarana, município pertencente a região centro norte do Paraná, Brasil, com 4 meses de idade, produzidas com substrato comercial puro à base de produtos vegetais em tubetes de polipropileno preto, atóxico de 280 mL e todo o experimento foi desenvolvido no viveiro florestal pertencente ao LABRE – Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas da Universidade Estadual de Londrina.

Os dados climáticos foram disponibilizados pelo Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IDR, por todo o período de experimentação, englobando os dados de precipitação (mm) e temperaturas (°C) máxima, média e mínima. Os dados climáticos estão esboçados na figura 1.

Figura 1 - Dados climáticos que compreende o período de experimentação do efeito de dosagens de MSNO em plantas jovens de *K. grandifoliola*.



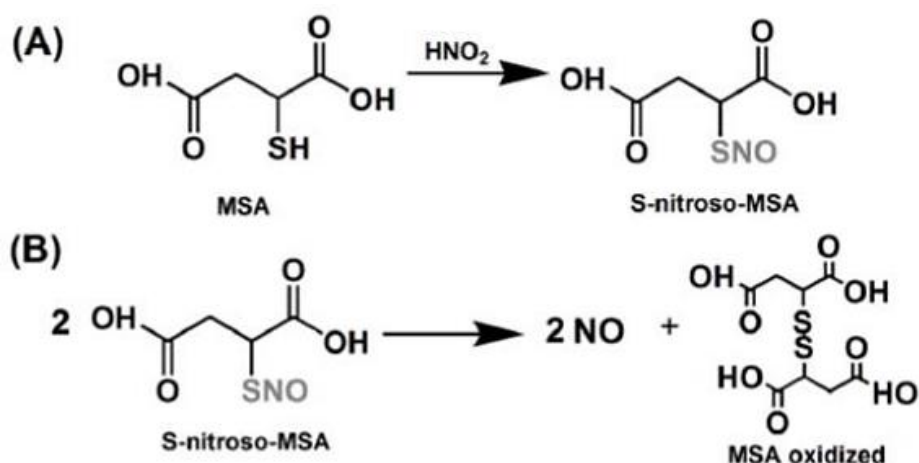
Fonte: Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IDR

O experimento consistiu em 4 tratamentos com 15 repetições distribuídas num delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram na aplicação de diferentes dosagens (0; 0,1; 0,2 e 0,4 mM) de MSNO, doador pertencente à classe dos S-nitrosotiois (RSNOs), é formado quando o MSNO reage com o ácido nitroso (HNO_2) no processo de nitrosação. O reagente foi fornecido pela Prof^a Amedea Barozzi Seabra, do Centro de Ciências Naturais e Humanas pertencente à Universidade Federal

do ABC, São Paulo. O ácido S-nitroso-mercaptosuccínico foi preparado através da nitroação do MSNO livre, adicionando uma quantidade equimolar de NaNO_2 . A solução final foi mantida por 1h, em ambiente refrigerado, protegida da luz. A formação do doador NO ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre (Figura 2) foi confirmada pela aparência das bandas de absorção de grupo S-NO a 336 nm ($\epsilon = 980 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ou a 545 nm ($\epsilon = 18.4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) usando o espectrofotômetro UV-Vis Agilent 8453.

A solução foi diluída nas concentrações desejadas e utilizadas imediatamente após o processo de nitroação, mantendo-se protegida da luz com papel alumínio.

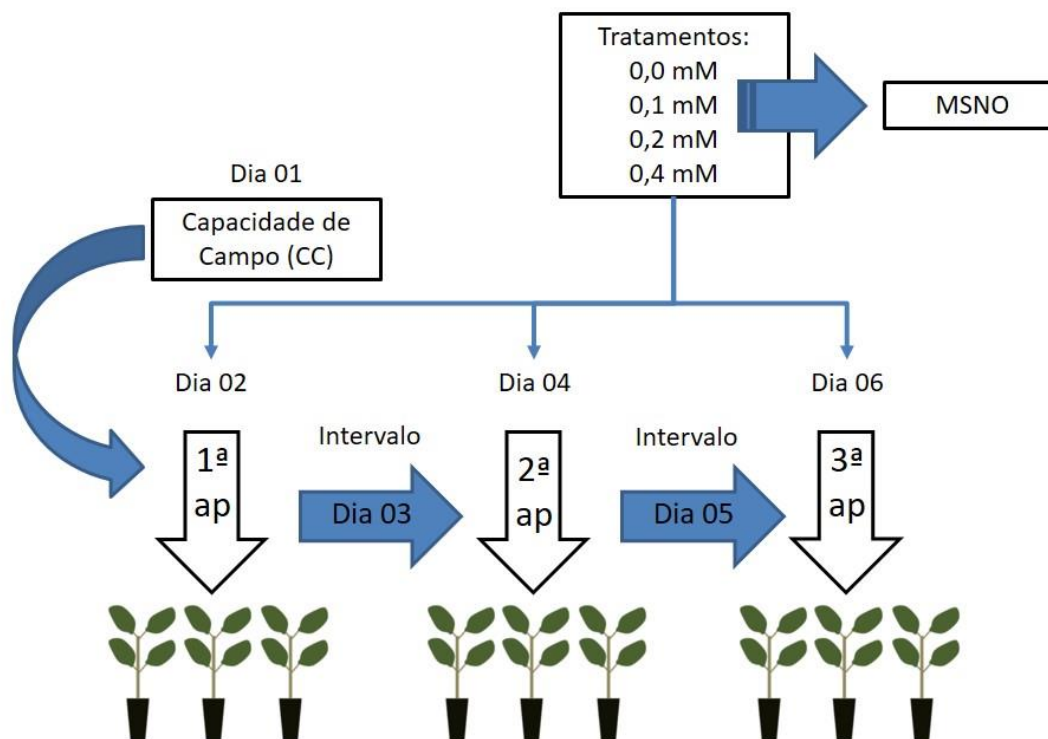
Figura 2 - (A) Nitroação do MSNO formando o S-nitroso-MSA. (B) Decomposição do S-nitroso-MSNO liberando o NO e originando MSNO oxidado.



Fonte: Seabra *et al.* (2017).

As plantas foram elevadas à condição de capacidade de campo e após 24 h as soluções foram aplicadas no substrato das plantas, num regime de três aplicações com intervalos de 24 h entre cada aplicação (Figura 3), com volume de 30 mL de solução em cada planta. Após a última aplicação, as plantas sofreram déficit hídrico severo, não sendo irrigadas até o término da pesquisa. O experimento teve 22 dias de duração e o encerramento foi definido após a percepção da mortalidade acelerada das plantas. A mortalidade foi determinada com a identificação de sintomas visíveis de deterioração. Tais sintomas ocorreram por murchamento das folhas e caule, com aparência enrugada, seguida com amarelecimento das folhas e secagem. A quantificação ocorreu com a identificação da completa descoloração das folhas e morte dos órgãos da planta.

Figura 3 - Representação metodológica da aplicação das soluções de MSNO nas plantas jovens de *Khaya grandifoliola*. Onde: ap = aplicação.



O conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado segundo IRIGOYEN *et al.*, (1992). A coleta foi feita às 8:00h no décimo quinto dia após a instalação do experimento. Porções da folha mais nova completamente expandida foram pesadas para determinação da massa fresca (MF). As amostras foram transferidas e mergulhadas em béqueres contendo 50 ml de água sob temperatura ambiente durante 6 (seis) horas. Decorrido o tempo, as amostras foram retiradas dos béqueres, secas com papel toalha e aferidas suas massas para obtenção da massa túrgida (MT). Para obtenção da massa seca (MS), as porções foliares das plantas, foram transferidas para sacos de papel e secas em estufa a 60°C durante 24 horas. O cálculo do C.R.A. foi feito com base na expressão matemática abaixo:

$$\text{CRA} = (\text{MF} - \text{MS} / \text{MT} - \text{MS}) * 100$$

A análise de trocas gasosas foi feita por meio do analisador portátil de gases por infravermelho (IRGA) modelo LICOR 6400 XT (Biosciences, Lincoln NE, EUA) conectado a uma câmara 6 cm² sob radiação fotossinteticamente ativa saturada (1500 μmol m⁻² s⁻¹) suficiente para saturar a fotossíntese das mudas de *K. grandifoliola*.

As análises de trocas gasosas foram realizadas na folha mais jovem totalmente expandida, no início da manhã de dias ensolarados (7 – 10h) e foram obtidas a taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i), transpiração (E), eficiência no uso da água ($EUA = A/E$) e eficiência instantânea de carboxilação ($k=A/C_i$) das mudas. As trocas gasosas foram avaliadas dois dias após a terceira aplicação das soluções e no final do período de avaliação.

A fluorescência da clorofila a foi avaliada utilizando um fluorômetro OS1p (OptiSciences Inc., Hudson, EUA), realizada no início e final da experimentação, tal como a análise de trocas gasosas, que ocorreram aos dois e dezessete dias após a terceira aplicação de MSNO. As análises ocorreram em folhas jovens totalmente expandidas, na face abaxial, evitando-se a nervura central (SHIMIZU *et al.*, 2006). As plantas foram mantidas no escuro por 15 min, com cliques específicos para a medida da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, a fluorescência máxima (F_m) foi analisada após pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (F_v) ($F_v = F_m - F_0$). As análises foram feitas no período da manhã, entre as 7:00 h – 10:00 h.

As medições da condutância estomática foram realizadas no terço médio da primeira folha totalmente expandida, na face abaxial, no período matutino (entre às 7-10 h), com auxílio de um porômetro SC-1, desenvolvido pela METER Group, cujas medições de condutância estomática são obtidas em trinta segundos, composto uma presilha munida de uma câmara provida de sensores de umidade e de temperatura. Foram realizadas cinco análises no decorrer do período de experimentação a cada três dias.

O teor de prolina foi determinado com base no Protocolo de CARILLO e GIBON (2011), cuja extração é feita com álcool etílico 70%. Foram coletadas amostras frescas de 100 mg de folhas e posteriormente macerado com N_2 líquido, diluído em etanol 70% e os extratos incubados a $96^\circ C$ com ninhidrina em meio ácido e análise espectrofotométrica utilizando-se o leitor de microplacas (Molecular Devices, modelo Spectra Max Plus 384) a 520 nm.

Os dados foram submetidos à análise de variância e se significativo, foi realizado a análise de regressão linear ou não-linear. Os modelos de regressão foram definidos pela significância dos coeficientes, ao qual foi testado pelo teste t ; critérios de AIC e BIC, coeficiente de determinação (R^2) e sentido biológico. As pressuposições de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram testadas por Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software R (R CORE TEAM, 2021) e os pacotes seedreg (SHIMIZU, GUARIZ; GONÇALVES,

2021) e AgroR (SHIMIZU, MARUBAYASHI; GONÇALVES, 2021). Foram utilizadas cinco repetições para o cálculo do CRA e para a determinação do teor de prolina e quinze repetições para a determinação da fluorescência da clorofila, trocas gasosas e condutância estomática.

Com base nos modelos de regressões, foram estimados os pontos de máximo da curva para condutância estomática, considerada como sendo a concentração ótima para que ocorra o ápice da condutância estomática e foi estimada pela função *predict* do software R (R CORE TEAM, 2021), simulando 10.000 observações dentro do intervalo estudado. De forma a facilitar o entendimento dos efeitos dos fatores, ainda que não significativo para um deles, foi representado como gráfico de superfície de resposta. Todas as análises foram realizadas pelo software R (R CORE TEAM, 2021).

