



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA
DOUTORADO EM AGRONOMIA**

NARA HELENA TAVARES DA PONTE

**MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DETERMINANTES
DA ADAPTAÇÃO DE PALMA DE ÓLEO AO ALAGAMENTO**

**BELÉM
2019**

NARA HELENA TAVARES DA PONTE

**MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DETERMINANTES
DA ADAPTAÇÃO DE PALMA DE ÓLEO AO ALAGAMENTO**

Defesa de tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia como parte das exigências do curso de doutorado em Agronomia: área de concentração Produção Vegetal em Sistemas Agrícolas, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof.Dr. Hugo Alves Pinheiro

Co-orientadores: Dr. Roberto Lisboa Cunha e Dr. Marcelo Murad Magalhães.

**BELÉM
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

da Ponte, Nara Helena Tavares

Mecanismos morfofisiológicos e bioquímicos determinantes da adaptação de palma de óleo ao alagamento
/ Nara Helena Tavares da Ponte. - 2019.
42 f. : il.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), Campus Universitário de
Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Alves Pinheiro

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Lisboa Cunha e Marcelo Murad Magalhães.

I. dendê em ambientes alagados. I. Pinheiro, Hugo Alves, *orient.* II. Título

CDD 633.8551

Defesa de tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do curso de doutorado em agronomia: Área de concentração produção vegetal em sistemas agrícolas, para obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Alves Pinheiro

Co-orientadores: Dr. Roberto Lisboa Cunha e Dr. Marcelo Murad Magalhães

BANCA EXAMINADORA

Dr. Hugo Alves Pinheiro - Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

Dr. Cláudio José Reis de Carvalho – 1º Examinador
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

Dr. Candido Ferreira de Oliveira Neto– 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro – 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Dr. Walter Vellasco Duarte Silvestre 4º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

DEDICO

Aos meus pais, Benedito Meireles da Ponte (*in memorian*) e Maria Luíza dos Reis Tavares pelo incentivo, amor, paciência e sacrifícios sem medidas para conclusão dessa caminhada.

Ao meu irmão John Lennon que muito me incentivou e me ajudou na criação do meu filho, sempre disponível para todos os momentos.

Ao meu marido Rodrigo Araújo pela paciência e ajuda.

A meu filho, Francisco Rafael, que foi a grande motivação para que elevassem essa caminhada até o final.

Meus aos amigos e familiares que oraram e me motivaram a seguir em frente

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela misericórdia da minha vida, pelo respirar e por sempre responder as minhas orações nos momentos de angústia, dúvidas e aflições, por me conceder muitas vitórias durante a trajetória, por me carregar no colo e está sempre ao meu lado.

À Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, pela formação profissional e oportunidade de realizar o curso de Mestrado em biotecnologia aplicada à agropecuária e por me tornar discente do programa de doutorado em agronomia.

À professora e coordenadora do Programa de Pós-graduação em Agronomia Dr.^a Gisele Barata da Silva pela sua disposição em fazer seu melhor para elevar o nível do curso.

Ao meu orientador, Dr. Hugo Alves Pinheiro, por aceitar me orientar, pelos ensinamentos, pela paciência e compreensão, sendo sempre prestativo e correto em todas suas ações.

Aos meus co-orientadores, Drs. Roberto Lisboa e Marcelo Murad, por todo o suporte logístico, científico e estrutural para a condução dos meus experimentos e também pela confiança e amizade construída durante o processo.

Aos meus amigos e parceiros de trabalho, Rodolfo e Wagner, sem os quais os trabalhos não seriam possíveis de serem executados, pela amizade construída e pela disponibilidade na importasse o momento.

Aos meus pais, Benedito Meireles da Ponte e Maria Luiza dos Reis Tavares que foram meus grandes incentivadores, sempre me ajudando e acreditando no meu potencial. Ao meu irmão John Lennon, por sempre ajudar na criação do meu filho e na ajuda sempre que necessária. Ao meu esposo Rodrigo pela paciência e ajuda, ao meu filho Francisco Rafael, por ser minha grande motivação para seguir em frente.

Aos meus amigos do laboratório de Análises de sistemas sustentáveis (LASS), Rosane Chaves, Victória Rosário, Ivanildo, Milton e João, pelas caronas, amizades sinceras, pelos momentos de descontração e incentivos.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta tese e para o meu crescimento profissional.

Minhas sinceras considerações e agradecimentos

*Felizes são aqueles que não seguem o conselho dos ímpios, não imita a conduta dos pecadores, nem se assenta na roda dos zombadores!
Ao contrário, sua satisfação está na lei do Senhor, e nessa lei medita dia e noite.
É como árvore plantada à beira de águas correntes: Dá fruto no tempo certo e suas folhas não murcham. Tudo o que ele faz prospera!*

(Salmos 1:1-3)

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-----------------------|---|
| A | Taxa de assimilação líquida de CO_2 |
| g_s | Condutância estomática |
| g_m | Condutância mesofílica |
| E | Transpiração |
| C_i | Concentração subestomática de CO_2 |
| CRA | Conteúdo relativo de água |
| F_v/F_m | Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema PS II |
| NPQ | Coefficiente de extinção não fotoquímica |
| $\Phi_{\text{PS II}}$ | Eficiência quântica do fotossistema II |
| PS II | Fotossistema II |
| TCR | Taxa de crescimento relativo |
| CC | Capacidade de Campo |

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 2: MORPHOLOGICAL ASSESSMENTS EVIDENCE THAT HIGHER NUMBER OF PNEUMATOPHORES IMPROVES TOLERANCE TO LONG-TERM WATERLOGGING IN OIL PALM (*ELAEIS GUINEENSIS*) SEEDLINGS

- Fig. 1.** Aspect of oil palm seedlings after 77- days growing under well-watered (A) and waterlogging (B) conditions. The pictures focus the transition region between soil and plant stem and show absence and presence of numerous pneumatophores respectively in A and B. Pictures are representative of 10 replicates per watering regime.
- Fig. 2.** Changes in above-ground morphology in oil palm seedlings as a function of watering regimes (control and waterlogging) and number of pneumatophores per plant. Data are mean \pm S.E. (n = 10). Different small letters denote significant differences between averages (Tukey's test, $P \leq 0.05$).
- Fig. 3.** Changes in biomass allocation in oil palm seedlings as a function of watering regimes (control and waterlogging) and number of pneumatophores per plant. Data are mean \pm S.E. (n = 10). Different small letters denote significant differences between averages (Tukey's test, $P \leq 0.05$).

CAPÍTULO 3: ALAGAMENTO E NÚMERO DE PNEUMATÓFOROS POR PLANTA INDUZ ALTERAÇÕES NO PADRÃO DE CRESCIMENTO E TEORES DE CARBOIDRATOS EM PALMA DE ÓLEO

Fig. 1. Taxas de crescimento relativo em altura (A), diâmetro do coleto (D Coleto, B) e do bulbo (D Bulbo, C), área foliar total (AFT, D), massa seca de folha (MS Folha, E), de estipe (MS Estipe, F), de bulbo (MS Bulbo, G) e de raiz (MS Raiz, H) em plantas de palma de óleo em função do regime hídrico (controle e alagamento) e número de pneumatóforos por planta. Os dados são a média \pm DP (n = 10). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre médias (teste de Tukey, $P \leq 0.05$).

Fig. 2. Acúmulo de massa seca de pneumatóforos em plantas alagadas de palma de óleo com 2 a 10 ou 90 a 120 pneumatóforos. Os dados são a média \pm DP (n = 10). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre médias (teste de Tukey, $P \leq 0.05$).

Fig. 3. Concentrações de sacarose (A), glicose (B), frutose (C) e amido (D) em diferentes tecidos drenos de plantas de palma de óleo submetidas a dois regimes hídricos (Controle e Alagamento, AL) e com diferentes números de pneumatóforos (zero, P 0; de 2 a 10 pneumatóforos, 2 – 10 P; e de 90 a 120 pneumatóforos, 90 – 120 P) por planta. Os dados são a média \pm DP (n = 10). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre médias para um dado carboidrato comparado na mesma parte da planta (teste de Tukey, $P \leq 0.05$).

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2: MORPHOLOGICAL ASSESSMENTS EVIDENCE THAT HIGHER NUMBER OF PNEUMATOPHORES IMPROVES TOLERANCE TO LONG-TERM WATERLOGGING IN OIL PALM (ELAEIS GUINEENSIS) SEEDLINGS

Table 1. Changes in leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and water status in oil palm seedlings as a function of different watering regimes (control and waterlogging) and number of pneumatophores (0 P to 90.120 P). Data are the mean \pm S.E. (n =10). Different small letters in the same row denote significant differences between averages (Tukey's test, $P_i \leq 0.05$).

CAPÍTULO 3: ALAGAMENTO E NÚMERO DE PNEUMATÓFOROS POR PLANTA INDUZ ALTERAÇÕES NO PADRÃO DE CRESCIMENTO E TEORES DE CARBOIDRATOS EM PALMA DE ÓLEO

Tabela 1. Concentrações de carbono e nitrogênio em diferentes tecidos drenos de plantas de palma de óleo submetidas a dois regimes hídricos (Controle e Alagamento, AL) e com diferentes números de pneumatóforos (zero, P0; de 2 a 10 pneumatóforos, P 2-10; e de 90 a 120 pneumatóforos, P 90-120) por planta.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

| | | |
|-------|---|----|
| 1. | CONTEXTUALIZAÇÃO | 04 |
| | REFERÊNCIAS | 09 |
| 2. | PNEUMATOPHORESIS FREQUENCY NOT INTERFERE IN THE PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF YOUNG PALM OIL PLANTS (<i>ELAIS GUINEENSIS</i>) WATERLOGGING PROLONGED | |
| | ABSTRACT | 11 |
| 2.1 | Introdução | 11 |
| 2.2 | Material e Métodos | 12 |
| 2.3 | Resultados | 13 |
| 2.4 | Discussão | 15 |
| 2.5 | Conclusão | 16 |
| | REFERÊNCIAS | 16 |
| 3. | ALAGAMENTO E NÚMERO DE PNEUMATÓFOROS POR PLANTA INDUZ ALTERAÇÕES NO PADRÃO DE ALOCAÇÃO DE BIOMASSA, CARBONO E NITROGÊNIO EM PLANTAS DE PALMA DE ÓLEO | |
| | RESUMO | 17 |
| | ABSTRACT | 18 |
| 3.1 | Introdução | 19 |
| 3.2 | Material e Métodos | 21 |
| 3.2.1 | Material vegetal e condições de crescimento | 21 |
| 3.2.2 | Taxas de crescimento relativo | 22 |
| 3.2.3 | Massa seca de pneumatóforos | 23 |
| 3.2.4 | Teores de carbono e nitrogênio | 23 |
| 3.2.5 | Determinação de açúcares solúveis e amido | 23 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.2.6 | Análises estatísticas..... | 24 |
| 3.3 | Resultados | 25 |
| 3.3.1 | Taxas de crescimento relativo e massa seca de pneumatóforos..... | 25 |
| 3.3.2 | Teores de carbono (C) e nitrogênio (N)..... | 26 |
| 3.3.3 | Concentrações de carboidratos..... | 26 |
| 3.4 | Discussão | 32 |
| 3.5 | Conclusões | 37 |
| | REFERÊNCIAS | 38 |
| 4. | CONCLUSÕES GERAIS | 42 |

RESUMO

A palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma palmeira amplamente cultivada no Estado do Pará, que detém a maior área de plantio e maior produção nacional de frutos da espécie. O alagamento do solo decorrente de operações inadequadas de manejo da cultura associadas às condições edafoclimáticas locais, podem afetar o crescimento e desenvolvimento da cultura, afetando negativamente a produção. Assim, o objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a capacidade de tolerância da palma de óleo ao alagamento, procurando evidenciar uma possível relação entre frequência de pneumatóforos emitidos por planta e tolerância ao estresse. Para isso, plantas de um ano foram submetidas a irrigação plena (capacidade de campo) e ao alagamento (77 dias) a fim de avaliar os impactos do estresse no *status* hídrico da planta, nas trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, alocação de biomassa e padrão de distribuição de carboidratos na planta. Essas variáveis foram obtidas em plantas agrupadas de acordo com o número de pneumatóforos emitidos (2–10, 30–40, 60–70, e 90–120 pneumatóforos por planta). O alagamento não induziu alterações significativas no *status* hídrico das plantas, nas trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* independentemente do número de pneumatóforos. Contudo, o alagamento induziu alterações na morfologia da parte aérea e acúmulo de biomassa de partes da planta, com destaque para um aumento no diâmetro do caule do bulbo e na biomassa do bulbo. As plantas sob alagamento apresentaram forte redução na biomassa de raízes, sendo tais reduções mais expressivas nas plantas com menos pneumatóforos. Nas plantas controle e sob alagamento, as concentrações de sacarose foram maiores no bulbo, raízes e pneumatóforos (quando presentes) que na estipe. O armazenamento de amido foi maior na estipe, bulbo e raízes e menor nos pneumatóforos. Conclui-se que as plantas de palma de óleo toleram satisfatoriamente bem ao alagamento de longo prazo (77 dias) e que o maior número de pneumatóforos por planta deve induzir uma maior tolerância ao estresse em relação às plantas com menor número de pneumatóforos.

Palavras-chaves: status hídrico, pneumatóforos, carboidratos, *Elaeis guineensis*.

ABSTRACT

The oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Is a widely cultivated palm tree in the state of Pará, which has the largest planting area and largest national fruit production of the species. Soil flooding due to improper crop management operations associated with local edaphoclimatic conditions can affect crop growth and development, negatively affecting yield. Thus, the general objective of this research was to evaluate the capacity of tolerance of oil palm to flooding, seeking to evidence a possible relationship between frequency of pneumatophores emitted per plant and stress tolerance. In order to do so, One year old plants were submitted to full irrigation (field capacity) and flooding (77 days) to evaluate the impacts of stress on plant water status, gas exchange, chlorophyll fluorescence, biomass allocation. and pattern of carbohydrate distribution in the plant. These variables were obtained in plants grouped according to the number of pneumatophores emitted (2–10, 30–40, 60–70, and 90–120 pneumatophores per plant). Flooding did not induce significant changes in plant water status, gas exchange and chlorophyll fluorescence, regardless of the number of pneumatophores. However, the algal induced changes in shoot morphology and biomass accumulation of plant parts, with emphasis on an increase in bulb stem diameter and bulb biomass. The plants under flooding showed a strong reduction in root biomass, and such reductions were more significant in plants with less pneumatophores. In control and flooded plants, sucrose concentrations were higher in the bulb, roots and pneumatophores (when present) than in the stem. The starch storage was higher in the stem, bulb and roots and lower in the pneumatophores. It can be concluded that oil palm plants tolerate satisfactorily long-term flooding (77 days) and that the higher number of pneumatophores per plant should induce a higher stress tolerance in relation to plants with lower number of pneumatophores.

Keywords: water status, pneumatophores, soluble sugars, *Elaeis guineensis*.

1. Contextualização

A palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma palmeira de origem africana cujos frutos podem ser extraídos o óleo de palma (da polpa), utilizado para produção do azeite de dendê e na fabricação de margarinas, maioneses, sabões e detergentes (MULLER, 1980); e o óleo de palmiste (da amêndoa) que, além de ser usado na indústria alimentícia, é também usado na produção de biodiesel e na indústria química (DORS, 2011).

Essa palmeira é cultivada em diversos países na faixa do trópico úmido, como Indonésia, Malásia, Papua Nova Guiné, Filipinas, Camarões, Uganda, Costa do Marfim, Tailândia, Brasil, Colômbia, Equador, Peru, Guatemala, México, Nicarágua, Costa Rica e outros (USDA, 2012). Em comparação às demais oleaginosas cultivadas para fins comerciais, a palma de óleo é a espécie que mais se destaca na produção de óleo, chegando a superar 56 milhões de toneladas anuais de óleo de palma (MONTEIRO, 2013). Malásia e Indonésia representam mais de 80% da produção mundial e exportam grandes quantidades de óleo para os mercados mundiais, especialmente para a Comunidade Europeia, Estados Unidos, Índia e China (MAPA, 2018).

Posteriormente, a Amazônia brasileira tornou-se a área mais importante para o cultivo da palma óleo no Brasil, tendo o Estado do Pará situação privilegiada, devido as semelhanças climáticas com centro de origem da cultura, típica de regiões tropicais úmidas (MAPA, 2018).

Segundo dados da Associação Brasileira de Produtores de Óleo de Palma (Abrapalma), a área cultivada com palma de óleo no Brasil é de cerca de 236 mil hectares, incluindo áreas de agroindústrias, pequenos e médios proprietários, agricultores familiares e integrantes da reforma agrária (MAPA, 2018). O primeiro grupo (agroindústrias) é responsável por cerca de 90% das áreas de cultivo, os pequenos e médios proprietários por cerca de 5,1% e o terceiro grupo pela menor fração do todo (4,9%). Em um levantamento realizado no ano de 2015, foi constatado que o Estado do Pará detém aproximadamente 88% da área plantada de palma de óleo, seguido da Bahia (11%) e de Roraima (1%) (MAPA, 2018).

O Pará é o maior produtor nacional de frutos de palma de óleo, contribuindo com cerca de 83% da produção total de cachos de coco de palma de óleo (IBGE, 2014).

Um fator limitante para o desenvolvimento e crescimento da palma de óleo são os estresses abióticos, sendo os mais importantes o déficit hídrico e o alagamento (BANSAL E SRIVASTAVA, 2015). Este último ocasionado principalmente por práticas de irrigação inadequadas, fatores antrópicos indiretos e consequências naturais (meteorológicas) (BANSAL E SRIVASTAVA, 2015).

O alagamento ocasiona diversas alterações morfofisiológicas nas plantas e a magnitude dessas alterações varia de acordo com a espécie e com a intensidade e duração do período de alagamento (BAILEY-SERRES E COLMER, 2014). Portanto, a flora das áreas frequentemente inundadas sofre uma forte pressão de seleção, o que leva a evolução de mecanismos que permitam a sobrevivência dessas espécies nestas condições adversas. Assim, as espécies mais adaptadas ao alagamento evitam a hipóxia desenvolvendo mecanismos que incluem mudanças morfológicas, fisiológicas e metabólicas (GIBBS & GREENWAY, 2003; PAREEK et al., 2010; SCREMIN-DIAS et al., 2011).

Dentre as alterações na morfologia, as plantas podem desenvolver aerênquimas nos órgãos submersos e pneumatóforos que crescem acima da lâmina hídrica, dentre outros (FAHN, 1982). Lenticelas hipertróficas foram observadas em raízes adventícias de *Hura crepitans* e *Tabebuia aurea* (MARTINEZ et al., 2011; OLIVEIRA, et al., 2017), uma maior porosidade foi observada nos tecidos de raízes de *Copernicia prunifera* (ARRUDA E CALBO, 2004) e a ocorrência de pneumatóforos foi evidenciada em plantas de Buriti (*Mauritia vinifera*) e palma de óleo (*E. guineensis*) (PEREIRA et al., 2000; RIVERA-MENDES, et al., 2016).

Os pneumatóforos são raízes do tipo respiratórias (ALMEIDA E ALMEIDA, 2014). Essas raízes estão presentes em plantas adaptadas a solos inundados, com baixos níveis de oxigênio, como os pântanos e manguezais. Plantas desses ecossistemas desenvolvem raízes com crescimento em direção à superfície do solo (contra a ação da gravidade: geotropismo negativo), atingindo a atmosfera onde realizam trocas gasosas através de pneumatódios, que são orifícios presentes em toda

superfície dos pneumatóforos, garantindo, dessa forma, o suprimento de oxigênio aos tecidos da raiz, permitindo sua sobrevivência (ALMEIDA E ALMEIDA, 2014). Em contato com o ar essas raízes desenvolvem lenticelas, que melhoram as trocas gasosas entre raízes e ambiente (HOOK, 1984). Nos pântanos e zonas úmidas a presença de pneumatóforos e aerênquimas facilita a difusão de oxigênio através dos tecidos, mantendo níveis adequados para respiração (CURRAN et al., 1986; GILL, 1970).

Com a diminuição de oxigênio na região das raízes de plantas alagadas, a hipoxia desencadeia uma cascata de sinais que acaba afetando o metabolismo de produção de etileno (He et al. 1996), aumentando da atividade da enzima ACC sintase ocasionando um aumento na atividade de celulase, que degrada parede celular e contribuem para a formação dos aerênquimas. O etileno também induz a hipertrofia de lenticelas (BRADFORD & YANG 1981), que ocorrem geralmente na base dos caules, e induzem a formação de dois tipos aerênquima: O lisígeno, que é formado pela morte de células corticais, e o esquizógeno, oriundo da conexão de células, que formam colunas contínuas para armazenamento e transporte de gases (JOLY 1991).

As trocas gasosas foliares, particularmente a taxa de assimilação líquida de CO₂, tendem a ser alteradas sob condições de alagamento, sendo a extensão dessa diminuição dependente da capacidade de tolerância da espécie em questão às condições de deficiência de oxigênio no solo (KREUZWIESER E RENNENBERG, 2014). Então, nas plantas mais tolerantes a fotossíntese é pouco reduzida ou não alterada, enquanto nas espécies menos tolerantes (ou mais sensíveis) é fortemente reduzida (KREUZWIESER E RENNENBERG, 2014). Em plantas sujeitas à planície de inundação, as taxas de fotossíntese podem se recuperar completamente ou mesmo aumentar durante longos períodos de deficiência de oxigênio no solo; sendo essa recuperação frequentemente coincidente com o desenvolvimento de alterações anatômicas e/ou morfológicas de caráter adaptativo, tais como o aparecimento de lenticelas hipertrofiadas e/ou raízes adventícias (HERRERA, 2013).

Uma vez que a fotossíntese pode ser afetada pelo alagamento, então a síntese e a translocação de carboidratos das folhas para as raízes pode ser também afetada (LARCHER, 2004; DIAS-FILHO, 2006; HENRIQUE, 2010). Portanto, um menor suprimento de carboidratos às raízes pode estar relacionado a uma menor tolerância de plantas ao alagamento (HENRIQUE, 2010), visto que, sob anoxia, a respiração mitocondrial é inibida e a produção celular de ATP torna-se praticamente dependente da glicólise. Este mecanismo, por sua vez, depende de um considerável suprimento de glicose (seu principal substrato) e NAD^+ , este último fornecido pelas vias de fermentação ativadas sob condição de anoxia (BANSAL E SRIVASTAVA, 2015).

Plantas de palma de óleo jovens são particularmente sujeitas a danos por alagamento. Todavia, as plantas maduras são menos afetadas, dependendo da severidade e duração da inundação, da temperatura e do nível de oxigênio na água do solo (LIM et al., 2011). A palma de óleo pode tolerar curtos períodos de alagamento, mas não toleram o alagamento contínuo, pois as raízes são incapazes de realizar a respiração quando submersas em água (CORLEY E TINKER, 2015). Em inundações prolongadas, as raízes da palma de óleo podem morrer, a absorção de água pode ser prejudicada, com efeitos semelhantes aos de uma seca, como o fechamento dos estômatos, absorção de azoto pode também ser limitada (CORLEY E TINKER, 2015).

A tolerância de diversas espécies ao alagamento, inclusive a palma de óleo, parece estar relacionada à emissão de pneumatóforos pelas raízes, tendo estes a função de promover a oxigenação das raízes e assim garantir a sua sobrevivência e funcionalidade. No entanto, não há registros de trabalhos que tenham buscado relacionar a frequência de pneumatóforos emitidos pela planta, no caso específico a palma de óleo, e a capacidade de tolerância ao alagamento.

Recentemente, uma considerável tolerância ao alagamento foi observada em plantas de palma de óleo submetidas ao alagamento por 60 dias, o que foi atribuído, dentre outros, à emissão de pneumatóforos pelas plantas e a ausência de alterações nas trocas gasosas, em especial na assimilação líquida de CO₂ (RIVERA-MENDES et al., 2016). Embora os autores tenham observado que o número de pneumatóforos emitidos por planta foi bastante variável (de 8 a 79 pneumatóforos), as variáveis de interesse (fisiológicas e nutricionais) não foram estratificadas em função da frequência de pneumatóforos por planta. Então, pode-se hipoteticamente sugerir que plantas com maior número de pneumatóforos possam apresentar uma melhor resposta adaptativa ao alagamento que aquelas com menor número de pneumatóforos.

Do exposto acima, esta pesquisa objetiva testar as seguintes hipóteses: (1) o maior número de pneumatóforos por planta induz uma maior tolerância ao alagamento prolongado por atenuar os efeitos do estresse no crescimento da planta (em especial do sistema radicular) e, conseqüentemente, evitar alterações no *status* hídrico da planta e trocas gasosas em relação às plantas com menos pneumatóforos; e (2) o padrão de alocação de carbono, nitrogênio e de carboidratos fundamentais nos tecidos drenos (estipe, raízes e pneumatóforos) é influenciado pelo alagamento e pelo número de pneumatóforos observados por planta.

Assim, os objetivos específicos desta pesquisa foram: (1) determinar o padrão de alterações no *status* hídrico da planta, nas variáveis de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e alocação de biomassa em plantas de palma de óleo submetidas ao alagamento prolongado; estratificando as avaliações em função do número de pneumatóforos apresentados pelas plantas; e (2) avaliar os efeitos do alagamento e a influência do número de pneumatóforos por planta no padrão de partição de carbono e nitrogênio e nas concentrações de carboidratos fundamentais (sacarose, glicose, frutose e amido) nos tecidos drenos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M., ALMEIDA, C. V. **Morfologia da raiz de plantas com sementes**, Sistema integrado de bibliotecas, Livros e Capítulos de Livros - ESALQ/LCB, coleção botânica 01, universidade de São Paulo, 2014.
- ARRUDA, G. M. T., CALBO, M. E. R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore) **Acta Botanica Brasilica**, 18(2): 219-224. 2004.
- BAILEY-SERRES, J. COLMER, T. D. Plant tolerance of flooding stress – recent advances, **Plant, Cell and Environment**, n. 37, p.2211–2215, 2014.
- BANSAL,R., SRIVASTAVA, J. P. Effect of Waterlogging on Photosynthetic and Biochemical Parameters in Pigeonpea, **Russian Journal of Plant Physiology**, Vol. 62, No. 3, pp. 322–327, 2015.
- BRADFORD, K. J. E YANG. S. F. Physiological responses of plants to waterlogging, **HortScience**, v.16, p. 25-30, 1981.
- CORLEY, R. E TINKER, P. **Growth, flowering and yield**. pp. 105-119. In: Corley, R. and P. Tinker (ed.). *The oil palm*. 5th ed. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2015.
- CURRAN, M., ALLAWAY, W. G., COLE, M. Root aeration and respiration in young mangrove plants (*Avicennia marina* (Forsk) Vierh), **Journal of Experimental Botany**, **37**:1225-1233, 1986. DIAS-FILHO, M. B. Respostas morfofisiológicas de *Brachiaria* spp. ao alagamento do solo e a síndrome da morte do capimmarandu. In: BARBOSA, R.A. (Ed). **Morte de pastos de braquiárias**. EMBRAPA Gado de Corte. p.83-101, 2006.
- DORS, G. **Etanólise enzimática do óleo de palma visando a produção de biodiesel em sistema contínuo**. 2011. 233 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011. Disponível em: acesso em: 12.06.2019.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. Pergamon International Library. New York. 1982.
- GIBBS, J., E GREENWAY, H. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 30, n. 1, p. 1-47, 2003.
- GILL, C. J., The flooding tolerance of woody plants, **Forest Abstract**, n.31,p. 671-678, 1970.
- HE, C.J.; MORGAN, P.W.; DREW, M.C. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. **Plant Physiology**, v.112, p.463-472, 1996.
- HENRIQUE, P. de C., ALVES, J. D., GOULART, P. de F. P., DEUNER, S., SILVEIRA, N.M., ZANANDREA, I., CASTRO, E. M. de. Características fisiológicas e anatômicas de plantas de sibipiruna submetidas à hipoxia. **Ciência Rural**, v.40, n.1, 2010.

HERRERA, A. Responses to flooding of plant water relations and leaf gas exchange in tropical tolerant trees of a black-water wetland. **Frontiers in Plant Science**, v.4, p.106, 2013.

HOOK, D. H. Adaptation to flooding with fresh water. In- Flooding and plant growth. Kozlowski, T. T. ed. San Diego, **Academic Press**, p.265-269, 1984.

IBGE. **Indicadores por Estados Brasileiros**. 2014 Disponível no link canais do site <http://www.ibge.gov.br/estadosat/> acesso em 24 de junho de 2018.

JOLY, C.A. **Flooding tolerance in tropical trees**. In M.B. Jackson, D.D. Daves & H. Lambers (eds.). Plant life under oxygen stress. Netherlands, SPB Academic Publishing, The Hague, p.23-34, 1991.

KREUZWIESER, J., RENNENBERG, H. Molecular and physiological responses of trees to waterlogging stress, **Plant, Cell and Environment**, v.37, p. 2245–2259, 2014.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. p.531, 2004.

LIM, S., E LEE, K.T. Parallel production of biodiesel and bioethanol in palm-oil-based biorefineries: life cycle assessment on the energy and greenhouse gases emissions. **Biofuels Bioprod. Biorefin.**, 5, 132-150, 2011.