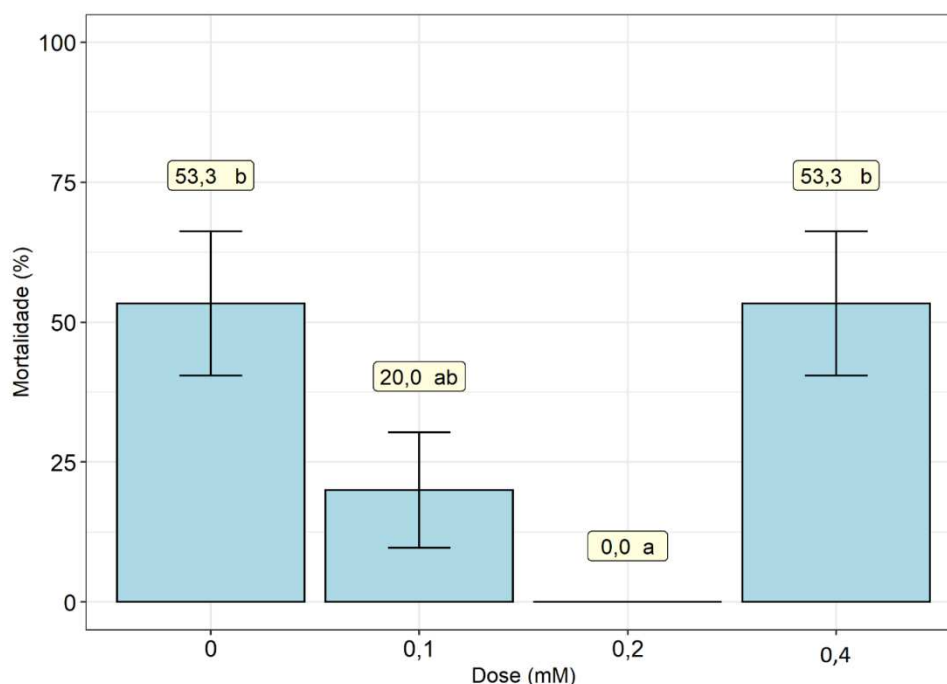
A análise de mortalidade foi realizada por meio de teste de comparação de médias, através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, onde a contagem de plantas mortas foi realizada no final do experimento.

3. RESULTADOS

A concentração de 0,2 mM de MSNO foi promissora para a manutenção do aparato fisiológico das mudas de *K. grandifoliola* bem como para a sobrevivência delas mediante ao déficit hídrico severo imposto, como podemos observar na figura 4.

A mortalidade foi avaliada no final da experimentação, por contagem simples das plantas que não resistiram aos efeitos do déficit hídrico. Percebemos, que as maiores reduções ocorreram nos tratamentos testemunha e para as plantas que receberam a dosagem de 0,4mM de MSNO. Somente o tratamento com dosagem de 0,2 mM de MSNO manteve todas as plantas vivas.

Figura 4 - Efeito das dosagens de MSNO livre no percentual de sobrevivência de plantas jovens de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico severo.



De acordo com a análise de variância (Tabela 1) foi observado efeito significativo ($p < 0,10$) das doses de MSNO nos parâmetros *A1* (fotossíntese líquida realizada no início da experimentação), *A2* (fotossíntese líquida realizada no fim da experimentação), *Ci1* (concentração interna de CO_2), *E1* (transpiração realizada no início do experimento), *E2* (transpiração realizada no fim do experimento), *Ci/Ca1* (razão concentração interna/concentração externa de CO_2), *CRA*, *EUA1* (eficiência no uso da água no início do experimento), *EUA2* (eficiência no uso da água no fim do experimento) e *K2* (eficiência instantânea de carboxilação no final do experimento). As demais variáveis não apresentaram efeito das doses.

Tabela 1 - p-valor do teste F da análise de variância, média geral e coeficiente de variação dos parâmetros avaliados no presente experimento.

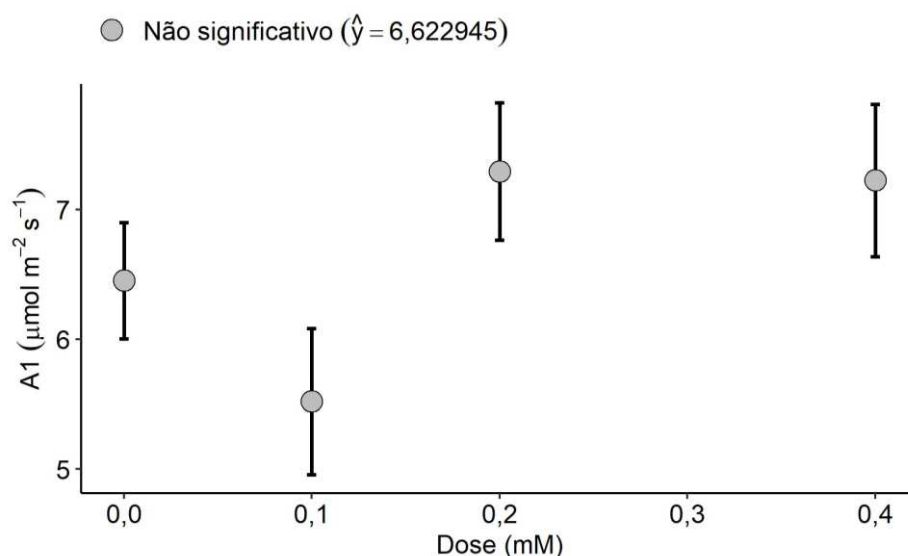
	A1	A2	Ci1	Ci2	E1	E2	Ci/Ca1	Ci/Ca2	CRA
p-valor	0,077	0,004	0,092	0,3235	0,009	0,021	0,074	0,328	0,049
Média	6,62	1,83	222,82	156,43	2,30	0,43	0,57	0,39	0,34
CV (%)	31,25	60,63	16,24	50,32	35,25	58,89	16,29	50,05	28,80
	EUA1	EUA2	EUAi1	EUAi2	K1	K2	Fv/Fm1	Fv/Fm2	
p-valor	0,089	0,061	0,054	0,407	0,365	0,033	0,201	0,505	
Média	3,00	4,44	91,40	158,82	0,32	0,17	0,69	0,67	

CV	20,71	29,92	11,84	23,02	31,17	42,65	10,33	17,2
(%)								

Onde: A1 e A2: $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Ci1 e Ci2: $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; E1 e E2: $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; EUA1 e EUA2: $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$; EUAi1 e EUAi2: $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$; k1 e k2: $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$; CRA: %.

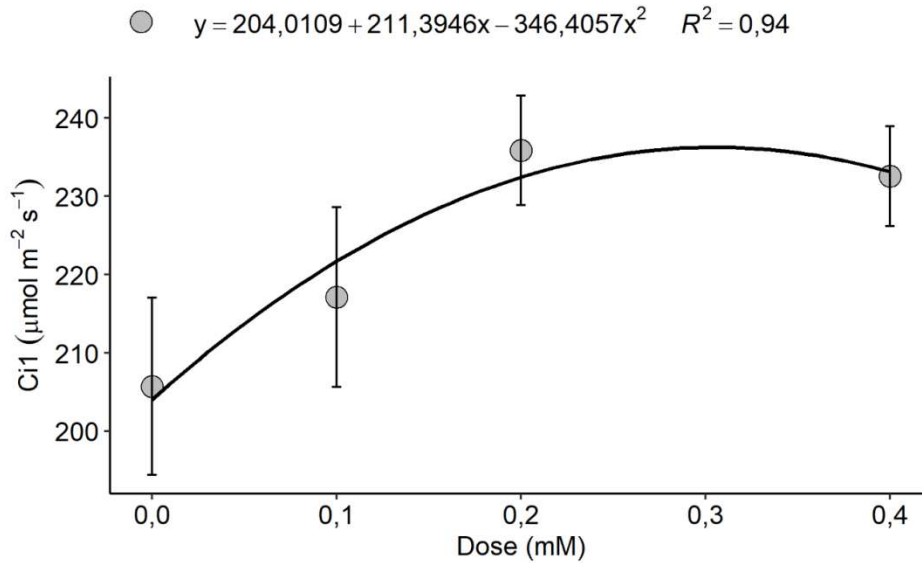
Dessa forma, as variáveis que apresentaram efeito significativo, para a primeira avaliação são mostradas a seguir. Para a variável A1, mesmo tendo efeito significativo das doses, não houve tendência que explicasse o comportamento fisiológico, por esse motivo foi gerado um gráfico de descrição com as médias dos valores observados. A fotossíntese líquida realizada no início do período de experimentação mostra um destaque para as maiores dosagens de MSNO, sobretudo para a dosagem de 0,2 mM (Figura 5).

Figura 5 - Fotossíntese líquida (A1) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função de diferentes doses de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



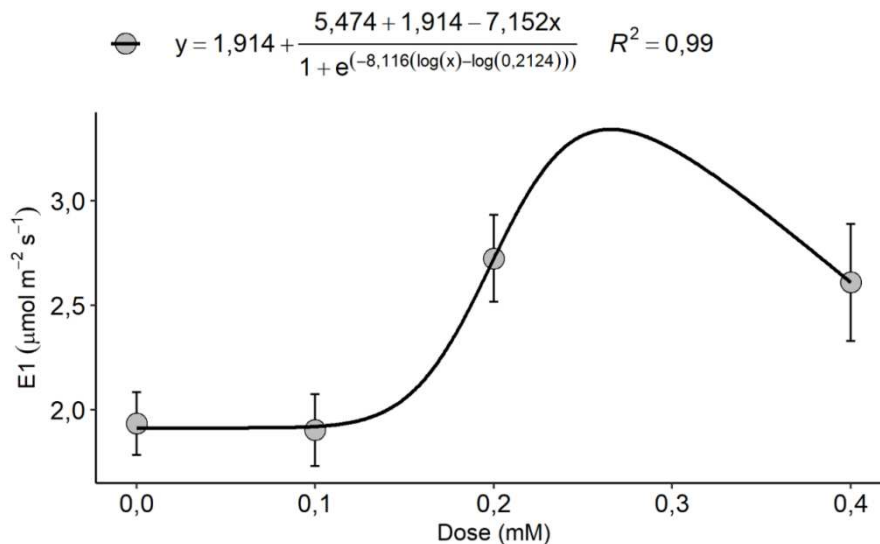
A variável Ci1 apresentou tendência quadrática com máxima resposta na dose estimada de 0,305 mM e resultado em resposta de 236,26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 6). Percebe-se que a maior Ci1 observada no início da experimentação, está atrelada ao aumento verificado na taxa de assimilação de CO_2 (A1), em outras palavras, o aumento na taxa de assimilação de CO_2 (A1) está relacionado à maior concentração de CO_2 constatada no interior das folhas.

Figura 6 - Concentração intercelular de CO_2 (Ci1) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



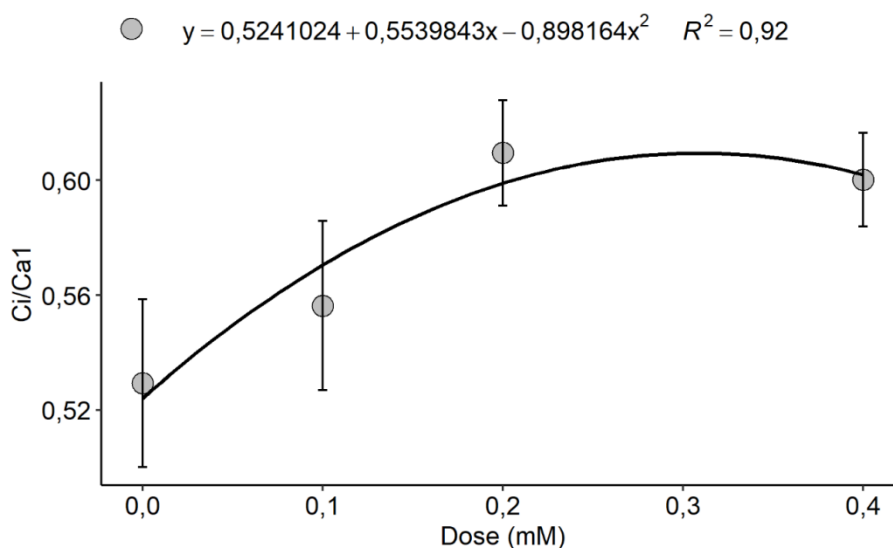
Para E1 (Figura 7), o modelo de Brain-Counses de 5 parâmetros representou melhor o comportamento dos dados, estimando o ponto máximo em 0,27 mM e resposta de 3,34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A transpiração observada para o início do período de experimentação manteve maior incremento conforme aumento da dosagem de MSNO mantendo comportamento similar às variáveis A1 e Ci1.