MARTINEZ, G. B., MOURÃO, M., BRIENZA JUNIOR, S. Respostas morfofisiológicas de plantas de açacu (*Hura crepitans* L.) provenientes de várzeas do rio Amazonas: efeito da anoxia do solo, **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.35, n.6, p.1155-1164, 2011.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diagnóstico da Produção Sustentável da Palma de Óleo no Brasil** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. – Brasília : Mapa/ACE, 2018.

MONTEIRO, K. F. G. **Análise de indicadores de sustentabilidade socioambiental em diferentes sistemas produtivos com palma de óleo no Estado do Pará**. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias/Agroecossistemas da Amazônia) – Universidade federal rural da Amazônia/Embrapa Amazônia Oriental, Belém, p.205, 2013.

MULLER, A. A. **A cultura do dendê**. Belém, Embrapa-CPATU, 1980.

OLIVEIRA, A. K. M. de., GUALTIERIS, C. J. Trocas gasosas e grau de Tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (paraTudo) submetidas a alagamento, **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 181-191, jan.-mar., 2017.

PAREEK, A. et al. (Eds.). Abiotic stress adaptation in plants: physiological, **molecular and genomic foundation**. Dordrecht: Springer, 2010.

PEREIRA, L. A. R., CALBO, M. E. R; FERREIRA, C. J. Anatomy of Pneumatophore of *Mauritia vinifera* Mart. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, vol.43, no.3 Curitiba, 2000.

RIVERA-MENDES, Y. D. R., CUENCA, J. C., ROMERO, H. M. Physiological responses of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under different water soil conditions. **Agronomia Colombiana**, 34(2), 163-171, 2016.

SCREMIN-DIAS, E., LORENZ-LEMKE, A. P., OLIVEIRA, A. K. M. The floristic heterogeneity of the Pantanal and the occurrence of species with different adaptive strategies to water stress. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 71, n. 1, p. 275-282, 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. (USDA). **Oilseeds Word Markets and Trade. Foreign Agricultural Service**. Approved by the World Agricultural Outlook Board/USDA, P70, 2012.



Morphological assessments evidence that higher number of pneumatophores improves tolerance to long-term waterlogging in oil palm (*ELAEIS guineensis*) seedlings



Nara Helena Tavares da Ponte^a, Rodolfo Inacio Nunes Santos^a,
Wagner Romulo Lima Lopes Filho^a, Roberto Lisboa Cunha^b, Marcelo Murad Magalhães^b,
Hugo Alves Pinheiro^{a,*}

^a Instituto Sócioambiental e dos Recursos Hídricos, UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA, Belém, 66077-530, BRAZIL

^b LABORATÓRIO de Análise de SISTEMAS Sustentáveis, EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, Belém, 66095-903, BRAZIL

ARTICLE INFO

Edited by Hermann Heilmeyer

Keywords:

Biomass allocation
Chlorophyll fluorescence
Gas exchange
Plant morphology
Vegetative growth
Water status

ABSTRACT

Oil palm (*ELAEIS guineensis* Jacq.) apparently tolerates long-term waterlogging and numerous pneumatophores are evident morphological adaptation. The number of pneumatophores per plant is, however, quite variable. Thus we hypothesized that a higher number of pneumatophores may attenuate the stress effects on root system growth and induce higher tolerance to long-term waterlogging in oil palm seedlings. To test this hypothesis we compared morphological and physiological traits in well-watered (control) and waterlogged plants with 2–10, 30–40, 60–70, and 90–120 pneumatophores after ca. 77 days of waterlogging. Plant height was similar between control and waterlogged plants with 90–120 pneumatophores, but it was 21% lower in plants with 2–10 pneumatophores than in control. The stem diameter and bulb diameter and biomass were 16, 20 and 42% higher in waterlogged plants than in control, independent of number of pneumatophores. Similar number of leaves and leaflets were observed regardless of watering regime and pneumatophore number, but total leaflet area and leaflet biomass were higher in plants with 90–120 pneumatophores than in other plants. Root system biomass was remarkably decreased in waterlogged plants; however, such decreases were more expressive in plants with 2–10 pneumatophores. Leaf water potential, leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence were unaffected by waterlogging. Thus, we conclude that waterlogging causes few changes in seedlings' above-ground morphology but remarkably affects root system development, mainly in those plants with lower number of pneumatophores. Regardless of pneumatophores, the stressed oil palm seedlings were able to adjust their leaf water status and gas exchange to cope properly with the imposed waterlogging.

1. Introduction

Oil palm (*ELAEIS guineensis* Jacq.) is an important oil crop cultivated in tropical areas worldwide. The mesocarp and kernel oils are used in different industrial processes including food, medicine, cosmetics, lubricants, and bioenergy production (Chang, 2014; Brandão and Schoneveld, 2015; Mba et al., 2015; Ohimain and Izah, 2017). In Brazil, the oil palm plantations are predominantly found in Pará State, in which the total cultivated area in 2016 was around 198,000 ha producing about 2 million tons of coconut bunch (SEDAP, 2018). Although

most of those cultivated areas are subjected to low incidence of environmental stresses, both drought and waterlogging events may affect plant growth and fruit production. In upland areas, which are free of daily tidal, the waterlogging stress arises from a combination of high precipitation rates during the rainy season with limitations in soil water permeability. Considering that (i) the rainy season in most of oil palm cultivation areas in Pará state extends from December to June (Bastos et al., 2001; Moraes et al., 2005), (ii) systematic increases in precipitation rates during the rainy season have been observed over the last decades in different locations of Pará state (Souza et al., 2017), and

ABBREVIATIONS: *A*, net CO₂ assimilation rate; *C_i/C_a*, substomatal-to-ambient CO₂ concentration ratio; *E*, transpiration; *F_v/F_m*, maximum quantum efficiency of PSII photochemistry; *g_s*, stomatal conductance; PSII, photosystem II; *q_p*, photochemical quenching; RWC, relative water content; WUE, instantaneous water use efficiency; Φ_{PSII}, actual quantum yield of PSII electron transport; Ψ_w, leaf water potential

* Corresponding author.

E-MAIL ADDRESS: hugo.pinheiro@ufra.edu.br (H. Alves Pinheiro).

<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.11.017>

Received 12 July 2018; Received in revised form 5 November 2018; Accepted 16 November 2018

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

0367-2530/2018 © ANHUI UNIVERSITY. \$0.00/0

(iii) planting of oil palm seedlings in Amazon are performed at the beginning of the rainy season; then, it is possible that seedlings replanted to field conditions face waterlogging periods that may range from few days (short-term waterlogging) to some months (long-term waterlogging). This environmental stress may be more relevant for smallholders and family farmers, who generally do not use techniques for draining excessive soil water. Waterlogging (and flooding) also poses a problem for oil palm plantations worldwide, causing significant decreases in physiological activity, vegetative growth and yield (Henson et al., 2008; Sumarga et al., 2016; Hardanto et al., 2017; Woittiez et al., 2017).

Waterlogging may trigger different molecular and physiological disorders in plants. These include significant deterioration of plant water status (Huang et al., 1994; Gimeno et al., 2012; Rasheed-Depardieu et al., 2015) and decreases in leaf gas exchange variables, such as net CO₂ assimilation rate (*A*), stomatal conductance (*g_s*) and transpiration (*E*) (for review see Kreuzwieser and Rennenberg, 2014). Waterlogging may also lead to photoinhibition of photosystems II (PSII) and photosystem I (Ahmed et al., 2002; Gimeno et al., 2012; Yan et al., 2018), or in some cases the stress affects negatively the photochemical quenching (*q_p*) and actual quantum yield of PSII electron transport (Φ_{PSII}) without apparent photoinhibition of PSII (Jing et al., 2009). Nevertheless, the magnitude of such disorders depends on plant species, so that waterlogging-tolerant plants are endowed with morpho-anatomical adaptations to cope with low soil oxygen concentration (hypoxia) or its complete absence (anoxia). Such adaptations include aerenchymas, hypertrophied lenticels, and adventitious roots such as pneumatophores (Purnobasuki and Suzuki, 2005; Bailey-Serres et al., 2012; Bailey-Serres and Colmer, 2014; Kreuzwieser and Rennenberg, 2014; Srikanth et al., 2016). The pneumatophores are roots with negative geotropism that emerge above the water surface to take up oxygen through lenticels (Ish-Shalom-Gordon and Dubinsky, 1992; Purnobasuki and Suzuki, 2005). In general, plants showing such morpho-anatomical adaptations have only minor changes in leaf gas exchange variables and growth (for review see Kreuzwieser and Rennenberg, 2014).

In a recent report, Rivera-Mendes et al. (2016) showed that three oil palm embryogenic lines subjected to continuous waterlogging per 60 days emitted different numbers of pneumatophores marked by abundant aerenchymas. Authors also observed insignificant effects of waterlogging on leaf gas exchange variables (*A*, *g_s* and transpiration) in relation to well-watered plants, but evidenced stress-mediated decreases on leaf area, plant height and total dry weight. By contrast, Lamade et al. (1998) observed that waterlogging caused significant decreases in *g_s* and *A* and reduced total dry matter accumulation due to root death. Variable numbers of pneumatophores per plant and significant decreases in root biomass accumulation, root area and root volume were observed when four-months-old oil palms were subjected to intermittent waterlogging for two and four weeks (Firmansyah, 2017). Therefore, young oil palms can apparently tolerate long-term waterlogging; however, the stress effects on leaf gas exchange are conflicting (Lamade et al., 1998; Rivera-Mendes et al., 2016). On the other hand, since pneumatophores improve root aeration and considering that waterlogged oil palms show great variability in the number of pneumatophores growing above water surface (Rivera-Mendes et al., 2016; Firmansyah, 2017), one can hypothesize that a higher number of pneumatophores could induce higher tolerance to long-term waterlogging, attenuating the stress effects on root system growth and consequently preventing changes in plant water status and gas exchange in relation to plants with less pneumatophores. To test this hypothesis, young oil palms were subjected to continuous waterlogging by 73 days to induce pneumatophores differentiation. At the end of the stress-period, the plants were grouped according to watering-regime and number of pneumatophores emitted above water surface. Thus, physiological (leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence, and plant water status) and morphological (plant growth and biomass

allocation) variables were assessed aiming to investigate whether tolerance of oil palms to long-term waterlogging is related to (or improved by) an increasing number of pneumatophores.

2. Material and methods

2.1. PLANT MATERIAL AND growth conditions

Six-months-old seedlings of oil palm (*ELAEIS guineensis* Jacq, Arecaceae) were established in polyethylene bags (30 cm × 30 cm, height vs. diameter) filled with 5 kg substrate prepared with Yellow Latosol and oil palm residues obtained from decomposing bunches (1:8, v/v). A total of 190 seedlings were transported to the greenhouse at Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA (1° 27' 21" S, 48° 30' 14" W) and acclimated per 30 days before experimental setup. During acclimatization, all plants were daily irrigated with 500 mL water, corresponding to volume of water needed to maintain the soil at field capacity. At the end of the acclimatization period, the seedlings were uniform in above-ground morphology, with averages of plant height and stem diameter respectively of 86.5 ± 1.2 cm and 3.23 ± 0.09 cm. Then, 40 seedlings were maintained under daily irrigation to replace evapotranspired water, while 150 seedlings were placed into a polyethylene pot (30 cm × 30 cm, height vs. diameter) filled with a volume of water needed to maintain the seedlings completely submerged, with 2 cm water layer above soil surface. The volume of water in each pot was adjusted twice per day in order to maintain the water layer constant over the experimental period. The dissolved O₂ (DO) concentration in the water layer of waterlogged plants measured with a portable DO meter HI 9146 (Hanna Instruments Inc., Woonsocket, USA) was 1.97 ± 0.16 mg L⁻¹ at 27.1 ± 0.1 °C, corresponding to 26% of DO concentration (7.56 ± 0.02 mg L⁻¹) measured in a O₂-saturated water at 26.9 ± 0.3 °C. After 73 days from watering-regime differentiation, the well-watered plants showed total absence of pneumatophores, while such structures were induced in waterlogged plants (Fig. 1). Thus, the plants were distributed according to watering-regime and number of pneumatophores, forming five groups as following: group 1, corresponding to well-watered plants without pneumatophores (control); and groups 2 to 4, corresponding to waterlogged plants with 2–10, 30–40, 60–70, and 90–120 pneumatophores. Each group contained 10 plants and each plant was considered as an experimental unit. Since physiological variables are significantly influenced by diurnal variations of climatic conditions and considering the total number of plants to be evaluated in the whole experiment (50 plants, i.e. 10 plants per group), physiological and morphological evaluations were carried out in a randomized block design. This way, each experimental block contained five plants (i.e. five different groups × one plant per group) to be evaluated in the same working day. A total of 10 blocks was set up and then evaluated on 10 consecutive working days (i.e. one block per day, from day 73 up to day 82). Therefore, the mean waterlogging duration in this experiment was 77 days.

2.2. LEAF GAS EXCHANGE AND chlorophyll fluorescence

Net CO₂ assimilation rate (*A*), stomatal conductance (*g_s*), transpiration (*E*), and substomatal-to-ambient CO₂ concentration ratio (*C_i/C_a*) were determined using a portable infrared gas analyzer model LI-6400 XT (LI-COR Biosci. Inc., Nebraska, USA) set up to work with constant photosynthetic photon flux density (PPFD) of 1100 μmol photons m⁻² s⁻¹ (Suresh et al., 2012) and CO₂ flow of 400 μmol mol⁻¹. For this, one leaflet from the median portion of the third mature leaf from apices was selected as sample. Measurements were carried out between 8:30 and 10:30 h, under mean air temperature, relative air humidity, vapor pressure deficit and PPFD inside greenhouse respectively of 33.3 ± 0.9 °C, 60 ± 2%, 2.05 ± 0.21 kPa and 729 ± 38 μmol photons m⁻² s⁻¹. The instantaneous water-use efficiency (WUE) was estimated as *A/E* ratio.



Fig. 1. Aspect of oil palm seedlings after 77-days growing under well-watered (A) and waterlogging (B) conditions. The pictures focus the transition region between soil and plant stem and show absence and presence of numerous pneumatophores respectively in A and B. Pictures are representative of 10 replicates per watering regime.

Chlorophyll *A* fluorescence was determined with a fluorometer apparatus model LI-6400-40 (LI-COR Biosci. Inc., Nebraska, USA) according to Lima et al. (2002). For this, dark-adapted leaflets were illuminated with a modulated pulse ($0.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 1 s) to determine the initial fluorescence (F_0) and with a saturating pulse ($6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 0.8 s) to determine maximum fluorescence (F_m). After that, leaflets were illuminated with a continuous actinic PPFD ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 120 s) to obtain the steady-state fluorescence emission (F_s) and with saturating white light pulse ($6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 0.8 s) to determine the maximum fluorescence (F'_m). The light-adapted F_0 (i.e. F'_0) was determined using far-red illumination ($2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). From data, the following variables were calculated: maximum quantum efficiency of PSII photochemistry [$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$], photochemical quenching [$q_p = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_0)$] (Krause and Weis, 1991), and actual quantum yield of PSII electron transport [$\Phi_{\text{PSII}} = (F'_m - F_s)/F'_m$; Genty et al., 1989]. Two measurements of leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence per plant per each treatment were performed.