Figura 7 - Taxa transpiratória (E1) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



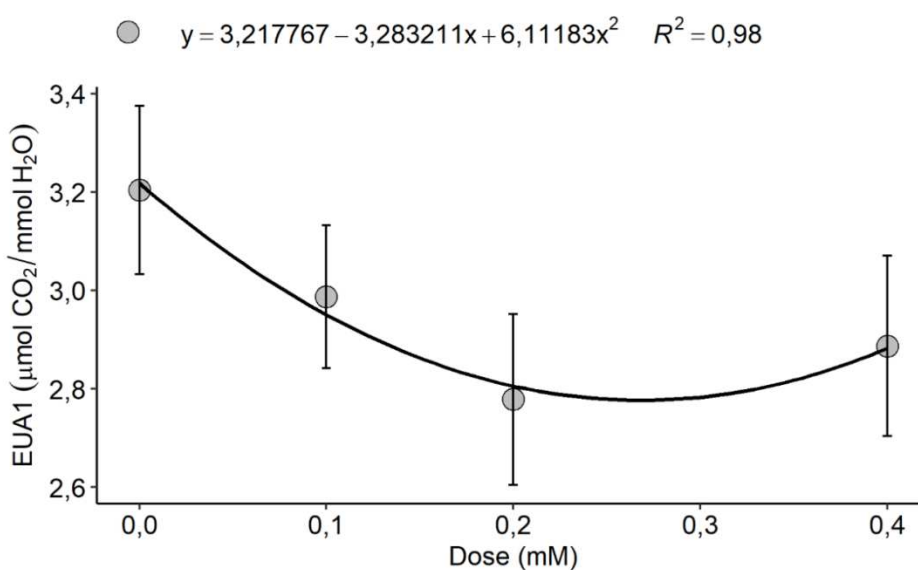
Para razão Ci/Ca1 (Figura 8), a tendência quadrática explicou melhor o comportamento dos dados, obtendo máxima resposta de 0,61 na dose estimada de 0,21 mM. A relação da concentração interna e externa de CO₂ (Ci/Ca1) aumentou conforme aumentou a concentração de MSNO, tendo a concentração de 0,2 mM em evidência.

Figura 8 - Razão Ci/Ca1 de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



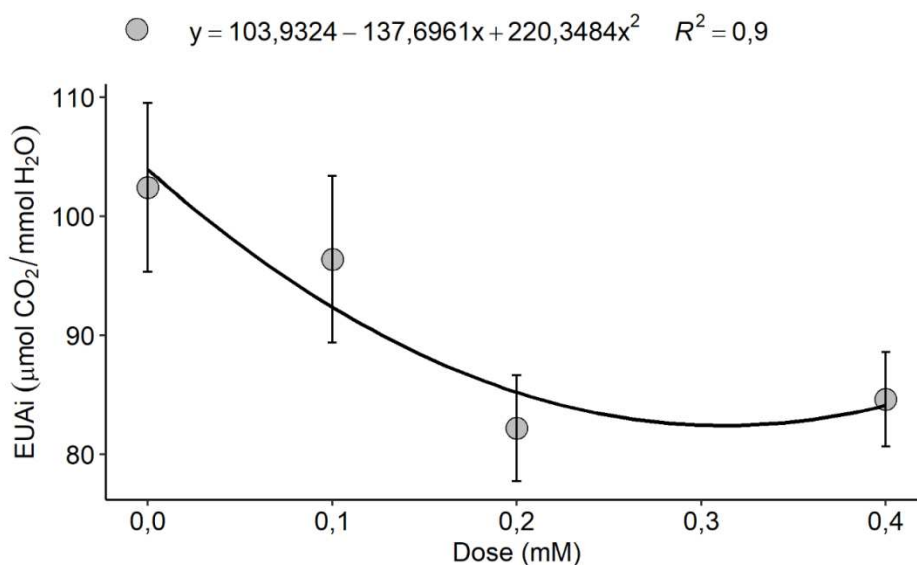
Para EUA1 (Figura 9), a tendência quadrática também se apresentou como o melhor modelo, todavia, houve decréscimo com o aumento da dose, obtendo mínima resposta na dose de 0,27 mM e resposta de 2,78 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$. As diferentes dosagens geraram valores inferiores quando comparados com o tratamento testemunha, concitando ausência de efeito do MSNO para a manutenção do equilíbrio hídrico.

Figura 9 - Eficiência no uso da água (EUA1) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



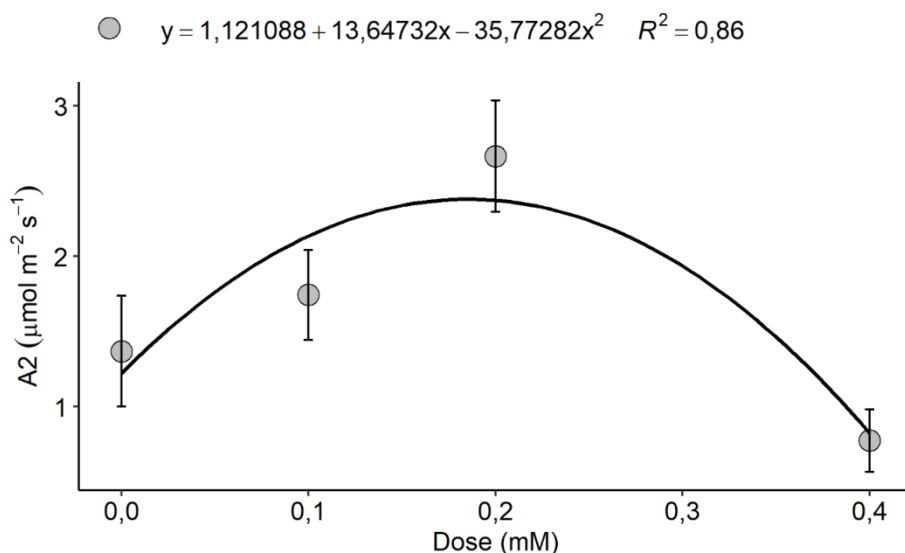
O comportamento quadrático também foi observado para EUAi1 (Figura 10), com resposta de 82,42 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ e 0,23 mM. Embora o comportamento de EUA1 e EUAi1 sigam o mesmo comportamento, os decréscimos observados na EUAi1, vão em desencontro aos reflexos dos aumentos observados na taxa de assimilação de CO_2 (A1) e na transpiração (E1) das plantas de *K. grandifoliola*.

Figura 10 - Eficiência intrínseca no uso da água (EUAi1) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



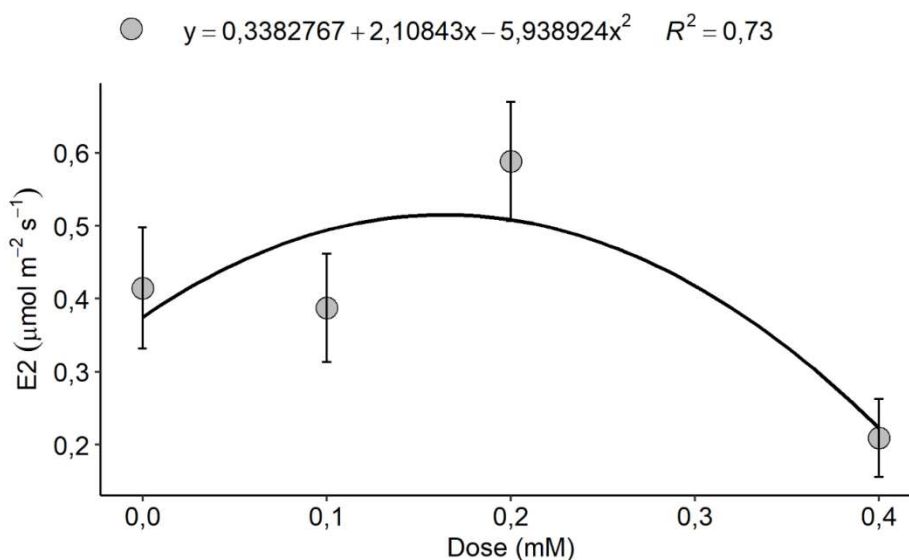
Os resultados da segunda avaliação, ou seja, as leituras que ocorreram no fim do período de experimentação que apresentaram efeito significativo, são mostradas a seguir. A taxa fotossintética (A2) (Figura 11) apresentou tendência quadrática com máxima resposta na dose estimada de 0,19 mM com resposta de 2,42 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A A2 foi significativamente menor nas plantas que receberam a maior dosagem de MSNO, seguida pelo tratamento testemunha, sendo que o maior incremento foi percebido para a dosagem de 0,2 mM.

Figura 11 - Fotossíntese líquida (A2) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



Seguindo o mesmo comportamento, a transpiração E2 (Figura 12), apresentou a tendência quadrática como melhor ajuste, com máxima resposta de 0,53 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na dose estimada de 0,18 mM. A E2 seguiu o mesmo comportamento da A2, mantendo aumento substancial para a dosagem de 0,2 mM.

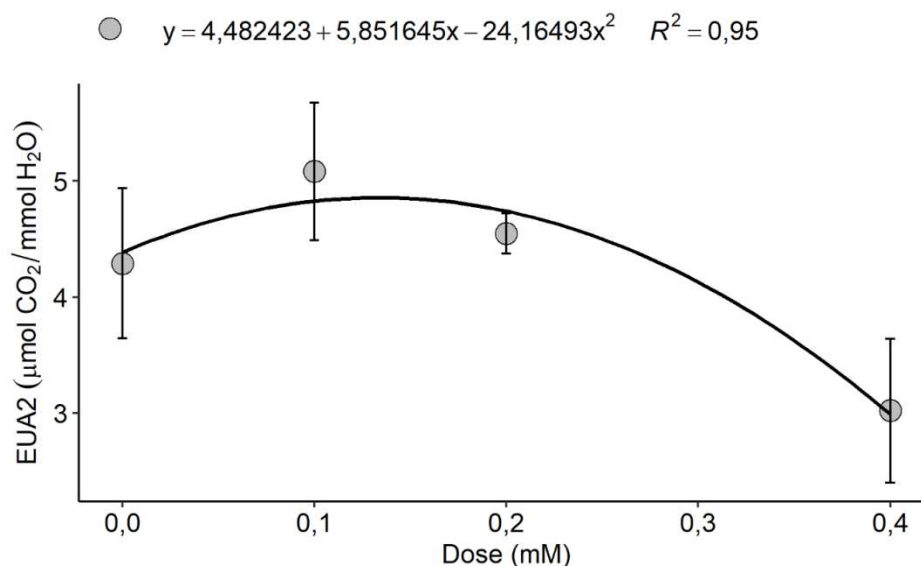
Figura 12 - Taxa transpiratória (E2) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



Para EUA2 (Figura 13), a tendência quadrática também se apresentou como o melhor modelo, contudo houve aumento da resposta com o aumento da dose, obtendo máxima resposta de 4,84 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ na dose de 0,12 mM. Diferentemente ao observado no início da experimentação, EUA2 seguiu o

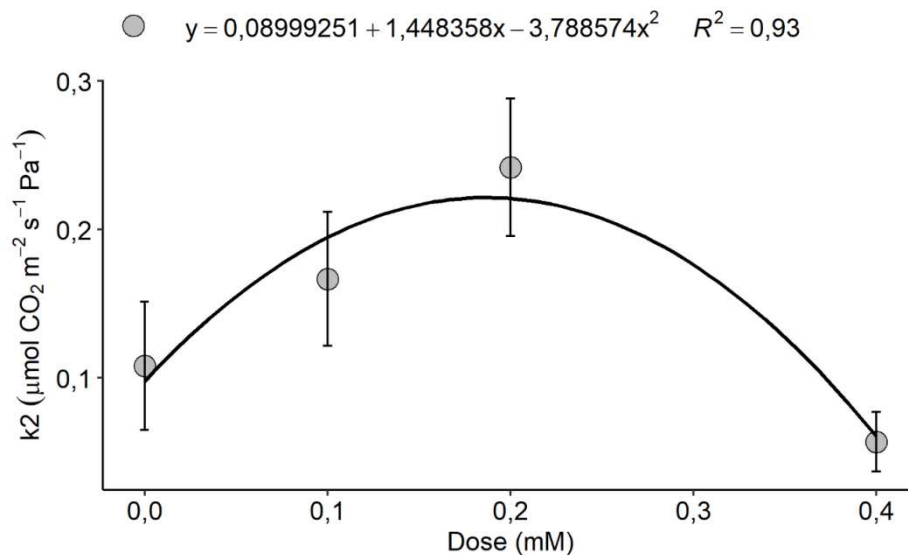
comportamento de A2, sendo justificado pelos valores que se diferenciaram entre as dosagens para as duas variáveis.