2.3. LEAF WATER POTENTIAL AND RELATIVE WATER content

After chlorophyll fluorescence, the same leaflet was excised and leaf water potential (Ψ_w) determined using a Scholander-type pressure chamber model 670 (PMS Instrument Co., Albany, USA) as described by Pinheiro et al. (2008). The relative water content (RWC) was estimated from 10 leaflet discs (5 mm diameter) as described in González and González-Vilar (2001).

2.4. Biometry AND BIOMASS ALLOCATION

Plant height was determined using a tape measure (fixed on a rigid wood-surface) by measuring the length between soil surface and apex of the highest leaf (Silva et al., 2017). The stem diameter was measured using a manual caliper model 3545605128 (Vonder Co., Curitiba, PR, Brazil) and number of leaves and leaflets were directly counted. After that, plant parts (leaves, stem, bulb, and root system) were properly separated. Here we considered as stem the above-ground portion of the trunk, while we termed bulb for the basal and enlarged portion of the stem from where adventitious roots are formed just below-ground (Carvalho, 2000; Corley and Tinker, 2016). Total leaflet area was determined using the ImageJ software (Schneider et al., 2012). All plant

parts were sectioned in small portions and oven dried at 72°C until constant mass to determine its respective dry matters. From data, total plant biomass (as the sum of all plant parts biomasses) and root-to-above-ground ratio (as the quotient between root system and sum of above-ground parts biomass) were calculated.

2.5. STATISTICAL ANALYSIS

All data were subjected to ANOVA (F test, $P \leq 0.05$) and mean differences between treatments were tested for significance by Tukey's test ($P \leq 0.05$). Statistical procedures were performed using R (v. 3.4.1; R Core Team, 2016).

3. Results

3.1. LEAF GAS EXCHANGE, chlorophyll fluorescence AND PLANT WATER STATUS

The waterlogging and different number of pneumatophores did not cause any significant effect on A , g_s , and E in relation to control plants (Table 1). Significant differences in C_i/C_a were observed between plants of different groups and such differences may be a response to the slight (but non-significant) variations on A and g_s between control and waterlogged plants (Table 1). WUE was similar between waterlogged plants with different number of pneumatophores ($\approx 4.66 \text{ mmol mol}^{-1}$), but it was around 16% lower than in control plants. This difference was due to the lower absolute values of E in control plants than in waterlogged ones (Table 1). Photoinhibitory and/or photooxidative damages in waterlogged plants were incipient, since F_v/F_m did not differ between well-watered and waterlogged plants. Furthermore, similar averages of q_p and Φ_{PSII} were observed between plants of all groups (Table 1). Well-watered and waterlogged plants showed non-significant differences in Ψ_w , while RWC in waterlogged plants with 60–70 and 90–120 was respectively 13 and 16% lower than in control plants (Table 1).

3.2. Above-ground morphology AND BIOMASS ALLOCATION

Plant height did not differ between control and waterlogged plants with 90–120 pneumatophores. However, the waterlogged plants with 60–70, 30–40 and 2–10 pneumatophores showed 9, 13 and 21% decreases in plant height in relation to control plants (Fig. 2A). The

Table 1

Changes in leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and water status in oil palm seedlings as a function of different watering regimes (control and waterlogging) and number of pneumatophores (0 P to 90–120 P). Data are the mean ± S.E. (n = 10). Different small letters in the same row denote significant differences between averages (Tukey's test, P ≤ 0.05).

| Variable | Control | Waterlogging | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 0P | 2–10 P | 30–40 P | 60–70 P | 90–120 P |
| A (μmol m ⁻² s ⁻¹) | 10.2 ± 0.5 a | 10.3 ± 0.6 a | 9.9 ± 0.5 a | 10.8 ± 0.4 a | 9.6 ± 0.2 a |
| g _s (mmol m ⁻² s ⁻¹) | 83 ± 10 a | 109 ± 8 a | 106 ± 11 a | 116 ± 9 a | 94 ± 5 a |
| E (mmol m ⁻² s ⁻¹) | 1.88 ± 0.15 a | 2.30 ± 0.15 a | 2.21 ± 0.18 a | 2.39 ± 0.14 a | 1.96 ± 0.13 a |
| C _i /C _a (mol mol ⁻¹) | 0.43 ± 0.04 b | 0.58 ± 0.01 a | 0.50 ± 0.04 b | 0.56 ± 0.02 a | 0.52 ± 0.02 ab |
| WUE (mmol CO ₂ mol ⁻¹ H ₂ O) | 5.56 ± 0.23 a | 4.42 ± 0.09 b | 4.85 ± 0.19 b | 4.58 ± 0.14 b | 4.77 ± 0.10 b |
| F _v /F _m | 0.82 ± 0.02 a | 0.84 ± 0.01 a | 0.78 ± 0.04 a | 0.85 ± 0.01 a | 0.82 ± 0.02 a |
| q _p | 0.25 ± 0.01 a | 0.28 ± 0.01 a | 0.27 ± 0.02 a | 0.27 ± 0.01 a | 0.24 ± 0.01 a |
| Φ _{PSII} | 0.21 ± 0.01 a | 0.21 ± 0.01 a | 0.21 ± 0.01 a | 0.20 ± 0.01 a | 0.18 ± 0.01 a |
| Ψ _w (MPa) | -1.24 ± 0.03 a | -1.36 ± 0.05 a | -1.40 ± 0.06 a | -1.42 ± 0.06 a | -1.30 ± 0.04 a |
| RWC (%) | 77 ± 1 a | 73 ± 1 ab | 72 ± 1 ab | 67 ± 1 bc | 65 ± 2 c |

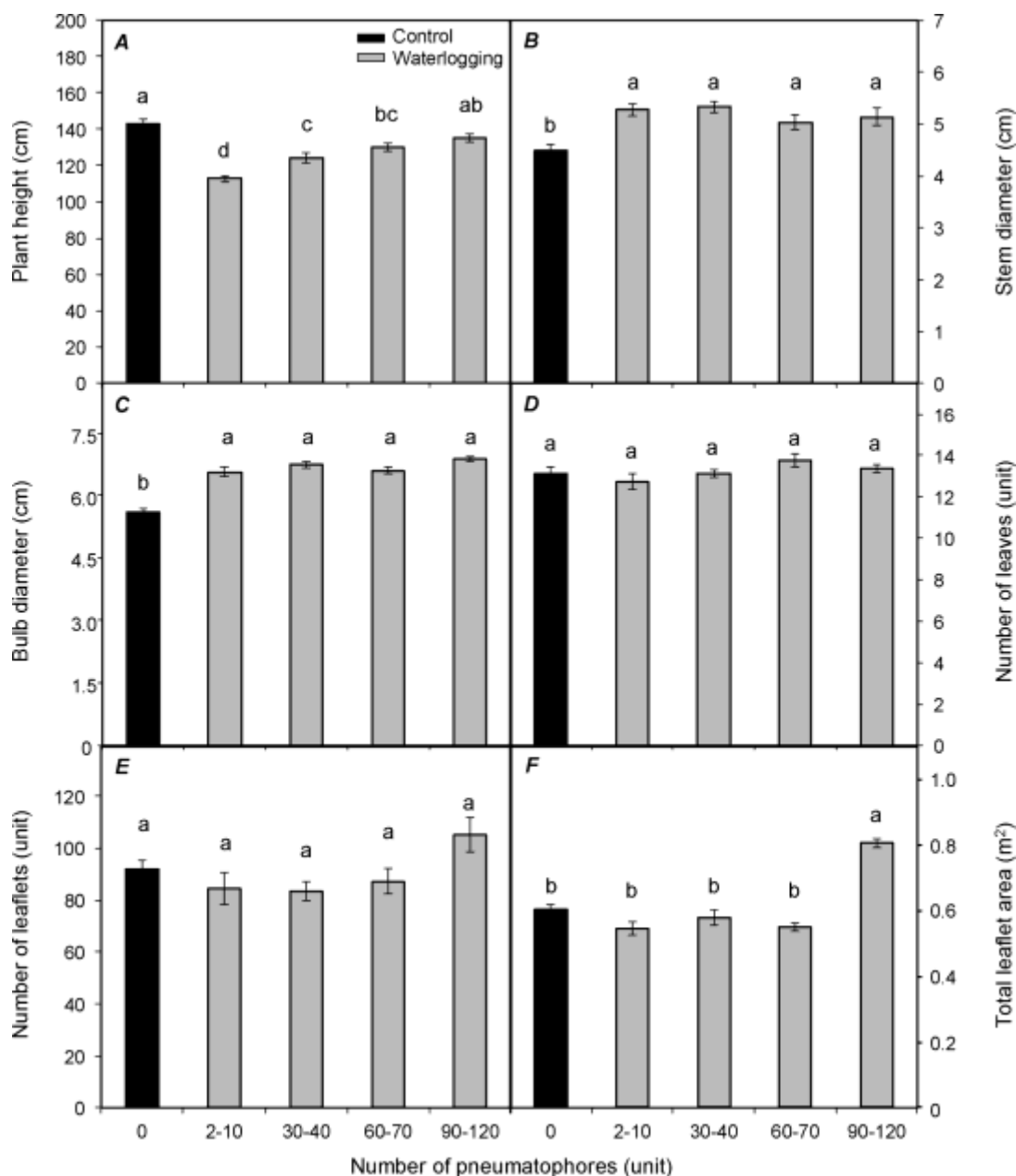


Fig. 2. Changes in above-ground morphology in oil palm seedlings as a function of watering regimes (control and waterlogging) and number of pneumatophores per plant. Data are mean ± S.E. (n = 10). Different small letters denote significant differences between averages (Tukey's test, P ≤ 0.05).

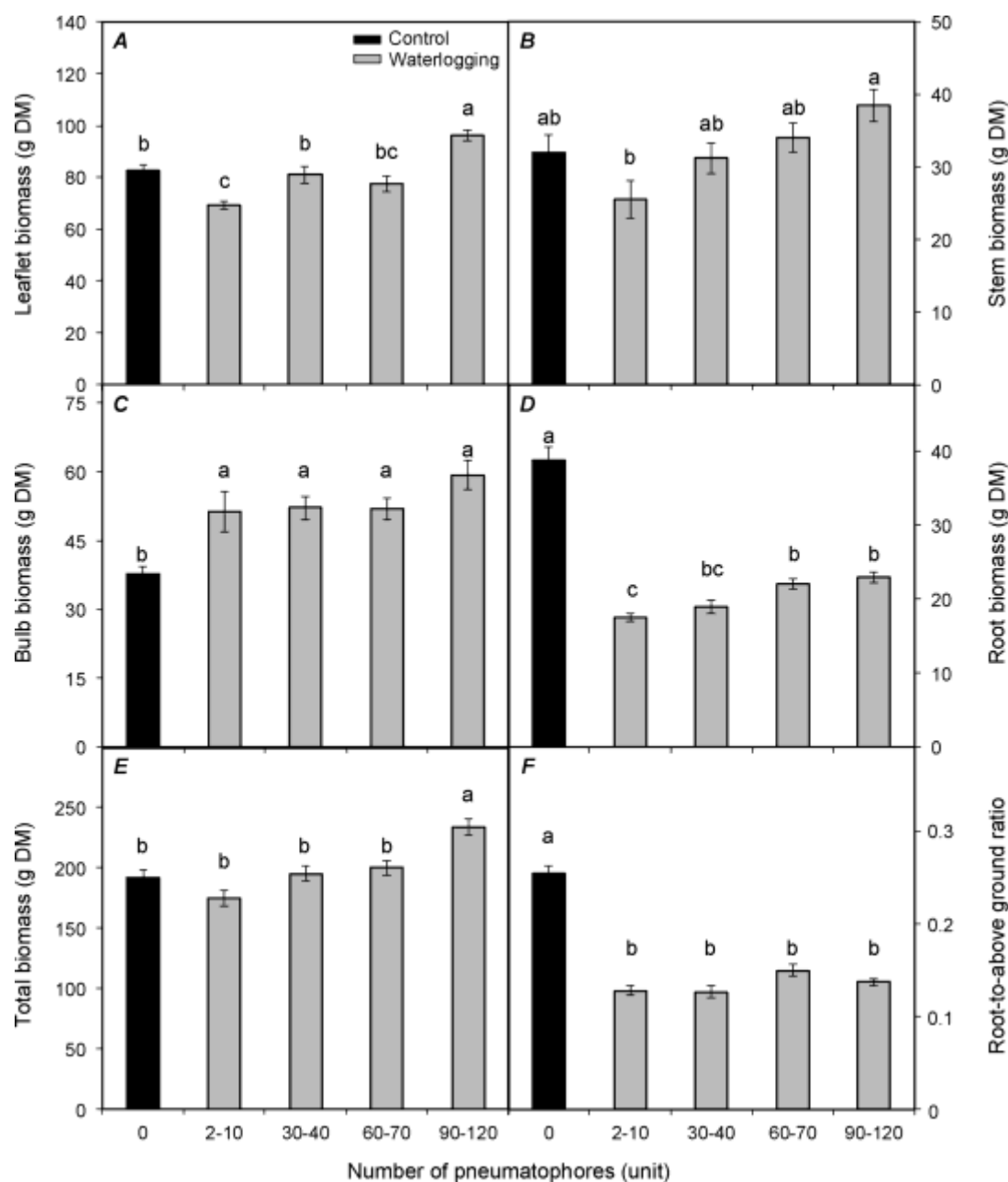


Fig. 3. Changes in biomass allocation in oil palm seedlings as a function of watering regimes (control and waterlogging) and number of pneumatophores per plant. Data are mean \pm S.E. ($n = 10$). Different small letters denote significant differences between averages (Tukey's test, $P \leq 0.05$).

waterlogged plants showed similar averages of stem and bulb diameters regardless of pneumatophores amount; however, they were respectively 16 and 20% higher in stressed plants than in control ones (Fig. 2B, C). The number of leaves and leaflets did not differ according to watering regimes and number of pneumatophores (Fig. 2D, E), but total leaflet area was 29% higher in plants with 90–120 pneumatophores than in plants from other groups (Fig. 2F).