Figura 13 - Eficiência no uso da água (EUA2) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



O comportamento quadrático também foi observado para eficiência instantânea de carboxilação k_2 (Figura 14), com máxima resposta de $0,23 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, e dose de $0,19 \text{ mM}$. A eficiência de carboxilação geralmente está correlacionada com a atividade da Rubisco, fato que leva à similaridade de comportamento os valores observados para A2.

Figura 14 - Eficiência instantânea de carboxilação (k_2) de mudas de *K. grandifoliola* sob estresse hídrico em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



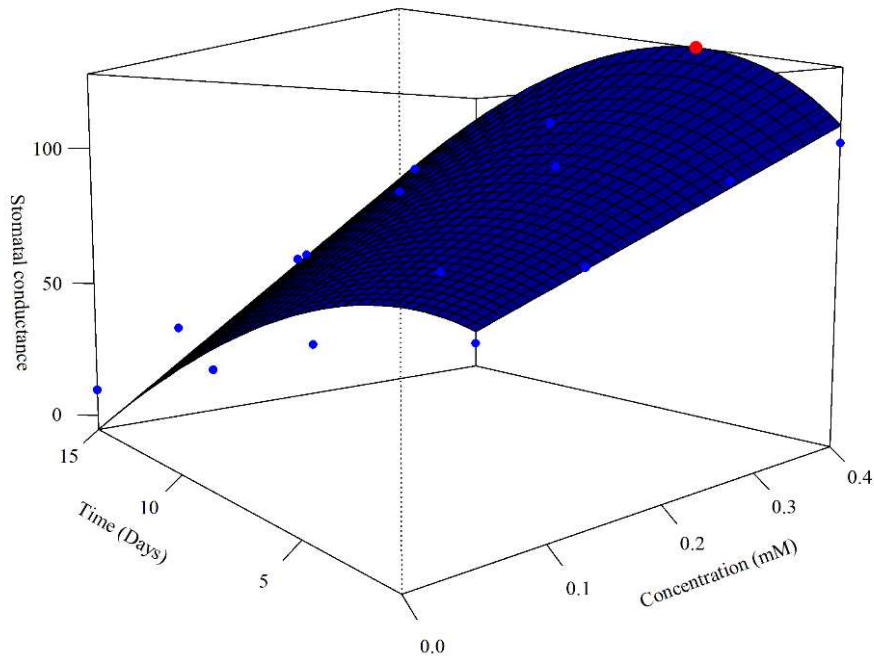
Para a condutância estomática (gs) (Figura 15), foi possível ajustar um modelo de superfície de resposta, cuja variável dependente é a condutância estomática e a variável independente é o tempo e a dose. Assim, o modelo pode ser expresso pela equação ($Z=104.73+321.203d-695.092d^2-7.347t$). O ponto máximo estimado foi de $127,12 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na dose estimada de $0,23 \text{ mM}$ e no tempo de 2 dias após a aplicação, sendo que após esse tempo, houve decréscimo desse parâmetro.

Para condutância estomática (Figura 15) foram observadas respostas semelhantes, em que as plantas que estavam sob ação da solução de $0,2 \text{ mM}$ de MSNO apresentaram médias superiores em relação às plantas sob outras concentrações sob efeito de déficit hídrico.

Figura 15 - Modelo de superfície de resposta para variável condutância estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em função do tempo e da concentração.

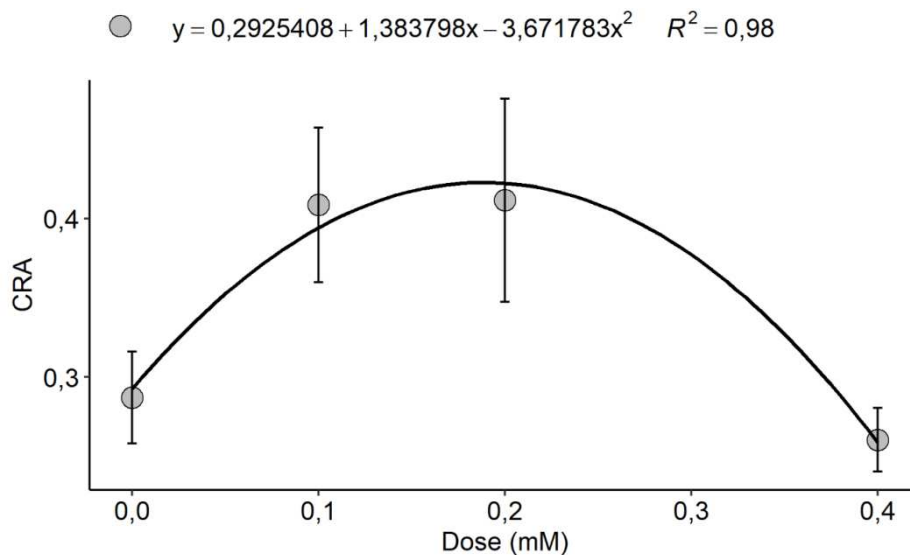
$$Z = 104.73 + 321.203d - 695.092d^2 - 7.347t \quad R^2 = 0.46 \quad (p\text{-value} < 1e-04)$$

• Zmax = 127.12 dmax = 0.23 tmin = 2



Por fim, para CRA, foi observada máxima resposta na dose de 0,19 mM e resposta de 0,42 (Figura 16). O Conteúdo Relativo de Água (CRA) emerge como uma métrica relevante nas investigações das condições hídricas em plantas, sobretudo em cenários de escassez de água, refletindo o teor hídrico presente nas folhas. À medida que o déficit hídrico se acentua, a planta enfrenta uma desidratação do protoplasma, com potenciais impactos adversos nos processos vitais de crescimento celular, destacando a importância do CRA como indicador crucial em estudos científicos. Tal como apontado para outras variáveis, a dosagem de 0,2 mM apresentou maior relevância no que se refere à resistência das plantas ao estresse hídrico severo.

Figura 16 - Conteúdo relativo de água (CRA) em função da dose de MSNO em mM. Barras indicam erro-padrão.



Para a determinação do teor de prolina (Figura 17), a tendência quadrática explicou melhor o comportamento dos dados, como pode ser observado a seguir.

A relação entre o teor de prolina e o CRA pode ser entendida da seguinte maneira: O CRA é uma medida que reflete a quantidade de água presente nas células das plantas em relação à máxima quantidade de água que as células podem conter. À medida que o estresse hídrico aumenta, o CRA tende a diminuir, indicando que as células estão perdendo água devido à transpiração excessiva ou falta de suprimento hídrico adequado. Em situações de escassez de água, as plantas frequentemente aumentam a síntese de prolina que atua como um osmoprotetor, ajudando a manter o equilíbrio osmótico nas células e isso permite que as plantas conservem a água em suas células. Em geral, há uma relação inversa entre o teor de prolina e o CRA. Quando o CRA diminui devido ao déficit hídrico, o teor de prolina tende a aumentar como parte da resposta adaptativa da planta para preservar a hidratação celular. Em outras palavras, à medida que o CRA diminui o teor de prolina geralmente aumenta.

Figura 17 - Teor de prolina em função da dose de MSNO em plantas de *K. grandifoliola* submetidas a déficit hídrico severo.



Como apresentado na figura 4, a dosagem de 0,2 mM de MSNO alcançou sobrevivência de todas as plantas, fornecendo resistência e vitalidade para os indivíduos testados. Percebemos que as plantas do tratamento testemunha tiveram um processo escalonado de sintomas que culminaram com a morte das plantas (figura 18), seguindo de murcha foliar e perda da rigidez foliar, amarelecimento das folhas e consequente redução na atividade fotossintética, enrolamento das folhas, secagem das extremidades das folhas e reduzida capacidade de produção de folhas novas.

Figura 18 - Plantas jovens de *K. grandifoliola* submetidas ao déficit hídrico severo. A planta da esquerda representa o tratamento testemunha e a planta da direita recebeu a dosagem de 0,2 mM de MSNO.



4. DISCUSSÃO

Em virtude do tempo curto de avaliação, ascendido pelo déficit hídrico severo imposto às plantas, não foi realizada a análise de crescimento das plantas de *K. grandifoliola*, como por exemplo, massa seca da parte aérea e raiz. Porém, é notório na literatura que plantas submetidas à deficiência hídrica apresentam menor crescimento quando comparadas àquelas que não são impostas a esse tipo de estresse, mostrando menor incremento de massa seca total das plantas.

Tal constatação é elucidada por Felipe *et al.* (2020), no qual relatam que, quanto menor a disponibilidade de água, menores foram os valores de fotossíntese, condutância estomática e transpiração observados no plantio de mudas de *Eucalyptus dunnii*, além do aumento de mortalidade no plantio e redução do crescimento das plantas na fase inicial de estabelecimento, como também mantém efeito negativo na produção de mudas florestais nativas, como visto em *Amburana cearensis* (ALMEIDA *et al.*, 2014), *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa* (LUZ *et al.*, 2023), *Anadenanthera colubrina* (ARAUJO, 2022), *Erythrina velutina* (FERNANDES *et al.*, 2022), *Luehea divaricata* (DUTRA *et al.*, 2018) e *Handroanthus impetiginosus* (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Pela análise da clorofila *a*, não foi observado diferença estatística para a relação Fv/Fm através das dosagens de MSNO durante o amanhecer em plantas de *K. grandifoliola*, sendo assim concluímos que a eficiência fotoquímica máxima do PSII (Fv/Fm) não foi afetada pelo estresse hídrico.

O NO atuou de maneira positiva nas plantas de *K. grandifoliola* em seus diversos processos fisiológicos sob condições de déficit hídrico. O NO é produzido nas mitocôndrias, cloroplastos e nos peroxissomos, sendo uma molécula lipofílica e pequena como o etileno, capaz de mover-se facilmente entre as células. No entanto, dependendo do nível de concentração, o NO pode ser considerado prejudicial às plantas ou atuar de forma benéfica com efeito antioxidante. A aplicação de NO exógeno pode mitigar a diminuição da capacidade fotossintética em plantas, causada por uma variedade de estresses abióticos, como no caso o estresse hídrico. A grande capacidade do NO de interagir e modificar diferentes alvos dentro das células vegetais deve estar relacionado aos vários papéis desse radical livre (AMÂNCIO *et al.*, 2022).

Conforme descrito por Salgado *et al.* (2017), por apresentar um elétron desemparelhado, o NO pertence à família das espécies reativas de nitrogênio (RNS),

podendo interagir com outras moléculas reativas como as espécies reativas de oxigênio (EROs), eliminando-as diretamente da célula. O estresse oxidativo causado pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) é uma das respostas que as plantas apresentam frente a esses estresses ambientais. Quando as EROs são produzidas e acumuladas, como por exemplo o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a planta sofre desequilíbrio redox, gerando danos como redução da eficiência do fotossistema II, com conseqüente queda na assimilação de CO_2 e na formação de biomassa, acarretando à morte celular da planta.

De posse dos resultados das análises realizadas no início da experimentação, após o fornecimento das soluções com MSNO percebemos os benefícios alcançados advindos do fornecimento de NO via doador, frente aos efeitos da condição estressante imposta às plantas.

A transpiração das plantas de *K. grandifoliola* aumentou de forma substancial com a elevação da dosagem fornecida, registrando-se maiores valores de transpiração para a concentração de 0,2 mM (Figura 7), notando-se voluptuoso incremento quando comparado com o tratamento testemunha. Percebemos que a menor transpiração das plantas correlacionou-se com os maiores resultados para a EUA_{i1} , mostrando a capacidade de reduzir a transpiração de suas folhas em resposta ao estresse hídrico, fechando parcialmente seus estômatos para limitar a perda de água, preservando assim, a água disponível no solo.

Conforme figura 6, percebemos que houve diferença significativa na concentração interna de CO_2 (C_{i1}) entre as soluções praticadas. A C_{i1} no mesófilo foliar é reduzida pelo fechamento estomático, com conseqüente diminuição na taxa de assimilação de dióxido de carbono, neste sentido, a maior C_{i1} observada para a concentração de 0,2 mM, está atrelada ao aumento na taxa de assimilação de CO_2 registrado para essa mesma concentração.

A relação da concentração interna e externa de CO_2 obtida no início da experimentação (C_i/C_a1) foi afetada pelas diferentes dosagens de MSNO no regime severo de restrição hídrica. Através dessa relação pode-se constatar a eficiência ou ineficiência das reações metabólicas de fixação de carbono, sendo que quanto mais se aproximar de 1,0, menos eficiente é esse processo, em razão de problemas na maquinaria fotossintética, sendo possível inferir se está ocorrendo limitação difusional ou bioquímica. O aumento da relação C_i/C_a com o aumento da concentração de MSNO indica que em tempo curto de ação, não foi capaz de manter a eficiência do seu aparato

bioquímico a fim de evitar a redução de sua assimilação de carbono (GUERRA *et al.*, 2017). Tal comportamento mostra-se correlacionado com os resultados percebidos para EUA1.

Assim, podemos afirmar que os valores em Ci/Ca observados sob as diferentes concentrações devem-se à minimização dos efeitos do estresse hídrico sobre as plantas e a uma maior eficiência das reações de fixação de CO₂. Tal como observado neste trabalho, Morales *et al.* (2015) verificou que a razão Ci/Ca apresentou resultados semelhantes ao CO₂ intercelular, reduzindo seus valores com o aumento da intensidade do estresse em plantas de tomateiro submetidas ao estresse hídrico. Ainda segundo o autor, a redução na atividade fotossintética pela menor assimilação do CO₂ e a senescência das folhas são indicadores do efeito do déficit hídrico sobre uma cultura, ao que, deve-se à menor disponibilidade de CO₂ no interior da folha, causada pelo fechamento dos estômatos em resposta ao decréscimo na disponibilidade de água no solo, como também o fechamento dos estômatos, a alteração na síntese de clorofila, alterações funcionais e estruturais em cloroplastos e distúrbios nos processos de acumulação, transporte e distribuição de assimilados.

Já Felipe *et al.* (2020) aponta que essas diferenças nos valores de Ci/Ca, é possível inferir que durante o período de avaliação a redução da fotossíntese não foi somente estomática, havendo danos ao aparato fotossintético.

Para EUA1 (Figura 9), o uso de formulações de MSNO apresentou resultados não satisfatórios, entregando valores inferiores aos comparados com o tratamento testemunha, não induzindo melhora para a manutenção do equilíbrio hídrico. Afinal, sabe-se que plantas com alta eficiência no uso da água têm uma melhor capacidade de manter a fotossíntese, o que, por sua vez, afeta positivamente seu desenvolvimento inicial, mesmo em condições de disponibilidade limitada de água.

Para Ferraz *et al.* (2012), a relação entre a fotossíntese e a transpiração indica a eficiência instantânea no uso de água (EUA), em que os valores observados relacionam a quantidade de carbono que a planta fixa, por cada unidade de água que perde, assim, os decréscimos observados na EUA1, são reflexos dos aumentos observados na taxa de assimilação de CO₂ e na transpiração das plantas de *K. grandifoliola*. Ainda como relatado pelos autores, as trocas gasosas são influenciadas pelas condições climáticas e as diminuições registradas na EUA1 podem estar atreladas a variações na radiação solar acumulada e na temperatura do ar, bem como na redução da umidade relativa do ar.

Tal como ocorreu com a EUA1, a diminuição nos valores da eficiência no uso da água intrínseca (EUA_{i1}) (Figura 10) para a dosagem de 0,2 mM é resultado da relação não linear entre a assimilação de carbono (A) e a condutância estomática (g_s), isso indica que a perda de água ocorre antes e mais intensamente do que a inibição da fotossíntese, evidenciando que mesmo com os estômatos abertos e havendo perda de água através da transpiração, a planta consegue fixar carbono para produção de fotoassimilados.

Notadamente, em análise dos resultados obtidos no fim do período de experimentação, percebemos aumento da fotossíntese (A_2) sob efeito da dosagem de 0,2 mM, mantendo as taxas elevadas mesmo em condições de estresse hídrico severo. A redução da assimilação de CO₂ em plantas em condições de deficiência hídrica ocorre, entre outros fatores, devido ao fechamento estomático, fato apontado por Leite *et al.* (2019), porém, o uso de MSNO 0,2 mM atenuou os efeitos negativos do déficit hídrico na assimilação de CO₂, isso pode ocorrer porque nesta dosagem o doador de NO foi capaz de estimular o transporte de elétrons durante a fase fotoquímica da fotossíntese (PROCHÁZKOVÁ *et al.*, 2013; ANTONIOU *et al.*, 2020). Além disso, o fornecimento exógeno de NO promove incrementos na atividade da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase - RuBisCO (SIDDIQUI *et al.*, 2020), contribuindo para a melhoria da assimilação de CO₂.

Para Dalastra *et al.* (2014), o aumento na taxa de assimilação de CO₂ (A) está relacionado à maior concentração de CO₂ constatada no interior das folhas, o que pode decorrer também do fechamento estomático, em resposta aos estresses abióticos. A concentração interna de CO₂ (C_i) no mesófilo foliar é reduzida pelo fechamento estomático, com conseqüente diminuição na taxa de assimilação de dióxido de carbono, neste sentido, a maior C_i observada para a concentração de 0,2 mM, está atrelada ao aumento verificado na taxa de assimilação de CO₂ registrado para a mesma concentração.

Algumas características fisiológicas das plantas são alteradas quando a planta se encontra em déficit hídrico, como a atividade fotossintética, por isso foi verificado taxas fotossintéticas inexpressivas para as demais concentrações quando comparadas com a concentração de melhores índices (0,2 mM), fato que pode ser justificado pela redução do funcionamento estomático, o que afeta a assimilação do carbono atmosférico e sua conseqüente fixação pela enzima Rubisco. Em face ao exposto, diversas pesquisas mostram que a manipulação dos níveis endógenos de NO, principalmente através de doadores exógenos têm demonstrado um imenso efeito na

tolerância das plantas em vários estresses, inclusive no déficit hídrico (AMÂNCIO *et al.*, 2022).

O efeito do doador MSNO, manteve as maiores taxas de transpiração (Figura 12) em torno da concentração de 0,2mM, estando em consonância com as variáveis fotossíntese líquida, condutância estomática e conteúdo relativo de água. A transpiração foliar foi reduzida nas demais concentrações, assim, com intuito de evitar à desidratação da planta, ocorreu o fechamento estomático para reduzir a perda de água, desta maneira reduzindo conseqüentemente a absorção de CO₂ e a fotossíntese líquida, resultando num deficiente emparelhamento fisiológico, quando comparado ao alcançado pela concentração de 0,2 mM, mostrando respostas semelhantes nas plantas sob déficit hídrico em função das concentrações de MSNO.

De forma semelhante ao encontrado nesse estudo, Leite *et al.* (2019) mostraram que os efeitos negativos do déficit hídrico em plantas de *Physalis angulata* são dependentes da concentração exógena de óxido nítrico, no qual a espécie apresentou desempenho negativo quando cultivada em condições de déficit hídrico, porém, baixas concentrações micromolares de nitroprussiato de sódio foram capazes de atenuar esses efeitos, acarretando melhores resultados com 25 µm.

Publicações apontadas por Aguiar *et al.* (2015), têm demonstraram que o NO exógeno aumenta a tolerância à seca. Esses resultados sugerem que a aplicação exógena de NO pode dar às plantas uma maior tolerância a condições de estresse hídrico, favorecendo o aumento do crescimento da muda, mantendo um alto teor de água e diminuindo o dano oxidativo pela produção de enzimas antioxidantes. Porém, altas doses de NO (como 0,4 mM MSNO) podem aumentar o efeito do estresse, resultado de uma superprodução de ERO_s e uma ineficiente capacidade de controlar as espécies que reagem ao oxigênio através da expressão de sistemas antioxidantes.

Os dados de EUA2 mostraram comportamento diferente quando comparado com a análise realizada no início da experimentação. Conforme a Figura 13, verifica-se que o uso eficiente da água em plantas estressadas pela carência hídrica, foi favorecido com a concentração de 0,2 mM, corroborando com os dados observados na taxa de transpiração, que alavancou incremento dessa variável nas plantas sob efeito dessa concentração.

Essa retomada dos valores na eficiência do uso da água pelo incremento de óxido nítrico no tecido da planta pode ser vista como melhoria do desempenho fotossintético, considerando que houve maior abertura estomática, bem

como, maior perda de água por transpiração para permitir a difusão de CO₂ do meio para o mesófilo foliar. Além disso, conforme elucidado por Fahad *et al.* (2015), a ação do NO como agente sinalizador pode promover o uso eficiente de água nas plantas condicionadas ao estresse hídrico através de sinais para o aumento de ABA, culminando na regulação das células guardas a fim de reduzir a perda de água em função do estresse, ajustando o emparelhamento fotossintético ao CO₂ fixado e conseqüentemente na síntese orgânica.

Conforme apresentado por Jacinto Junior *et al.* (2019), a eficiência no uso da água (EUA) e a eficiência no uso da água intrínseca (EUA_i) são índices que permitem definir como os estômatos estão sendo controlados durante o processo metabólico, dessa forma, essas variáveis têm apresentado uma grande importância na categorização de plantas tolerantes à seca, quando estas são submetidas a condições de escassez e reidratação. Ainda segundo os autores, em situações de escassez hídrica, plantas que conseguem perceber os estímulos ambientais e convergem rapidamente esforços para reduzir a perda de água por meio dos seus estômatos, mantendo-as assim pelo menos temporariamente, apresentam bom comportamento fisiológico ao manterem taxas fotossintéticas razoáveis, sendo assim, a EUA é uma variável importante que descreve esse comportamento.