Leaflet biomasses did not differ between control plants and those with 30–40 and 60–70 pneumatophores. In relation to control plants, this variable was respectively increased and decreased by 16% in plants with 90–120 and 2–10 pneumatophores (Fig. 3A). Significant differences in stem biomass were only observed between waterlogged plants with 90–120 and 2–10 pneumatophores, being 34% lower in the latter (Fig. 3B). Regardless of pneumatophores amount, bulb biomass was about 42% higher in waterlogged plants than in control ones (Fig. 3C). Waterlogging caused significant decreases in root system biomass;

however, relative to control plants, such decreases were more expressive in waterlogged plants with 2–10 pneumatophores (55%) than in those with 90–120 and 60–70 pneumatophores (41%, Fig. 3D). Total biomass was 22% higher in plants with 90–120 pneumatophores than in plants from other groups (Fig. 3E), while root-to-above-ground ratio was 53% higher in control plants than in waterlogged ones, independently of the pneumatophores amount (Fig. 3F).

4. Discussion

The great variability in the number of pneumatophores emitted per waterlogged oil palm seedlings was confirmed in this experiment, corroborating with data obtained for waterlogged oil palm embryogenic lines (Rivera-Mendes et al., 2016). Variable emission of pneumatophores was also observed in oil palms subjected to waterlogging with saline- and non-saline water (Firmansyah, 2017). In waterlogging-

sensitive species, the absence of such structures leads to lower root oxygenation and triggers metabolic changes that may culminate in damages to overall root system, either in response to higher rates of anaerobic respiration or in response to an overproduction of reactive oxygen species (Mittler, 2002; Kreuzwieser and Rennenberg, 2014). As a consequence, possible decreases in root hydraulic conductivity affect negatively water transport from roots to above-ground tissues and the resulting stomatal closure is related to down-regulation of A (Olmo-Vega et al., 2017). Our results showed a strong decrease in root system biomass in all waterlogged plants, which matches with early reports for other oil palm plant materials upon waterlogging conditions (Lamade et al., 1998; Firmansyah, 2017). Although the reduced root system in waterlogged plants could suggest possible problems associated with water uptake and water transport from roots to above-ground parts, our data evidenced similar Ψ_w and only few changes in RWC between plants from different groups. Then, transitory water deficit on leaves

was properly avoided and, for this reason, similar A , g_s and E between control and waterlogged plants were observed. These results confirm those previously reported by Rivera-Mendes et al. (2016) and enforce that this species is able to acclimatize its leaf metabolism to cope with the long-term waterlogging period imposed in this experiment (77 days). Furthermore, such physiological adjustments allowed the stressed plants to avoid, or at least minimize, photoinhibitory and / or photooxidative damages as evidenced by the unchanged F_v/F_m between plants from different groups.

In terms of above-ground morphology, the effects of waterlogging on plant height and some traits of stem (diameter and biomass) and leaves (amount, area and biomass) are quite diverse and depend on plant species and stress duration (Mielke et al., 2003; Medina et al., 2009; Oliveira and Joly, 2010; Du et al., 2012; Nascimento et al., 2015; Boigné et al., 2017). Here, we observed that plant height and stem biomass were affected by waterlogging in a relatively similar trend, but it is noteworthy that waterlogging effects on both variables were more properly attenuated in plants with higher number of pneumatophores (90–120) than in those with 2–10 pneumatophores. In a previous study, Rivera-Mendes et al. (2016) observed a significant decrease in plant height of waterlogged oil palm plants, which curiously presented lower number of pneumatophores (79 at most) as compared with our data. On the other hand, our results clearly evidenced that waterlogging did not cause any decrease in the number of leaves and leaflets neither in total leaflet area. Since leaf and leaflet abscission in waterlogged oil palm seedlings were unobserved throughout the experiment, one can infer that photoassimilates allocation properly supported leaf differentiation and leaflet area expansion. This morphological adjustment must be faced as an important feature accounting for waterlogging tolerance in oil palm seedlings, since an appropriated leaflet area associated with unchanged A may grant adequate synthesis of photoassimilates in stressed plants (Bailey-Serres and Voesenek, 2008; Kreuzwieser and Rennenberg, 2014). Decreases in above-ground and root system growth as a consequence of limitations in plant water status and / or net photosynthesis are generally observed in waterlogging-sensitive species (Du et al., 2012; Gimeno et al., 2012; Gonçalves et al., 2013; Olmo-Vega et al., 2017). Therefore, the maintenance of high photosynthetic rate in waterlogged oil palm seedlings must, presumably, guarantee the production of photoassimilates for cellular metabolism of leaves and other plant parts, particularly those non-photosynthetic (i.e. sink tissues). In this context, the maintenance of A may explain the few changes in above-ground growth of the stressed seedlings as compared to control plants, but it seems to be unrelated to root system biomass accumulation, which was remarkably decreased in all waterlogged plants.

The increases in bulb diameter and biomass in waterlogged oil palm plants were unrelated to the number of pneumatophores. Therefore, the increases in bulb diameter may be resulting either from increasing internal turgor pressure causing higher cell expansion as differentiation of numerous aerenchymas for root aeration (Davanso-Fabro et al., 1998). On the other hand, the increased bulb biomass in all waterlogged oil

palm seedlings suggests an enhanced carbon allocation for this plant tissue, which was certainly favored by the unchanged A in waterlogged plants. Possibly, the photoassimilates that reach to bulb and root cells are transiently stored as starch (Lamade et al., 2016; Carvalho and Ishida, 2002), playing a crucial role in providing glucose for glycolysis. Since waterlogged oil palm plants experienced hypoxic conditions in which dissolved O_2 concentration in water layer was not higher than $1.97 \pm 0.16 \text{ mg L}^{-1}$, thus one can expect a high metabolic rate of glycolysis in attempt to promote an adequate pyruvate synthesis for both anaerobic and aerobic dissimilation (Carvalho and Ishida, 2002), the latter persistent due to the low O_2 supply granted by aerenchymas and pneumatophores (Rivera-Mendes et al., 2016). It is noteworthy that lower root system biomass was observed in plants with 2–10 pneumatophores, what suggests that the lower number of pneumatophores should negatively regulate aerobic respiration and stimulate anaerobic pathways in these plants. Anyhow, the significant reduction of the root system biomass here evidenced did not compromise the plant water status (in terms of Ψ_w), leaf gas exchange and consequently the overall plant growth (in terms of total biomass).

In summary, our results allow us to conclude that long-term waterlogging (77 days) induces few changes in seedlings' above-ground morphology, but the stress remarkably affects root system development, particularly in plants with 2–10 pneumatophores. Therefore, the higher number of pneumatophores per plant contributes, to a certain extent, to attenuate the stress effects on root system development. We also conclude that lower root system biomass in waterlogged plants did not affect water uptake and transport to above-ground tissues, allowing stressed plants to maintain leaf water potential and leaf gas exchange variables at control plants level. Finally, the increased bulb diameter and biomass in waterlogged plants is a strong evidence that this plant organ may exert an important role in the tolerance of oil palm seedlings to long-term waterlogging and this issue should be addressed in more detail in future experiments.

Declarations of interest

Authors have no conflict of interest.

Author contributions

NHTP, HAP, RLC and MMM conceived and designed the experiment. NHTP performed the experiment. NHTP, RIN and WRLLF collected physiological and morphological data. NHTP, RIN and HAP performed data analysis. NHTP and HAP wrote the paper. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

Graduate scholarships to N.H.T. Ponte and W.R.L. Lopes Filho were supported by Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA, Brazil) and graduate scholarship to R.I.N. Santos was supported by (CAPES, Brazil). Authors thank Marborges Agroindustry S.A. (Moju-PA, Brazil) for the donation of oil palm seedlings used in this experiment.

References

- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., Sakuratani, T., 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Sci.* 163, 117–123.
- Bailey-Serres, J., Colmer, T.D., 2014. Plant tolerance of flooding stress – recent advances. *Plant Cell Environ.* 37, 2211–2215.
- Bailey-Serres, J., Voesenek, L.A.C.J., 2008. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 313–339.
- Bailey-Serres, J., Lee, S.C., Brinton, E., 2012. Waterproofing crops: effective flooding survival strategies. *Plant Physiol.* 160, 1698–1709.
- Bastos, T.X., Müller, A.A., Pacheco, N.A., Sampaio, S.M.N., Assad, E.D., Marques, A.F.S., 2001. Climatic risks zoning for oil palm in Pará state, Brazil. *Rev. Bras. Agrometeorol.*

- 9, 564–570.
- Boigné, A., Bureau, F., Husté, A., Levesque, S., Delorme, A., Quillet, L., Langlois, E., 2017. Effects of waterlogging levels on *Holcus LANATUS* response traits in different created topsoils. *Flora* 234, 106–118.
- Brandão, F., Schoneveld, G., 2015. The State of Oil Palm Development in the Brazilian Amazon. Working Paper 198. CIFOR, Bogor, Indonesia. <https://doi.org/10.17528/cifor/005861>.
- Carvalho, C.J.R., 2000. Ecofisiologia do dendzeiro. In: Viégas, I.J.M., Müller, A.A. (Eds.), *A cultura do dendzeiro na Amazônia brasileira*. Embrapa, Belém, pp. 89–124.
- Carvalho, C.J.R., Ishida, F.Y., 2002. Responses of young pijuayo plants (*BACTRIS GASIPAES* Kunth) to flooding. *Pesq. Agropec. Bras.* 37, 1231–1237.
- Chang, S.H., 2014. An overview of empty fruit bunch from oil palm as feedstock for bio-oil production. *Biomass Bioenergy* 62, 174–181.
- Corley, R.H.V., Tinker, P.B., 2016. *The Oil Palm*, fifth ed. Wiley Blackwell, Oxford.
- Davanso-Fabro, V.M., Medri, M.E., Edmilson, B., Pimenta, J.A., 1998. Tolerância à inundação: aspectos da anatomia ecológica e do desenvolvimento de *SESBANIA VIRGATA* (Cav.) Pers. (Fabaceae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 41, 475–482.
- Du, K., Xu, L., Wu, H., Tu, B., Zheng, B., 2012. Ecophysiological and morphological adaptation to soil flooding of two poplar clones differing in flood-tolerance. *Flora* 207, 96–106.
- Firmansyah, E., 2017. Growth and morphology of palm oil (*ELAEIS GUINEENSIS* Jacq.) root under different waterlogging salinity. *AGROISTA J. Agroteknologi* 1, 181–191.
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990, 87–92.
- Gimeno, V., Syvertsen, J.P., Simón, I., Nieves, M., Díaz-López, L., Martínez, V., García-Sánchez, F., 2012. Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. *Environ. Exp. Bot.* 78, 47–55.
- Gonçalves, J.F.C., Melo, E.G.F., Ferreira, M.J., Silva, C.E.M., Gomes, I.B., 2013. Growth, biomass partitioning and photosynthesis of young plants of *GENIPA SPRUCEANA* subjected to flooding. *Cerne* 19, 193–200.
- González, L., González-Vilar, M., 2001. Determination of relative water content. In: Roger, M.J.R. (Ed.), *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 207–212.
- Hardanto, A., Röhl, A., Niu, F., Meijide, A., Hendrayanto Hölscher, D., 2017. Oil palm and rubber tree water use patterns: effects of topography and flooding. *Front. Plant Sci.* 8, 452.
- Henson, I.E., Harun, M.H., Chang, K.C., 2008. Some observations on the effects of high water tables and flooding on oil palm, and a preliminary model of oil palm water balance and use in the presence of a high water table. *Oil Palm Bull.* 56, 4–22.
- Huang, B., Johnson, J.W., Nesmith, S., Bridges, D.C., 1994. Growth, physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to waterlogging and nutrient supply. *J. Exp. Bot.* 45, 193–202.
- Ish-Shalom-Gordon, N., Dubinsky, Z., 1992. Ultrastructure of the pneumatophores of the mangrove *Avicennia marina*. *S. Afr. J. Bot.* 58, 358–362.
- Jing, Y.X., Li, G.L., Gu, B.H., Yang, D.J., Xiao, L., Liu, R.X., Peng, C.L., 2009. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *MELALEUCA ALTERNIFOLIA* seedlings to flooding and subsequent recovery. *Photosynthetica* 47, 595–601.
- Krause, G.H., Weis, E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313–349.
- Kreuzwieser, J., Rennenberg, H., 2014. Molecular and physiological responses of trees to waterlogging stress. *Plant Cell Environ.* 37, 2245–2259.
- Lamade, E., Setiyo, E., Purba, A., et al., 1998. Gas exchange and carbon allocation of oil palm seedlings submitted to water logging in interaction with N fertilizer application. In: Jatmika, A. (Ed.), *Proc. Int. Oil Palm Conf. Commodity of the Past, Today and the Future*. Indonesian Oil Palm Research Institute, Medan, pp. 573–584.
- Lamade, E., Tcherkez, G., Darlan, N.H., Rodrigues, R.L., Fresneau, C., Mauve, C., Lamothe-Sibold, M., Sketriené, D., Ghashghaie, J., 2016. Natural ¹³C distribution in oil palm (*ELAEIS GUINEENSIS* Jacq.) and consequences for allocation pattern. *Plant Cell Environ.* 39, 199–212.
- Lima, A.L.S., DaMatta, F.M., Pinheiro, H.A., Totola, M.R., Loureiro, M.E., 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *COFFEA CANEPHORA* under water deficit conditions. *Environ. Exp. Bot.* 47, 239–247.
- Mba, O.L., Dumont, M.-J., Ngadi, M., 2015. Palm oil: processing, characterization and utilization in the food industry – a review. *Food Biosci.* 10, 26–41.
- Medina, C.L., Sanches, M.C., Tucci, M.L.S., Sousa, C.A.F., Cuzzuol, G.R.F., Joly, C.A., 2009. *ERYTHRINA SPECIOSE* (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. *Ann. Bot.* 104, 671–680.
- Mielke, M.S., Almeida, A.F., Gomes, F.P., Aguiar, M.A.G., Mangabeira, P.A.O., 2003. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *GENIPA AMERICANA* seedlings to soil flooding. *Environ. Exp. Bot.* 50, 221–231.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 9, 405–410.
- Moraes, B.C., Costa, J.M.N., Costa, A.C.L., Costa, M.H., 2005. Spatial and temporal variation of precipitation in the State of Pará. *Acta Amazon* 35, 207–214.
- Nascimento, M.E., Cunha, R.L.M., Galvão, J.R., Alves Filho, P.P.C., Nascimento, M.K.C., Cunha, R.F., Barbosa, A.V.C., 2015. Morphoanatomic and physiological aspects of *SWIETENIA MACROPHYLLA* King submitted to two flood conditions. *Rev. Agric.* 90, 237–249.
- Ohimain, E.I., Izah, S.C., 2017. A review of biogas production from palm oil mill effluent using different configurations of bioreactors. *Renew. Sustainability Energy Rev.* 70, 242–253.
- Oliveira, V.C., Joly, C.A., 2010. Flooding tolerance of *CALOPHYLLUM BRASILIENSE* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth responses. *Trees* 24, 185–193.
- Olmo-Vega, A., García-Sánchez, F., Simón-Grao, S., Simón, I., Lidón, V., Nieves, M., Martínez-Nicolás, J.J., 2017. Physiological responses of three pomegranate cultivars under flooded conditions. *Sci. Hortic.* 224, 171–179.
- Pinheiro, H.A., Silva, J.V., Endres, L., Ferreira, V.M., Câmara, C.A., Cabral, F.F., Oliveira, J.F., Carvalho, L.W.T., Santos, J.M., Santos Filho, B.G., 2008. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*RICINUS COMMUNIS* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. *Ind. Crops Prod.* 27, 385–392.
- Purnobasuki, H., Suzuki, M., 2005. Functional anatomy of air conducting network on the pneumatophores of a mangrove plant, *AVICENNIA MARINA* (Forsk.) Vierh. *Asian J. Plant Sci.* 4, 334–347.
- R Core Team, 2016. *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [ISBN3-900051-07-0]. <http://www.R-project.org>.
- Rasheed-Depardieu, C., Parelle, J., Tatin-Froux, F., Parent, C., Capelli, N., 2015. Short-term response to waterlogging in *Quercus PETRAEA* and *Quercus robur*: A study of the root hydraulic responses and the transcriptional pattern of aquaporins. *Plant Physiol. Biochem.* 97, 323–330.
- Rivera-Mendes, Y.D., Cuenca, J.C., Romero, H.M., 2016. Physiological responses of oil palm (*ELAEIS GUINEENSIS* Jacq.) seedlings under different water soil conditions. *Agron. Colomb.* 34, 163–171.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods* 9, 671–675.
- SEDAP, 2018. *Dados Agropecuários: Dendê*. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca (Accessed 04 July 2018). <http://www.sedap.pa.gov.br/dados-agropecuarias/agropecuaria>.
- Silva, P.A., Cosme, V.S., Rodrigues, K.C.B., Detmann, K.S.C., Leão, F.M., Cunha, R.L., Festucci Buselli, R.A., DaMatta, F.M., Pinheiro, H.A., 2017. Drought tolerance in two oil palm hybrids as related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth. *Acta Physiol. Plant.* 39, 58.
- Souza, E.B., Ferreira, D.B.S., Felix, J.T., Franco, V.S., Azevedo, F.T.M., Souza, P.J.O.P., 2017. Climatological rainfall patterns and trends in the rainy and dry regimes in eastern Amazon. *Rev. Bras. Climatol.* 21, 81–93.
- Srikanth, S., Kaihekulani, S., Lum, Y., Chen, Z., 2016. Mangrove root: adaptations and ecological importance. *Trees* 30, 451–465.
- Sumarga, E., Hein, L., Hooijer, A., Vernimmen, R., 2016. Hydrological and economic effects of oil palm cultivation in Indonesian peatlands. *Ecol. Soc.* 21, 52.
- Suresh, K., Nagamani, C., Kantha, D.L., Kumar, M.K., 2012. Changes in photosynthetic activity in five common hybrids of oil palm (*ELAEIS GUINEENSIS* Jacq.) seedlings under water deficit. *Photosynthetica* 50, 549–556.
- Woittiez, L.S., van Wijk, M.T., Slingerland, M., van Noordwijk, M., Giller, K.E., 2017. Yield gaps in oil palm: a quantitative review of contributing factors. *Eur. J. Agron.* 83, 57–77.
- Yan, K., Zhao, S., Cui, M., Han, G., Wen, P., 2018. Vulnerability of photosynthesis and photosystem I in Jerusalem artichoke (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.) exposed to waterlogging. *Plant Physiol. Biochem.* 125, 239–246.

3 ALAGAMENTO E NÚMERO DE PNEUMATÓFOROS POR PLANTA INDUZ ALTERAÇÕES NO PADRÃO DE CRESCIMENTO E TEORES DE CARBOIDRATOS EM PALMA DE ÓLEO

RESUMO

O acúmulo de água no solo provoca estresse por alagamento, pode ser letal para muitas espécies vegetais por reduzir as concentrações de oxigênio (O₂) no solo a níveis sub-ótimos (hipoxia) ou a sua total indisponibilidade (anoxia), acometendo inicialmente as raízes e por fim a planta como um todo. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do alagamento e do número de pneumatóforos por planta na partição de carbono, nitrogênio e carboidratos fundamentais nos tecidos drenos. Foram utilizadas 30 plantas, distribuídas em três tratamentos: Controle, que consistiu de plantas irrigadas à capacidade de campo e, por isso, não apresentaram pneumatóforos; 2-10P, que consistiu de plantas alagadas com 2-10 pneumatóforos; e 90-120P, que consistiu de plantas alagadas com 90-120 pneumatóforos. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 10 repetições por tratamento. As comparações foram realizadas após 77 dias da diferenciação dos regimes hídricos. As taxas de crescimento relativo (TCR) em diâmetro do coleto e do bulbo foram maiores nas plantas alagadas que nas plantas controle, porém, sem efeito do número de pneumatóforos. Efeitos negativos do alagamento foram observados no crescimento das raízes, sendo as reduções mais expressivas na biomassa de sistema radicular observada nas plantas com menos pneumatóforos. As porcentagens de carbono não foram influenciadas pelos tratamentos, enquanto uma diminuição na porcentagem de nitrogênio na estipe e no bulbo foi observada nas plantas alagadas com mais pneumatóforos em relação aos controles. As concentrações de sacarose foram maiores no bulbo, raízes e pneumatóforos que na estipe. As concentrações de glicose na estipe e no bulbo foram maiores nas plantas alagadas com mais pneumatóforos. As concentrações de frutose foram claramente maiores na estipe e no bulbo que nas raízes e pneumatóforos, tendendo a ser maior nas plantas com 90-120P. As concentrações de amido foram expressivamente menores nos pneumatóforos que nos demais órgãos das plantas e foi observado que o teor de amido no bulbo e nas raízes foi menor nas plantas com 90-120P que nas plantas controle. Do exposto, conclui-se que o alagamento afetou o crescimento e alterou as concentrações de nitrogênio e carboidratos fundamentais, com uma influência limitada do número de pneumatóforos.

Palavra-chave: açúcares solúveis, crescimento relativo, *Elaeis guineensis*, hipoxia.

ABSTRACT

Soil water accumulation causes flooding stress, can be lethal for many plant species by reducing soil oxygen (O₂) concentrations to suboptimal levels (hypoxia) or their total unavailability (anoxia), initially affecting the roots and finally the plant as a whole. The objective of this work was to evaluate the effect of flooding and number of pneumatophores per plant on carbon, nitrogen and fundamental carbohydrate partitioning in the drainage tissues. Thirty plants were used, distributed in three treatments: Control, which consisted of plants irrigated to field capacity and, therefore, did not present pneumatophores; 2-10P, which consisted of flooded plants with 2-10 pneumatophores; and 90-120P, which consisted of flooded plants with 90-120 pneumatophores. The experimental design was randomized blocks with 10 replications per treatment. Comparisons were made after 77 days of water regime differentiation. Relative growth rates (TCR) in stem and bulb diameter were higher in flooded plants than in control plants, but without effect on the number of pneumatophores. Negative effects of flooding were observed on the root growth, being the most significant reductions in root system biomass observed in the less pneumatophorous plants. Carbon percentages were not influenced by treatments, while a decrease in the percentage of nitrogen in the stem and bulb was observed in flooded plants with more pneumatophores compared to controls. Sucrose concentrations were higher in bulb, roots and pneumatophores than in the stem. Stem and bulb glucose concentrations were higher in flooded plants with more pneumatophores. Fructose concentrations were clearly higher in the stem and bulb than in roots and pneumatophores, tending to be higher in plants with 90-120P. Starch concentrations were significantly lower in pneumatophores than in other plant organs and it was observed that starch in the bulb and roots was lower in 90-120P plants than in control plants. From the above, it can be concluded that flooding affected growth and altered the concentrations of nitrogen and fundamental carbohydrates, with a limited influence on the number of pneumatophores.

Keywords: Soluble sugars, relative growth, *Elaeis guineensis*, hypoxia.

3.1 Introdução

O acúmulo de água no solo provoca estresse por alagamento, temporário ou prolongado, o qual pode ser letal para muitas espécies vegetais por reduzir as concentrações de oxigênio (O_2) no solo a níveis sub ótimos (hipoxia) ou a sua total indisponibilidade (anoxia), acometendo inicialmente as raízes e por fim a planta como um todo (VOESENEK E BAILEY-SERRES, 2013). Na zona de raiz, o déficit de O_2 é frequentemente acompanhado de uma maior mobilização de fitotoxinas, consequentemente ocasionando alterações no metabolismo das raízes, na aquisição de nutrientes e, portanto, no crescimento das mesmas (VOESENEK E BAILEY-SERRES 2013; BAILEY-SERRES E COLMER, 2014). Com a alteração do metabolismo nas células radiculares, em especial a diminuição da respiração aeróbica e indução da fermentação (DREW, 1997), muitas espécies vegetais sob alagamento apresentam significativa perda de raízes, tanto pela menor capacidade de induzir a formação de novas raízes quanto pela morte das raízes existentes (BAILEY-SERRES E COLMER, 2014).

De acordo com a magnitude dos danos no sistema radicular, uma série de efeitos fisiológicos e morfológicos podem ser observados também na parte aérea. Assim, plantas sob alagamento podem apresentar reduções na taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração (MURUGESAN E VELAYUTHAM, 2017) alterações na síntese e partição de carboidratos e paralisação do crescimento da parte aérea em altura, no número de folhas e redução na massa seca de raízes (SILVEIRA et al., 2015).

Algumas plantas submetidas ao alagamento induzem a síntese de amilases nas raízes devido a hipoxia, provocando a conversão de amido em glicose (BAILEY-SERRES E VOESENEK, 2008). Além de causar redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes, diminuindo seu crescimento e suas atividades metabólicas, que passam a demandar menor quantidade de carboidratos, acumulando os fotoassimilados nas folhas (SILVEIRA et al., 2015). Dessa forma, a sobrevivência das plantas depende, dentre outros fatores, da sua capacidade de crescimento e distribuição de nutrientes inorgânicos, água e fitormônios para os ramos e outros drenos (SILVEIRA et al., 2015).

Maiores teores de carboidratos seguidos por aumentos na taxa de fermentação nas raízes, em função de incrementos na atividade das enzimas álcool desidrogenase e piruvato descarboxilase foram os fatores que conferiram tolerância em três cultivares de soja submetidas aos estresse por alagamento em diferentes estágios de desenvolvimento (FANTE et al., 2010). Em plantas alagadas de *Guazuma ulmifolia*, foi observado que a disponibilidade de amido radicular não foi alterada em relação às plantas não alagadas, indicando que o estresse não gerou a necessidade da utilização desta fonte de carboidratos, o que pode ter ocorrido devido a uma produção satisfatória de fotoassimilados nas folhas os quais foram translocados às raízes (RIBEIRO, 2018).

Em palma de óleo, o alagamento pode provocar danos muitas vezes fatais. Porém, esses danos irão depender da duração da inundação, da temperatura e da percentagem de oxigênio presente no solo (CORLEY E TINKER, 2015). Sob alagamento, plantas de palma de óleo apresentam diminuição acentuada na biomassa do sistema radicular (LAMADE et al., 1998; FIRMANSYAH, 2017). Apesar disto, modificações morfológicas são induzidas para melhorar a adaptação das plantas de palma de óleo ao estresse, através de raízes que ajudam na captação do O₂ atmosférico (RIVERA-MENDES et al., 2016). Como exemplo, plantas de palma de óleo submetidas a 21 dias de alagamento apresentaram um número variado de pneumatóforos (14-60 por planta) (FIRMANSYAH, 2017). Em três materiais vegetais de palma de óleo submetidos ao alagamento por 60 dias, foi observado o aparecimento de 8 a 79 pneumatóforos por planta juntamente com os aerênquimas radiculares, fazendo com que essas plantas mantivessem inalteradas as variáveis fisiológicas de fotossíntese, condutância estomática e transpiração (RIVERA-MENDES et al., 2016).

A indução de um número variável de pneumatóforos por planta (de 2 a 120) foi também observada em plantas jovens de palma de óleo submetidas ao alagamento por 77 dias (PONTE et al., 2019). Neste estudo, os autores demonstraram que os efeitos negativos do estresse no crescimento do sistema radicular, que diminui em massa seca em todas as plantas sob alagamento, não ocasionaram quaisquer alterações no potencial hídrico foliar, trocas gasosas e fluorescência da clorofila. Portanto, os danos ao sistema radicular não devem ter ocasionado problemas expressivos na absorção e transporte de água da raiz para a parte aérea das plantas (PONTE et al., 2019). Por outro lado, os autores observaram que o alagamento induziu um aumento na massa seca da estipe e bulbo das plantas alagadas, o que sugere que estes órgãos devam acumular mais carboidratos como estratégia de sobrevivência ao estresse.

Assim, este trabalho testou a hipótese de que o padrão de alocação de biomassa e de carboidratos fundamentais nos tecidos drenos (estipe, raízes e pneumatóforos) é influenciado pelo alagamento e pelo número de pneumatóforos observados por planta. Então, plantas de palma de óleo sob irrigação plena à capacidade de campo (tratamento controle) e plantas alagadas com diferentes números de pneumatóforos serão comparadas com os objetivos específicos de avaliar possíveis alterações no padrão de partição de carbono e nitrogênio e nas concentrações de carboidratos fundamentais (sacarose, glicose, frutose e amido) nos tecidos drenos.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Material vegetal e condições de crescimento

Foram utilizadas 200 mudas de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq., Arecacea) da variedade Tenera, de seis meses de idade, uniformes em altura (~ 30 cm) e número de folhas (~ 10 folhas) as quais foram selecionadas a partir de um viveiro de mudas (1°58'42"S e 48°36'50"W, Moju-PA, Brasil). Essas plantas foram produzidas a partir de sementes, em sacos de polietileno de 5L, preenchidos com uma mistura de latossolo amarelo e material orgânico (cachos de palma de óleo decomposto) na proporção 8:1 (v/v). As plantas foram transportadas para casa de vegetação com sombrite de 50% (Embrapa Amazônia Oriental, 1° 27' 21" S e 48°30'14" W, Belém-PA, Brasil) e aclimatadas por 30 dias antes da instalação do experimento.

Durante a aclimação, cada planta foi irrigada diariamente 500 mL de água, volume este determinado para manter o solo à capacidade de campo de acordo com a metodologia utilizada por KLAR et al. (1966).