A eficiência no uso da água (EUA) relaciona o somatório de biomassa acumulada pela unidade de água utilizada. Fisiologicamente isso pode ser definido como a relação entre a taxa de carbono assimilada pela planta através da fotossíntese (*A*) e a quantidade de água perdida através da transpiração (*E*). Dessa forma, a EUA está associada ao conjunto de mecanismos de resiliência adotadas pelas plantas em condições de seca, assim percebemos que a redução de EUA₁ (Figura 9) para a concentração de 0,2mM indica que o estresse foi administrado com aplicabilidade para esta concentração, promovendo uma boa assimilação de gás carbônico com menor perda de água, denotando maior tolerância ao estresse hídrico.

A percepção dos menores efeitos do estresse para a dosagem de 0,2 mM com elevação verificada para a segunda análise (Figura 13), como para as demais concentrações de 0 e 0,1 mM, apresenta maior tolerância ao estresse hídrico e, portanto, melhor capacidade de tolerância à seca em relação às demais concentrações, indicando que para a concentração de 0,2 mM, as plantas mantiveram os processos fisiológicos e metabólicos essenciais para o seu desenvolvimento na condição de estresse, favorecendo a manutenção da sua produtividade.

Embora os efeitos da restrição hídrica tenham afetado grandemente a transpiração, tal como observado na análise do final da experimentação (Figura 12), o incremento na transpiração (E2) foi favorecido pela dosagem de 0,2 mM, sendo afetada positivamente pela aplicação de MSNO, com aumento desta variável seguido do aumento de outras variáveis mencionadas, tal como visto para A2 e EUA2, por exemplo. Diante disto, a maior taxa de transpiração observada pela dosagem de 0,2 mM explica o aumento na condutância estomática, concentração interna de CO₂ e, conseqüentemente, a maior taxa de assimilação de CO₂, minimizando os dados causados pelo estresse através da continuidade do desenvolvimento da planta. Resultados semelhantes foram observados por Silveira *et al.* (2016), em que o NO melhorou a performance fotossintética da planta, o que culminou em uma maior taxa de transpiração pela abertura estomática permitindo a difusão de CO₂ para o mesófilo foliar e, conseqüentemente maior taxa fotossintética.

Já a eficiência instantânea de carboxilação está diretamente relacionada com a taxa de assimilação de CO₂ e sua concentração interna na folha, onde valores superiores podem ser associados com o aumento na condutância estomática, o que é facilmente perceptível através da figura 14, ocorrido em função da disponibilidade de ATP, NADPH e do substrato para a Rubisco (SILVA *et al.*, 2015). Dessa forma, podemos associar os maiores valores da k_2 (figura 14), encontrados nas plantas sob adição de solução de 0,2 mM, ao fato de as mesmas estarem sob condições hídricas adequadas, contribuindo para a plena atividade do aparato fotossintético e atividade da enzima Rubisco. Neste sentido, o aumento verificado na k_2 , deve-se aos incrementos registrados na concentração interna de dióxido de carbono e aos ganhos na taxa de assimilação de CO₂.

A razão A/C_i é um importante indicador que reflete a eficiência instantânea de carboxilação, em que retrata a fotossíntese líquida da planta a partir da concentração interna de CO₂, em outras palavras, quando não ocorre uma limitação difusiva por via estomática, o aumento de A/C_i significa aumento da eficiência fotossintética da planta e conseqüente aumento na produção de fotoassimilados (AMARAL *et al.*, 2021). A eficiência instantânea de carboxilação obteve comportamento semelhante com A2, com maiores eficiências sob ação da solução de 0,2mM em plantas de *K. grandifoliola* sob deficiência hídrica severa.

Resultado interessante foi observado por Campos *et al.* (2019) em seu estudo com plântulas de alface submetidas a um curto período de estresse salino. Eles observaram que os tratamentos adicionados de nitroprussiato de sódio conseguiram

modular os danos causados pelo estresse salino, resultando em maiores níveis de concentração interna de dióxido de carbono, bem como uma maior condutância estomática, taxa transpiratória e maior atividade da Rubisco, assim, os efeitos desse doador de NO foram observados como parte de uma estratégia para manter o crescimento das plantas sob condições de estresse, admitindo-se que a aplicação de NO, dependendo da concentração, pode gerar inúmeros ganhos relacionados aos processos fisiológicos no tecido vegetal.

As variáveis de condutância estomática e transpiração são correlacionadas pelo simples fato de que à medida que a planta abre seus estômatos para fixação do CO₂ e realização da fotossíntese, temos a transpiração (perda de água) como consequência desse processo (BARBOZA; TEIXEIRA FILHO, 2017). Os resultados apresentados na presente pesquisa, indicam que a medida que houve imposição do déficit hídrico, as plantas fecharam seus estômatos, e como resposta, houve também redução da taxa transpiratória, no entanto, é perceptível que as plantas sob ação da solução de 0,2 mM, mesmo sob condições de déficit, conseguiram manter seus estômatos abertos para fixação de CO₂, refletindo positivamente nos valores de fotossíntese (Figura 15).

Tal comportamento ocorreu porque a presença de NO no tecido vegetal, provavelmente, inibe a síntese de ABA ao promover a nitrosilação e inativar a cinase OST1, sendo essa proteína fundamental para regulação dos estômatos, o que permitiria maior fornecimento de CO₂ no mesofilo foliar para ocorrência da fotossíntese e dessa forma manter ativos os processos voltados ao crescimento das plantas (WANG *et al.*, 2015).

Segundo Amaral *et al.* (2021) o ambiente que proporcionar maiores valores de condutância estomática também será o responsável para maior transpiração devido à alta correlação positiva entre esses parâmetros. Essas alterações na abertura e fechamento dos estômatos são muito importantes, pois as plantas que são capazes de exercerem esse controle ao serem expostas a restrição hídrica podem ser mais tolerantes/resistentes nessas condições, pois podem controlar a falta de água e a taxa de assimilação de CO₂ necessária para a realização da fotossíntese (PACHECO *et al.*, 2021).

Outra correlação importante é com a fotossíntese líquida, visto que, conforme apontado por Jacinto Junior *et al.* (2019) com a normalização da condutância estomática favorecida pelo fornecimento de 0,2 mM de MSNO, a tendência é que as plantas aumentem a produção de proteínas que atuam diretamente na fotossíntese, como a Rubisco ativase e a proteína D1, auxiliando na transferência de elétrons durante a cadeia

transportadora de elétrons por um aumento na eficiência do fotossistema II. Ainda segundo os autores a redução da condutância estomática percebida para os outros tratamentos, foi influenciada pelo fechamento dos estômatos para evitar a perda de água o que levou a uma diminuição na concentração interna de CO₂ e na transpiração que, como consequência, limitou a quantidade de gás carbônico CO₂ requerida para a fotossíntese. Esse parâmetro é importante, pois permite identificar se a fotossíntese está sendo limitada por meio de restrições estomáticas ou por alterações quanto à morfologia dos estômatos e do mesófilo que podem atingir, inclusive, os cloroplastos. Essas alterações denotam que há pouca disponibilidade de gás carbônico para o processo fotossintético, havendo limitação bioquímica da fotossíntese.

Tal como observamos, com base nos resultados apresentados por Bakir *et al.* (2022), os tratamentos com NO (200 µm de nitroprussiato de sódio) para diminuir o efeito negativo do déficit hídrico apresentaram resultados positivos nos parâmetros morfológicos em damasco (*Prunus armeniaca* var. Milord), com melhora expressiva nos parâmetros de crescimento, como altura, diâmetro, peso fresco e peso seco de raiz e parte aérea e em parâmetros fisiológicos como condutância estomática, teor de clorofila total e conteúdo relativo de água.

Leite *et al.* (2022) não observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos (nitroprussiato de sódio (SNP) a 0, 25 e 50 µM) para concentração interna de carbono em plantas de *Physalis peruviana* expostas ao déficit hídrico, no entanto, o pré-tratamento com SNP influenciou significativamente a assimilação de CO₂, condutância estomática e transpiração. Segundo os autores, a imposição do déficit hídrico reduziu severamente a assimilação de CO₂ em plantas de *P. peruviana*, causando uma redução de 64,4% em relação às plantas bem hidratadas, apesar disso, o pré-tratamento com ambas as doses de SNP foi capaz de manter os níveis de assimilação estatisticamente iguais aos de plantas bem hidratadas.

O tratamento com MSNO 0,2 mM foi o mais eficaz na manutenção de potencial hídrico menos negativo, indicando o efeito *priming* da substância utilizada nesta concentração, com efeito atenuante observado em plantas, evidenciado pela manutenção do turgor e da cor das folhas, promover o ajuste osmótico e mantendo os demais processos fisiológicos, como as trocas gasosas, estáveis. Em plantas não sensibilizadas por MSNO 0,2 mM, a deficiência hídrica resultou em murcha, abscisão foliar e mortalidade, evidenciando os efeitos negativos característicos desse estresse (Figura 18).

O conteúdo relativo de água (CRA) é uma das opções de verificar o estado hídrico dos tecidos vegetais, sendo assim, utilizado para estimar o total de água no interior da folha, podendo ainda, determinar se a planta possui capacidade de tolerar à seca (SILVA *et al.*, 2018).

Naturalmente, em condição de estresse a planta irá apresentar redução na quantidade de água nas células, porém é interessante estudar práticas que amenizem os efeitos resultantes das condições adversas permitindo que a planta continue com suas atividades, mesmo que de forma limitada (TAIZ *et al.*, 2017), assim, o CRA variou com as dosagens de MSNO, com valores preferíveis para a dosagem de 0,2 mM (Figura 16). De forma contrastante, Leite *et al.*, (2019) relatam que o CRA reduziu quando plantas de *Physalis angulata* foram submetidas ao déficit hídrico e a aplicação exógena de NO com nitroprussiato de sódio não promoveu a sua atenuação.

O estado hídrico da planta estabelece relação direta entre aspectos fisiológicos da mesma e sua capacidade de desenvolvimento e crescimento e o déficit hídrico prolongado induz redução do conteúdo de água no mesofilo (SILVA *et al.*, 2018). No entanto, os resultados revelam que a dosagem de 0,2 mM tem a capacidade de promover o ajuste osmótico a fim de manter água nos tecidos vegetais, possibilitando a planta tolerar o nível de deficiência hídrica imposto.

Este experimento demonstrou que a diminuição do potencial hídrico da folha aumentou os níveis de prolina (Figura 17) devido o mesmo ter a função de ajustador osmótico em plantas sob desidratação e assim, os níveis de prolina foram mais baixos na presença de 0,2 mM de MSNO, sendo inversamente proporcional ao efeito sobre o CRA. De forma geral, a presença de óxido nítrico e prolina podem ocorrer em paralelo ou de forma colaborativa, onde o óxido nítrico atua como sinalizador do estresse e a prolina como um regulador osmótico frente ao estresse hídrico (SU *et al.*, 2018).

A prolina, além de sua função como composto antioxidante, desempenha um papel significativo como osmorregulador em plantas e atua de várias maneiras para proteger as plantas contra os danos causados pelas EROs e para facilitar a adaptação em condições de déficit hídrico. A acumulação desse aminoácido desempenha um papel fundamental na manutenção do turgor celular em situações de escassez de água.

A prolina é armazenada tanto no vacúolo quanto no citosol, promovendo assim um equilíbrio osmótico crucial entre a célula e seu ambiente circundante. Esse equilíbrio osmótico é essencial para assegurar a retenção de água nas células vegetais, uma vez que a prolina reduz o potencial hídrico da célula. Em suma, a

prolina atua como um osmólito que contribui significativamente para manter o turgor celular, tanto pela acumulação nos vacúolos quanto no citosol, proporcionando um equilíbrio osmótico vital. Isso não apenas ajuda a proteger a planta contra estresses, mas também facilita sua adaptação em condições desfavoráveis, como déficit hídrico (TAIZ *et al.*, ZEIGER, 2017; MEENA *et al.*, 2019).