Para a instalação do experimento, foi necessário primeiramente induzir a formação de pneumatóforos nas plantas, o que é decorrente do estresse por alagamento (RIVERA-MENDES et al., 2016). Então, enquanto 150 plantas foram submetidas ao estresse por alagamento total do solo, induzido por meio da submersão das plantas em vasos de polietileno de 15 L (30 × 30 cm, altura vs. diâmetro) preenchidos com um volume de água suficiente para manter uma lâmina de 2 cm de água acima da superfície do solo. Para efeito de comparação, 50 plantas de palma de óleo foram irrigadas diariamente à capacidade campo e, desta forma, mantida sem qualquer estresse. Após 77 dias da diferenciação dos regimes hídricos, as plantas sob alagamento apresentaram um número bastante variável de pneumatóforos lançados acima da superfície da lâmina de água, enquanto as plantas irrigadas à capacidade de campo não apresentaram pneumatóforos. A partir desta observação, o experimento definitivo foi instalado com os seguintes tratamentos: Controle, o qual consistiu de plantas plenamente irrigadas à capacidade de campo e com ausência completa de pneumatóforos (0P), plantas alagadas que apresentavam de dois a dez pneumatóforos (2-10P) e plantas alagadas que apresentavam de 90 a 120 pneumatóforos. Cada tratamento contou com 10 repetições, sendo uma planta considerada repetição experimental. As comparações entre os três tratamentos foram realizadas entre os dias experimentais 73 e 83, em blocos ao acaso, devido a impossibilidade de avaliar todas as plantas em um único dia de trabalho. Portanto, cada bloco foi formado por uma planta de cada tratamento. Os tratamentos foram comparados pelas variáveis morfológicas e bioquímicas especificadas abaixo:

3.2.2 Taxas de crescimento relativo

Foi realizada uma caracterização inicial do lote de plantas antes da aplicação do estresse, que consistiu na determinação da altura, diâmetro do coleto, diâmetro do bulbo, área foliar total (AFT), massa seca de folhas, estipe, bulbo e raízes. Estas variáveis foram novamente determinadas ao final do experimento, para os três tratamentos, e então as taxas de crescimento relativo (TCR) foram calculadas como:

$$TCR = (\ln X - \ln Y) / T_f - T_i$$

Em que: X - valor da variável de interesse no tempo final
 Y - valor da variável de interesse no tempo inicial
 T_f - tempo final
 T_i - tempo inicial

3.2.3 Massa seca de pneumatóforos

Os pneumatóforos, quando presentes, foram removidos das plantas e submetidos a secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 65 °C até massa constante para obtenção da massa seca correspondente.

3.2.4 Teores de carbono e nitrogênio

A análise de determinação do carbono total e nitrogênio total nas diferentes partes da planta foi realizada pelo método de combustão seca em analisador elementar CHN (2400 Series II CHNS/O Analyser, PerkinElmer do Brasil, São Paulo, Brasil). As amostras de tecido vegetal (3 mg MS, pesadas em balança analítica com precisão de 0,00001 g) foram acondicionadas e seladas em cápsulas de estanho, sendo incineradas a temperatura aproximada de 950 °C, por 5 min, em um tubo de quartzo de combustão na presença de O₂ (pureza de 99,9998%). Após a combustão, toda a matéria orgânica foi convertida em CO₂, cuja concentração foi detectada por sensor a infravermelho, relacionando-a automaticamente com a quantidade de carbono elementar existente na amostra, através de estequiometria Carmo E Silva (2012) E o manual de utilização do aparelho.

3.2.5 Determinação de açúcares solúveis e amido

Amostras foliares (100 mg MS) foram submetidas a extração etanólica (TRETHERWEY et al., 1998) e após centrifugação (13.000 g, por 10 min a 4 °C) o sobrenadante foi utilizado para as determinações de glicose, frutose e sacarose. O precipitado foi congelado (- 80 °C) para posterior determinação das concentrações de amido. As concentrações foliares de glicose, frutose e sacarose foram determinadas de acordo com Stitt et al. (1989), com algumas modificações. A mistura de reação (100 µL) continha tampão imidazol 100 mM/ MgCl₂ 5 mM (pH 6,9), NAD⁺ 2 mM, ATP 1 mM, 2 U glicose-6-fosfato desidrogenase e 5 µL de extrato etanólico. As determinações de glicose, frutose e sacarose foram avaliadas pela adição de hexocinase (2 U), glicose-6-fosfato isomerase (2 U) e invertase (2 U), respectivamente. Após a adição de cada enzima, a produção de NADH foi acompanhada a 340 nm utilizando-se um leitor de microplacas (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, EUA).

Para a determinação do amido, os sedimentos congelados obtidos a partir de extrato etanólico foram solubilizados em 1 mL de etanol absoluto e incubados por 20 min a 80 °C. Após centrifugação (12.000 g, por 5 min a 4 °C), o sobrenadante foi descartado e o resíduo foi solubilizado em 1 mL de KOH 0,2 M e incubado por 60 min a 90 °C. Os sobrenadantes obtidos após a centrifugação (12.000 g, por 5 min a 4 °C) foram neutralizados com ácido acético (TRETHERWEY et al., 1998) e, em seguida, uma alíquota do extrato neutralizado (20 µL) foi incubada por 60 min a 55 °C em uma mistura de reação contendo (30 µL de citrato de sódio 0,3M/ tampão de cítrico 0,3M pH 4,6), 10 µL amiloglucosidase (correspondente a 2 U) e 240 µL de água destilada. Após a hidrólise, o teor de glicose resultante foi analisado pelo método já descrito acima e a concentração de amido nas amostras foi estimada em equivalentes de glicose.

3.2.6 Análises estatísticas

Após verificar a normalidade dos dados (teste de Shapiro-Wilk), foi aplicada a ANOVA considerando os três tratamentos (controle 0P, alagamento 2-10P e alagamento 90-120P) dispostos em blocos ao acaso (dez blocos no total). As diferenças entre médias de tratamentos para cada variável foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) utilizando-se o software R* (versão 3.4.1; R Core Team 2016).

3.3 Resultados

3.3.1 Taxas de crescimento relativo e massa seca de pneumatóforos

A TCR calculada para algumas variáveis relacionadas a morfologia da parte aérea da planta foram influenciadas significativamente pelo alagamento e pelo número de pneumatóforos apresentados pelas plantas. A TCR em altura não diferiu entre plantas controle e alagadas com 90-120 P, enquanto nas plantas com 2-10P esta variável foi reduzida em 46% em relação ao tratamento controle (Fig. 1A). A TCR em diâmetro do coleto foi, em média, 33% maior nas plantas alagadas (independente do número de pneumatóforos) que nas plantas controle (Fig. 1B). Levando em consideração o diâmetro do bulbo, a TCR nas plantas alagadas com 2-10P e 90-120P aumentaram em 30 e 71% respectivamente em relação às plantas 0P (Fig. 1C). A TCR em termos de AFT foi 10 e 15% maior nas plantas alagadas com 90-120P em relação as plantas 0P e 2-10P, respectivamente (Fig. 1D).

O alagamento e número de pneumatóforos por planta alterou significativamente a TCR calculada para acúmulo de massa seca nos tecidos drenos das plantas (Fig. 1E-H). A TCR para massa seca de folhas nas plantas alagadas com 90-120P não diferiu das plantas controle (0P), mas foi 29% maior em comparação às plantas alagadas com 2-10P (Fig. 1E). A TCR para massa seca de estipe foi 40% maior nas plantas alagadas com 90-120P que nas plantas alagadas com 2-10P (Fig. 1F). As plantas alagadas com 90-120P apresentaram um aumento significativo de 29% na TCR de massa seca de bulbo em relação às plantas controle (0P), enquanto nas plantas alagadas com 2-10P esta variável não diferiu dos demais tratamentos (Fig. 1G).

Uma redução expressiva na TCR de raízes foi observada nas plantas alagadas independentemente do número de pneumatóforos (Fig. 1H). Contudo, em relação ao controle, essas reduções foram de 73% nas plantas alagadas com 2-10P e de 46% nas plantas alagadas com 90-120P, indicando que o número de pneumatóforos por planta influenciou expressivamente nesta variável (Fig. 1H).

A massa seca de pneumatóforos foi 67 % maior nas plantas alagadas com 90-120P que nas plantas alagadas com 2-10P (Fig. 2), evidenciando que um maior número

de pneumatóforos é correspondente a um maior acúmulo de massa seca nessas estruturas.

3.3.2 Teores de carbono (C) e nitrogênio (N)

Os teores de C no estipe e no bulbo não diferiram entre plantas controle e alagadas, independente do número de pneumatóforos (Tabela 1). O teor de carbono nos pneumatóforos foi sensivelmente maior (3,5%) nas plantas alagadas com 90-120P que nas plantas alagadas com 2-10P (Tabela 1).

O teor de N no estipe das plantas alagadas com 90-120P foi reduzido em 32% em relação às plantas controle, enquanto diferenças significativas entre plantas controle e 2-10P não foram observadas (Tabela 1). Em relação ao bulbo das plantas controle, os teores de N nas plantas alagadas com 2-10P e 90-120P foram reduzidos respectivamente em 19 e 41% (Tabela 1). Nas raízes, o teor de N nas plantas alagadas com 2-10P foi 13% maior que nas plantas controle e 15% maior que nas plantas alagadas com 90-120P (Tabela 1). Nos pneumatóforos, o teor de N foi 10% maior nas plantas alagadas com 2-10P em relação àquelas com 90-120P (Tabela 1).

3.3.3 Concentrações de carboidratos

A concentração de sacarose no estipe foi 30% maior nas plantas alagadas com 2-10P que nos demais tratamentos (Fig. 3A). Não houve diferença na concentração de sacarose no bulbo e nos pneumatóforos, mas a concentração deste açúcar nas raízes foi, em média, 26% maior nas plantas alagadas (independente do número de pneumatóforos) que nas plantas controle (Fig. 3A).

A maior concentração de glicose no estipe foi observada nas plantas alagadas com 90-120P, cuja média foi 30% maior que nas plantas controle e 59% maior que nas plantas alagadas com 2-10P (Fig. 3B). A concentração de glicose no bulbo foi similar entre plantas controle e plantas com 2-10P, mas foi 69% maior nas plantas alagadas com 90-120P (Fig. 3B). Nas raízes, a concentração de glicose foi reduzida em 55% pelo alagamento, independentemente do número de pneumatóforos por planta (Fig. 3B). Não

houve diferença na concentração de glicose nos pneumatóforos de plantas alagadas (Fb. 3B).

A concentração de frutose não diferiu entre plantas controle e alagadas com 90-120P, porém, a concentração deste açúcar foi 34% superior que nas plantas alagadas com 2-10P (Fig. 3C). No bulbo, a média das plantas alagadas com 90-120P foi 37% maior que nas plantas alagadas com 2-10P e 25% maior que as plantas controle (Fig. 3C). Não houve diferença na concentração de frutose nas raízes independentemente do regime hídrico e número de pneumatóforos (Fig. 3C). O número de pneumatóforos por planta não influenciou a concentração de frutose (Fig. 3C).

A concentração de amido no estipe foi similar entre plantas controle e alagadas, independentemente do número de pneumatóforos (Fig. 3D). Porém, no bulbo, a média do teor de amido nas plantas controle foi 52% maior que nas plantas alagadas com 90-120P e 16% maior que nas plantas alagadas 2-10P (Fig. 3D). A média de concentração de amido nas raízes das plantas controle foi 26% maior que nas plantas alagadas com 90-120P e 14% maior que nas alagadas de 2- 10P (Fig. 3D). Nos pneumatóforos a concentração de amido foi 52% maior nas plantas de alagadas com 2-10P que nas plantas alagadas com 90-120P (Fig. 3D).

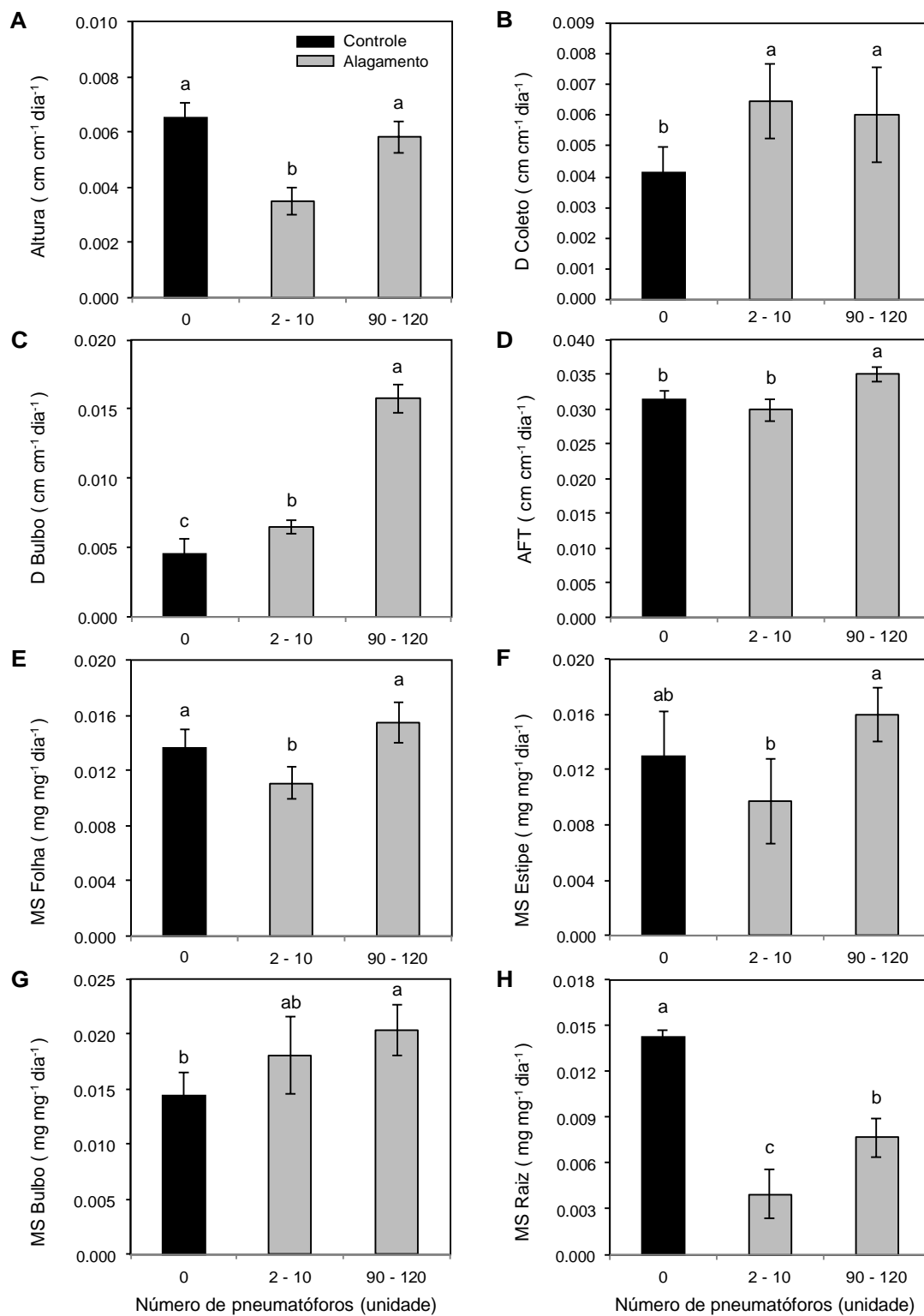


Fig. 1. Taxas de crescimento relativo em altura (A), diâmetro do coleto (D Coletto, B) e do bulbo (D Bulbo, C), área foliar total (AFT, D), massa seca de folha (MS Folha, E), de estipe (MS Estipe, F), de bulbo (MS Bulbo, G) e de raiz (MS Raiz, H) em plantas de palma de óleo em função do regime hídrico (controle e alagamento) e número de pneumatóforos por planta. Os dados são a média \pm DP ($n = 10$). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre médias (teste de Tukey, $P \leq 0.05$).