Além de seu papel essencial no ajuste osmótico, a prolina desempenha uma função crucial como osmoprotetora. Ela atua como um escudo protetor para as células vegetais, mitigando os efeitos prejudiciais de subprodutos tóxicos gerados sob condições de estresse. Além disso, a prolina fornece recursos valiosos em forma de carbono e nitrogênio às células, que são utilizados após a superação do período de estresse. Outra função importante da prolina é sua contribuição para a regulação do pH citoplasmático. Ela desempenha um papel ativo na manutenção do equilíbrio ácido-base nas células vegetais. Esses osmólitos, como a prolina, podem operar por meio de uma variedade de mecanismos, tanto estimulando a fisiologia da planta quanto melhorando o sistema antioxidante.

Eles desempenham um papel crucial na detoxificação de EROs, caso elas se acumulem em níveis prejudiciais, além de corrigir o potencial redox das células. Resumidamente, a prolina não só atua no ajuste osmótico, mas também desempenha um papel de proteção vital, fornecendo recursos para as células após o estresse, regulando o pH citoplasmático e aprimorando a capacidade antioxidante da planta, neutralizando as EROs e corrigindo o potencial redox, garantindo assim a sobrevivência e adaptação das plantas em situações desafiadoras (TAIZ *et al.*, 2017; MEENA *et al.*, 2019).

O aumento da concentração da prolina, segundo Nascimento *et al.* (2019), está relacionado à capacidade das células de diminuir ao máximo seu potencial hídrico e, no caso das células das raízes, ter a capacidade de extrair água do solo sob deficiência hídrica. Essa estratégia metabólica é considerada a primeira resposta das plantas para tentar reduzir as alterações hídricas nas células, além disso, atua na regulação osmótica e contra os efeitos danosos produzidos por espécies reativas de oxigênio. Ainda segundo os autores, o acúmulo de prolina nas folhas em plantas sob déficit hídrico, pode estar relacionada à diminuição do potencial osmótico e aumento da eficiência no uso da água (MEENA *et al.*, 2019).

Mediante o exposto, percebemos que a aplicação exógena de NO em plantas sob déficit hídrico pode melhorar a tolerância das plantas, proteger as células contra os danos oxidativos, aumentando a absorção de água e nutrientes, a eficiência

fotossintética e a síntese de proteínas de resposta ao estresse e aumentar a expressão de genes envolvidos na resposta ao déficit hídrico, sendo assim, como relatado por Kohli *et al.* (2019) o óxido nítrico (NO) é um importante sinalizador molecular, que desempenha um papel crucial em diversas vias de sinalização em plantas, sendo um fator chave na tolerância celular ao estresse oxidativo induzido por inúmeras condições desfavoráveis, por atuar de forma efetiva no controle das EROs. Ainda segundo Shi *et al.* (2014) o óxido nítrico pode atenuar os efeitos do estresse oxidativo mediado pelas EROs através da inibição da peroxidação lipídica, aumento da fotossíntese e expressão das enzimas antioxidantes.

Portanto, sendo o estresse hídrico uma condição em que as plantas enfrentam uma série de efeitos prejudiciais sobre seu crescimento, desenvolvimento e sobrevivência, acarretando diversos sintomas, como a redução da taxa de crescimento, danos nos tecidos foliares, murchamento, senescência e mortalidade (Figura 18). Em síntese, o óxido nítrico desempenha um papel importante na sobrevivência de mudas em ambientes de estresse hídrico, influenciando o balanço hídrico, protegendo contra danos oxidativos e modulando a resposta ao estresse.

5. CONCLUSÃO

A dosagem de 0,2 mM de MSNO foi capaz de promover maior tolerância às plantas de *K. grandifoliola* ao déficit hídrico severo, promovendo não só a maior sobrevivência das plantas, mas também o desempenho fisiológico adequado, com maiores valores de fotossíntese, transpiração, eficiência no uso da água, conteúdo relativo de água e condutância estomática.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, Y.V.; MARQUEZ, A.P.; GARCIA, L.F. Óxido Nítrico y su papel en las respuestas de las plantas al estrés hídrico. **Cultrop**, v.36, n.1, p.51-58, 2015.

ALLAGULOVA, C.R.; LUBYANOVA, A.R.; AVALBAEV, A.M. Multiple Ways of Nitric Oxide Production in Plants and Its Functional Activity under Abiotic Stress Conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v.24, n.14, p. 11637, 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms241411637>

ALMEIDA, J.P.N.D.; PINHEIRO, C.L.; LESSA, B.F.D.T.; GOMES, F.M.; MEDEIROS FILHO, S. Water stress and seed weight at germination and seedling growth in *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.4, p.777-787, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000400016>

AMÂNCIO, V.O.; SILVA, J.C.B.; OLIVEIRA, S.C.F.; BRITO, A.E.A.; OLIVEIRA NETO, C.F.; FREITAS, J.M.N.; NOGUEIRA, G.A.S.; SOUZA, L.C.; NASCIMENTO, V.R.; MONTEIRO, G.G.T.N. **Óxido nítrico como mitigador de estresses em plantas**, cap.8, pag.115-126. In: PACHECO, C.S.G.R.; RIBEIRO, G.F.; CALDEIRA, M.V.W.; MARTINS, W.F.; PRATA, E.G.; LIMA, C.R.; AYOUB, J.P. Biomassa: recursos, aplicações e tecnologias em pesquisas, Ed. Científica Digital, Guarujá/SP, 1 ed., 144 p., 2022.

AMARAL, A.M.; BASTOS, A.V.S.; SANTOS, M.A.C.M.; TEIXEIRA, M.B.; SOARES, F.A.L. Respostas fisiológicas do girassol em fase reprodutiva ao estresse hídrico e salino. **Research, Society and Development**, v.10, n.12, p. e97101220199-97101220199, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20199>

ANTONIOU, C.; XENOFONTOS, R.; CHATZIMICHAIL, G.; CHRISTOU, A.; KASHFI, K.; FOTOPOULOS, V. Exploring the potential of nitric oxide and hydrogen sulfide (NOSH)-releasing synthetic compounds as novel priming agents against drought stress in *Medicago sativa* plants. **Biomolecules**, v.10, n.1, p.120, 2020. <https://doi.org/10.3390/biom10010120>

AQUINO, S.M.; PINHEIRO, A.L.; AQUINO JUNIOR, H.M.; AQUINO, W.M.; BRITO, R.; PINHEIRO, D.T.; COUTO, L. **Mogno africano - Produção de madeira nobre no Brasil**. São Paulo/SP, Instituto Brasileiro de Florestas, 125p. 2018.

ARAUJO, E. C. Efeito do estresse hídrico no desenvolvimento inicial de mudas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb) Altschul (ANGICO). **Enciclopedia Biosfera**, v.19, n.40, p.191-200, 2022.

BAKIR, A.G.; BOLAT, I.; KORKMAZ, K.; HASAN, M.M.; KAYA, O. Exogenous Nitric Oxide and Silicon Applications Alleviate Water Stress in Apricots. **Life**, v. 12, n.9, 1454, 2022. <https://doi.org/10.3390/life12091454>

BARBOZA, G. C.; TEIXEIRA FILHO, J. Transpiração foliar e condutância estomática da cana-de-açúcar em função do clima e disponibilidade de água. **Irriga**, v.22, n.4, p.675-689, 2017. <https://doi.org/10.15809/irriga.2017v22n4p675-689>

CAMPOS, F. V.; OLIVEIRA, J.; PEREIRA, M. G.; FARNESE, F. Nitric oxide and phytohormone interactions in the response of *Lactuca sativa* to salinity stress. **Planta**, v. 250, n.5, p.1475-1489, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03236-w>

CARILLO, P.; GIBON, Y. Protocol: extraction and determination of proline. **Prometheus Wiki**, 2011.

CHAVOUSHI, M.; NAJAFI, F.; SALIMI, A.; ANGAJI, S.A. Effect of salicylic acid and sodium nitroprusside on growth parameters, photosynthetic pigments and secondary metabolites of safflower under drought stress. **Scientia Horticulturae**, 259, 108823, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108823>

DALASTRAM G.M.; ECHER, M.M.; GUIMARÃES, V.F.; HACHMANN, T.L.; INAGAKI, A.M. Trocas gasosas e produtividade de três cultivares de meloeiro

conduzidas com um e dois frutos por planta. **Bragantia**, v.73, n.4, p.365-371, 2014. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.206>

DEL CASTELLO, F.; NEJAMKIN, A.; CASSIA, R.; CORREA-ARAGUNDE, N.; FERNÁNDEZ, B.; FORESI, N.; LOMBARDO, C.; RAMIREZ, L.; LAMATTINA, L. The era of nitric oxide in plant biology: Twenty years tying up loose ends. **Nitric Oxide**, v.1, n.85, p.17-27, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.01.013>

DUTRA, A.F.; ARAUJO, M.M.; TABALDI, L.A.; RORATO, D.G.; GOMES, D.R.; TURCHETTO, F. Otimização do uso de água na produção de mudas de espécies arbóreas. **Cerne**, v.24, n.85, p.201-208, 2018. <https://doi.org/10.1590/01047760201824032516>

FARAJI, J.; SEPEHRI, A. Ameliorative effects of TiO₂ nanoparticles and sodium nitroprusside on seed germination and seedling growth of wheat under PEG-stimulated drought stress. **Journal of Seed Science**, v.41, p. 309-317, 2019. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3213139>

FAHAD, S.; HUSSAIN, S.; BANO, A.; SAUD, S.; HASSAN, S.; SHAN, D.; TABASSUM, M. A. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, n.7, p.4907-4921, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3754-2>.

FELIPPE, D.; NAVROSKI, M.C.; AGUIAR, N.S.D.; PEREIRA, M.D.O.; MORAES, C.; AMARAL, M. Crescimento, sobrevivência e trocas gasosas de mudas de *Eucalyptus dunnii* Maiden submetidas a regimes de irrigação e aplicação de hidrogel. **Revista Forestal Mesoamericana Kurú**, v.17, n.40, p. 11-20, 2020. <https://doi.org/10.18845/v17i40.4902>

FERNANDES, J.M.L.Q.; SILVA, V.F.; DE ARAÚJO HERCULANO, É.V.; QUEIROZ FIRMINO, L.; FRANCISCO, P.R.M. **Influência do estresse hídrico na dimensão da área foliar da espécie florestal *Erythrina velutina* na formação de mudas**, p. 61-68, In: FRANCISCO, P.R.M.; SILVA, V.F.; SANTOS, D.; RIBEIRO, G.N.; AYRES, G.D.J.; SILVINO, G.S. Ciências agrárias – Tecnologia e Inovação, 106p., 2022.

FERRAZ, R.L.D.S.; MELO, A.S.D.; SUASSUNA, J.F.; BRITO, M.E.B.D.; FERNANDES, P. D.; NUNES JÚNIOR, E.D.S. Trocas gasosas e eficiência fotossintética em ecótipos de feijoeiro cultivados no semiárido. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, n.2, p.181-188, 2012. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1983-40632012000200010>

GOMES, D.G.; DEBIASI, T.V.; PELEGRINO, M.T.; PEREIRA, R. M.; ONDRASEK, G.; BATISTA, B.L.; SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. Soil Treatment with Nitric Oxide-Releasing Chitosan Nanoparticles Protects the Root System and Promotes the Growth of Soybean Plants under Copper Stress. **Plants**, v. 11, n.23, p.32-45, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11233245>

GUERRA, A.M.N. de M.; COSTA, A.C.M.; TAVARES, P.R. de F. Atividade fotossintética e produtividade de alface cultivada sob sombreamento. **Revista**

Agropecuária Técnica, v. 38, n. 3, p. 125-132, 2017. <https://doi.org/10.25066/agrotec.v38i3.29246>

IBA – Instituto Brasileiro de Árvores. **Relatório Anual**, 178p, 2022.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura (PEVS)**, 2020. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/31802-pevs-2020-com-crescimento-de-17-9-valor-da-producao-de-silvicultura-e-extracao-vegetal-chega-a-r-23-6-bilhoes>. Acesso em: 24 set. 2023.

IRIGOYEN, J.J.; EINERICH, D.W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Mudanças induzidas pelo estresse hídrico nas concentrações de prolina e açúcares solúveis totais em plantas de alfafa noduladas (*Medicago sativa*). **Physiologia plantarum**, v.84, n.1, p. 55-60, 1992.

JACINTO JÚNIOR, S.G.; MORAES, J.G.L.; SILVA, F.D.B.D.; SILVA, B.D.N.; SOUSA, G.G.D.; OLIVEIRA, L.L.B.D.; MESQUITA, R.O. Physiological responses of fava genotypes (*Phaseolus lunatus* L.) submitted to water stress cultivated in the state of Ceará. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.34, n.3, p.413-422, 2019. <https://doi.org/10.1590/0102-7786343047>

LAU, S.E.; HAMDAN, M.F.; PUA, T.L.; SAIDI, N.B.; TAN, B.C. Plant Nitric Oxide Signaling under Drought Stress. **Plants (Basel)**, v.10, n.2, p.360, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10020360>

LEITE, R.S.; NASCIMENTO, M.N.; TANAN, T.T.; GONÇALVES NETO, L.P.; RAMOS, C.A.S.; SILVA, A.L. Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor. **Agricultural Water Management**, v. 216, n.1, p.98-104, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.02.001>

LEITE, R. D. S.; NAVARRO, S. H.; NASCIMENTO, M. N. D.; POTOSME, N. M. R.; SILVA, A. L. D.; SANTOS, R. D. J. Proline and sodium nitroprusside increase the tolerance of *Physalis peruviana* L. plants to water deficit through chemical priming. **Ciência e Agrotecnologia**, v.46, e004622, 2022. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202246004622>

LUZ, L.M.; ALVES, E.C.; VILHENA, N.Q.; OLIVEIRA, TB, SILVA, Z.G.; FREITAS, J.M.; COSTA, L.C. Mecanismos fisiológicos distintos sustentam o crescimento e a reidratação de *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa* após exposição de curto prazo ao estresse hídrico. **Jornal de Pesquisa Florestal**, v.34, n.1, 113-123, 2023.

MEENA, M.; DIVYANSHU, K.; KUMAR, S.; SWAPNIL, P.; ZEHRA, A.; SHUKLA, V.; YADAV, M.; UPADHYAY, R.S. Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. **Heliyon**, v. 5, n. 12, p. 1-20, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02952>

MORALES, R.G.F.; RESENDE, L.V.; BORDINI, I.C.; GALVÃO, A.G.; REZENDE, F.C. Caracterização do tomateiro submetido ao déficit hídrico. **Scientia Agraria**, v.16, n.1, p.9-17, 2015.

OLIVEIRA, N. P.; NASCIMENTO, J. W. S.; MADALENA JÚNIOR, N.S.; SERAFIM, E. O.; LEANDRO, B. S.; PEREIRA, L. S.; SANTOS, M. C. C.; NASCIMENTO, H.H.C. Ecofisiologia de mudas de *Handroanthus impetiginosus* submetidas a diferentes ciclos de rega/ Ecophysiology of seedlings of *Handroanthus impetiginosus* submitted to different irrigation cycles. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.6, p. 36563-36574, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-264>

OTTO, M. S. G.; VERGANI, A. R.; GONÇALVES, A. N.; VRECHI, A.; SILVA, S. R.; STAPE, J. L. Fotossíntese, condutância estomática e produtividade de clones de Eucalyptus sob diferentes condições edafoclimáticas. **Revista Árvore**, v. 37, n. 3, p.431-439, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000300006>

PROCHÁZKOVÁ, D.; HASEL, D.; WILHELMOVÁ, N.; PAVLÍKOVÁ, D.; SZÁKOVÁ, J. Efeitos do óxido nítrico exógeno na fotossíntese. **Photosynthetica**, v.51, n.4, p.483-489, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0053-y>

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2021. <https://www.R-project.org/>.

REIS, C.A.F.; OLIVEIRA, E.B.; SANTOS, A.M. **Mogno-africano (Khaya spp.): atualidades e perspectivas do cultivo no Brasil**. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, 378 p., 2019.

RONDON NETO, R.M.; KRUGER, R.P.P.; RODRIGUES, A.K.Q. Comportamento silvicultural e danos em mogno-africano (*Khaya ivorensis* A.Chev.) em sistema silvipastoril. **BIOFIX Scientific Journal**, v.6, n.2, p.127-132, 2021.

SALGADO, I.; OLIVEIRA, H. C.; GASPAR, M. Plant Nitric Oxide Signaling Under Environmental Stresses. **Mechanism of Plant Hormone Signaling Under Stress**, v.10, n.2, p. 345-370, 2017. <https://doi.org/10.3390/plants10020360>

SANTOS, T.B.; RIBAS, A.F.; SOUZA, S.G.H.; BUDZINSKI, I.G.F.; SOUZA, S.G.H.; DOMINGUES, D.S. Physiological Responses to Drought, Salinity, and Heat Stress in Plants: A Review. **Stresses**, v.2, n.1, p.113-135, 2022. <https://doi.org/10.3390/stresses2010009>

SHI, H.; YE, T.; ZHU, J.; CHAN, Z. Constitutive production of nitric oxide leads to enhanced drought stress resistance and extensive transcriptional reprogramming in Arabidopsis. **Journal Experimental Botany**, v.65, n.15, p.4119-4131, 2014. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru184>.

SHIMIZU, G.D.; GUARIZ, H.R.; GONÇALVES, L.S.A. 2021. **Seedreg: Análise de regressão para germinação de sementes em função da temperatura**. R package version 1.0.2. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/seedreg/index.html>

SHIMIZU, G.D.; MARUBAYASHI, R.Y.P.; GONÇALVES, L.S.A. 2021. **AgroR: Experimental Statistics and Graphics for Agricultural Sciences**. R package version 1.2.2. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/AgroR/index.html>

SHIMIZU, M.; ISHIDA, A.; TANGE, T.; YAGI, H. Leaf turnover and growth responses of shade-grown saplings of four Shorea rain forest species to a sudden increase in light. **Tree Physiol**, v.26, p.449-457, 2006.

SIDDIQUI, M.H.; ALAMRI, S.; ALSUBAIE, Q.D.; ALI, H.M, KHAN, MN, AL-GHAMDI, A.; ALSADON, A. O óxido nítrico exógeno alivia o dano oxidativo induzido pela deficiência de enxofre em mudas de tomate. **Óxido Nítrico**, v. 94, p.95-107, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122882>

SILVA, F.G.D.; DUTRA, W.F.; DUTRA, A.F.; OLIVEIRA, I.M.D.; FILGUEIRAS, L.; MELO, A.S.D. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v. 19, n.10, p. 946-952, 2015. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n10p946-952>

SILVA, J.S.; PINTO, L.A.; FREITAS, M.G.; FEITOSA, A. J. S.; SILVA, C.L.; PIZARRO, J.C.A. Parâmetros morfológicos e fisiológicos de *Brachiaria brizantha* submetida ao déficit hídrico. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 5, p. 71-81, 2018. <https://doi.org/10.48075/actaiguaz.v7i5.17471>.

SILVEIRA, N. M.; FRUNGILLO, L.; MARCOS, F.C.C.; PELEGRINO, M.T.; MIRANDA, M.T.; SEABRA, A.B.; SALGADO, I.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, v. 244, n. 1, p. 181-190, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2501-y>

SU, J.; ZHANG, Y.; NIE, Y.; CHENG, D.; WANG, R.; HUALI, H.; CHEN, J.; ZHANG, J.; DU, Y.; SHEN, W. Hydrogen-induced osmotic tolerance is associated with nitric oxide-mediated proline accumulation and reestablishment of redox balance in alfalfa seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v.147, p.249-260, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.12.022>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

WANG, P.; Du, Y.; HOU, Y. J.; ZHAO, Y.; HSU, C. C.; YUAN, F.; ZHU, J. K. Nitric oxide negatively regulates abscisic acid signaling in guard cells by S-nitrosylation of OST1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.112, n.2, p.613-618, 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423481112>

ZHANG, Y.; WANG, R.; WANG, X.; ZHAO, C.; SHEN, H.; YANG, L. Nitric Oxide Regulates Seed Germination by Integrating Multiple Signalling Pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v.24, n.10, 9052, 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24109052>

Considerações Finais

O reflorestamento ambiental e a prática da silvicultura desempenham papéis cruciais no contexto ambiental e econômico do Brasil. Essas atividades são fundamentais para promover a conservação da biodiversidade, quando a restauração ou recuperação de ecossistemas é realizado com espécies nativas brasileiras, proporcionando habitats adequados para uma variedade de espécies vegetais e animais, por favorecer o sequestro de carbono, auxiliando na mitigação das mudanças climáticas, para a preservação e regulação dos recursos hídricos, para a geração de empregos e renda facilitada pela silvicultura e geração de produtos madeireiros e não madeireiros, pelo fornecimento de recursos renováveis e pelo avanço de novas técnicas de produção agrícola em sistemas agroflorestais e integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF).

Desse modo, a presente pesquisa mostrou a importância do conhecimento agregado sobre a aclimação de espécies arbóreas e os meios de plasticidade inerentes aos estresses abióticos bem como a importância da nanotecnologia e do uso de doadores de óxido nítrico para a silvicultura, na base econômica e ambiental, no que tange à formação de florestas nativas e recuperação de áreas degradadas.

Constatamos assim, que as espécies florestais *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa* e *Amburana cearensis* apresentam plasticidade fenotípica, aclimatando seus traços morfofisiológicos à intensidade luminosa, assim o estudo da aclimação de espécies arbóreas é essencial para promover melhoria da resistência e sobrevivência de plantas a estresses ambientais e compreender esses mecanismos de resiliência, alcançando assim maior eficiência de cultivo.

Verificamos que a nanotecnologia e o uso de doadores de óxido nítrico (NO) podem oferecer benefícios significativos para o incremento na produção silvicultural e ganhos em projetos de formação florestal nativa. Assim a suplementação por meio de doadores de NO mostrou efeito positivo sobre a aclimação de mudas de *Hymenaea courbaril*, *Hymenaea stigonocarpa* e *Amburana cearensis* mantidas sob o sol pleno no setor de rustificação do viveiro, estimulando o desenvolvimento inicial, no que tange ao crescimento e o processo fisiológicos.

A aplicação de nanopartículas liberadoras de NO, por permitirem uma liberação controlada e sustentável dessa molécula, teve efeito positivo sobre a resposta das mudas de *Hymenaea courbaril* e *Amburana cearensis* ao sol pleno, quando transferidas para o campo, otimizando a absorção pelas plantas e beneficiando o desenvolvimento vegetal.

Verificamos ainda que o ácido S-nitroso-mercaptosuccínico desempenhou um papel importante no favorecimento do desenvolvimento vegetal sob condições de estresse hídrico, proporcionando efeito positivo em mudas de mogno africano submetidas ao estresse hídrico severo, ajudando a reduzir os danos causados pelo estresse oxidativo, na manutenção da homeostase hídrica e manutenção de funções metabólicas essenciais, como a fotossíntese.

Em suma, essa pesquisa é valiosa por informar métodos de gestão ambiental e estratégias de aclimação e resistência às plantas em face dos estresses promovidos pelas mudanças climáticas globais.