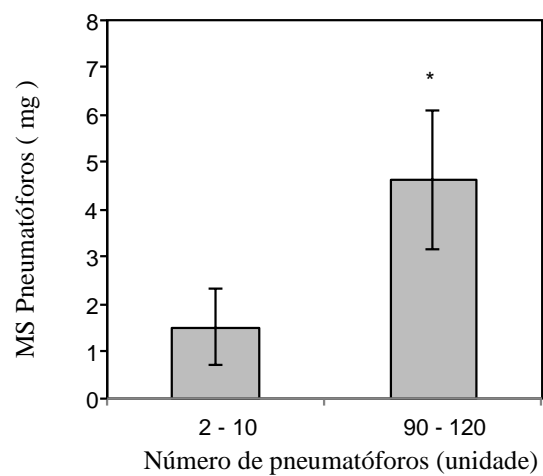


Fig. 2. Acúmulo de massa seca de pneumatóforos em plantas alagadas de palma de óleo com 2 a 10 ou 90 a 120 pneumatóforos. Os dados são a média \pm DP (n = 10). O asterisco (*) denota diferença significativa entre médias dos tratamentos (teste *F*, $P \leq 0.05$).

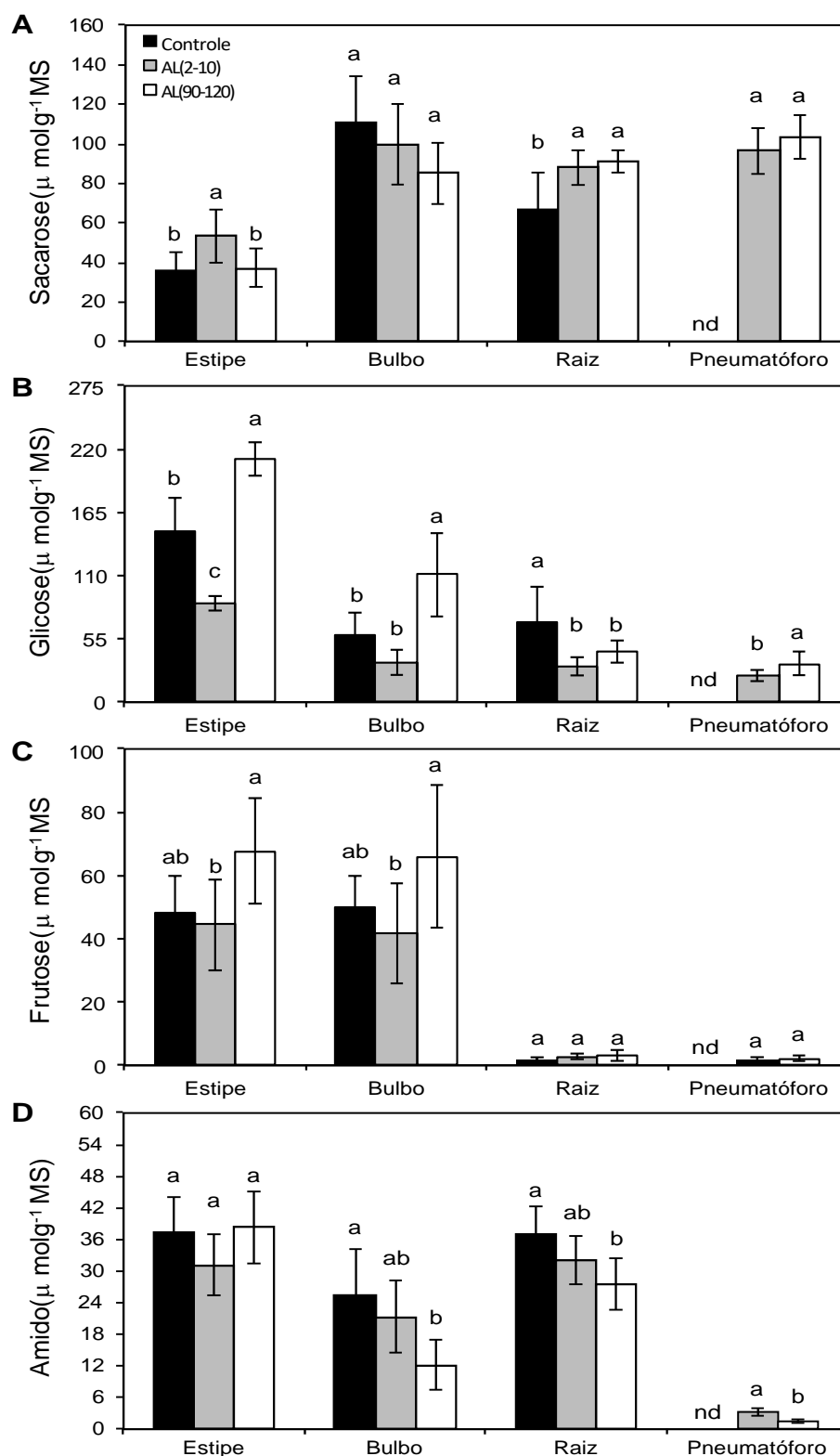


Fig. 3. Concentrações de sacarose (A), glicose (B), frutose (C) e amido (D) em diferentes tecidos drenos de plantas de palma de óleo submetidas a dois regimes hídricos (Controle e Alagamento, AL) e com diferentes números de pneumatóforos (zero, P 0; de 2 a 10 pneumatóforos, 2 – 10 P; e de 90 a 120 pneumatóforos, 90 – 120 P) por planta. Os dados são a média \pm DP (n = 10). Diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas entre médias para um dado carboidrato comparado na mesma parte da planta (teste de Tukey, $P \leq 0.05$).

Tabela 1. Concentrações de carbono e nitrogênio em diferentes tecidos drenos de plantas de palma de óleo submetidas a dois regimes hídricos (Controle e Alagamento, AL) e com diferentes números de pneumatóforos (zero, P0; de 2 a 10 pneumatóforos, P 2-10; e de 90 a 120 pneumatóforos, P 90-120) por planta.

| Elemento | Partes da Planta | Tratamentos | | |
|----------------|------------------|----------------|---------------|----------------|
| | | Controle (0 P) | AL (2 -10 P) | AL (90 -120 P) |
| Carbono (%) | Estipe | 40,0 ± 0,6 a | 40,5 ± 0,56 a | 40,4 ± 0,4 a |
| | Bulbo | 39,0 ± 0,8 a | 39,6 ± 0,41 a | 39,7 ± 0,6 a |
| | Raiz | 40,0 ± 2,8 a | 39,7 ± 0,75 b | 40,5 ± 1,0 ab |
| | Pneumatóforo | n.d. | 37,7 ± 4,74 b | 39,1 ± 6,3 a |
| Nitrogênio (%) | Estipe | 2,12 ± 0,35 a | 1,86 ± 0,36 a | 1,44 ± 0,31 b |
| | Bulbo | 2,55 ± 0,34 a | 2,08 ± 0,40 b | 1,50 ± 0,27 c |
| | Raiz | 2,38 ± 0,37 ab | 2,74 ± 0,26 a | 2,32 ± 0,31 b |
| | Pneumatóforo | n.d. | 1,86 ± 0,11 a | 1,67 ± 0,20 b |

*Os dados são a média ± DP (n=10). Diferentes letras minúsculas na linha denotam diferenças significativas entre médias dos tratamentos (teste de Tukey, $P \leq 0.05$). n.d. significa não determinado.

3.4 Discussão

Para muitas espécies vegetais, o crescimento da parte aérea e raízes é significativamente reduzido pelo alagamento principalmente em resposta a uma acentuada morte de raízes, a qual prejudica a absorção e transporte de água e nutrientes (BATISTA et al., 2008). Como exemplo, as reduções nos teores de clorofila total, N orgânico, P e principalmente K nos tecidos foliares e na biomassa de raízes foram observados em plantas alagadas de *Bactris gasipaes* (CARVALHO E ISHIDA, 2002). Uma diminuição da área foliar foi observada em plantas alagadas de *Genipa spruceana* (GONÇALVES et al., 2012) e um menor número de folhas foi computado em *Vitex cymosa* em resposta ao alagamento (RIBEIRO, 2014).

Neste experimento, os resultados demonstraram que o número de pneumatóforos por planta em resposta ao alagamento exerceu uma influência parcial no padrão de crescimento da parte aérea, atenuando, em partes, os efeitos negativos do estresse no crescimento da planta. Esta inferência é suportada pela maior TCR em altura, diâmetro do bulbo, AFT e MS de folhas e estipe apresentada pelas plantas alagadas com maior número de pneumatóforos (90-120P) em relação àquelas com menor frequência dessas estruturas. Portanto, os efeitos negativos do estresse por alagamento no crescimento das plantas de palma de óleo foram atenuados pelo maior número de pneumatóforos por planta, confirmando nossos resultados prévios que demonstraram o efeito do estresse e número de pneumatóforos por planta no acúmulo de biomassa das partes da planta (PONTE et al., 2019).

De acordo com os padrões de crescimento em massa seca de estipe e bulbo encontrados, pode-se sugerir que estes órgãos exerçam alguma função de reserva de carboidratos, como sugerido por Ponte et al. (2019). O estipe das plantas alagadas de palma de óleo com mais pneumatóforos apresentou maior crescimento que aquelas com menos pneumatóforos, o que pode indicar um papel indireto dessas estruturas em induzir um acúmulo de carboidratos no estipe. No entanto, independente do número de pneumatóforos, o bulbo das plantas alagadas deve funcionar também como órgão de reserva, pois a TCR foi maior nas plantas alagadas do que nas plantas controle. No bulbo, os tecidos tem constituição maciça, que nas palmeiras encerram o meristema apical, o qual é uma região de intensa atividade respiratória e de grande demanda energética (CARVALHO E ISHIDA, 2002). Esse aumento nos tecidos do bulbo

também foi apresentado por plantas alagadas de *Bactris gasipaes* (CARVALHO E ISHIDA, 2002) e em plantas alagadas de *Lithraea molleoides* foi observado um alongamento na base do caule (MEDRI et al., 2007).

Em geral, a redução no crescimento das raízes é o principal efeito negativo do estresse por alagamento. Isto se deve a menor oxigenação dos tecidos, o que ocasiona um aumento na respiração anaeróbica (KREUZWIESER E RENNENBERG, 2014). Além disso, como muitos assimilados que chegam às raízes são consumidos via fermentação, a diminuição expressiva da respiração aeróbica reduz a síntese de ATP necessária ao metabolismo (BAILEY-SERRES E COLMER, 2014). Dessa forma, menor quantidade de energia (ATP) influencia negativamente o crescimento celular, o qual depende de sucessivos ciclos de divisão (TAIZ E ZEIGER, 2017).

Neste presente experimento, as plantas de palma de óleo submetidas ao alagamento apresentaram reduções na TCR calculada em massa seca de raízes, mas quanto maior a quantidade de pneumatóforos na planta, menos expressivo foi o efeito do estresse no crescimento das raízes. Em razão do maior número de pneumatóforos, ocorreu uma maior difusão de oxigênio para as raízes, diminuindo assim a fermentação nas mesmas, aumentando a respiração aeróbica nessa região, aumentando a síntese de ATP para as atividades metabólicas. Assim, a formação dos pneumatóforos em plantas de *E. guineensis* e outras palmeiras alagadas é uma importante adaptação para minimizar os danos causados pela baixa concentração de O₂ (CORLEY E TINKER, 2015).

Comparativamente, Rivera-Mendes et al. (2016) demonstraram que plantas de palma de óleo apresentaram uma frequência variável de pneumatóforos por planta quando submetidas ao alagamento por 60 dias, mas, os autores não fizeram qualquer inferência sobre a frequência de pneumatóforos por planta e seu efeito em levar a uma maior tolerância ao estresse. Em palmeiras como *Copernicia prunifera* (ARRUDA e CALBO, 2004) e *Mauritia vinifera* (CALBO et al., 1998) não sofreram com perdas na parte aérea em detrimento do alagamento devido o aumento da porosidade das raízes.

Em termos fisiológicos, plantas de palma de óleo submetidas ao alagamento não apresentaram alterações nas trocas gasosas e nem no potencial hídrico e em variáveis fluorescência da clorofila (RIVERA-MENDES et al., 2016). Assim, embora o alagamento tenha induzido um menor crescimento das raízes, pode-se afirmar que o dano causado no sistema radicular não foi suficiente para ocasionar alterações nos status hídrico da planta e na síntese de fotoassimilados via fotossíntese (PONTE et al., 2019).

Os resultados mostraram que as concentrações de sacarose no bulbo, raízes e pneumatóforos foram muito maiores em relação o estipe. Isto poderia sugerir uma diferença na força do dreno, de modo que o estipe seria um dreno mais fraco em relação aos demais. Portanto, independente do órgão, os dados indicam que não houve efeito do alagamento e do número de pneumatóforos por planta nas concentrações de sacarose nesses tecidos. Em plantas de *Guazuma ulmifolia* após 32 dias de estresse foi observado um acúmulo de sacarose duas vezes maior nas folhas (RIBEIRO, 2018).

A sacarose distribuída na planta via floema é quebrada enzimaticamente pela invertase (DENNIS et al. 2000) em glicose e frutose nos tecidos drenos e esses monossacarídeos são usados principalmente para suprir a glicólise, rota metabólica que leva a respiração (aeróbica e fermentação) e a vários processos biossintéticos, inclusive síntese de amido em tecidos não fotossintetizantes (TAIZ E ZEIGER, 2017). No metabolismo das plantas sob baixa disponibilidade de oxigênio, a fosforilação oxidativa das mitocôndrias é bloqueada e as células sofrem inevitavelmente a fermentação anaeróbica, substituindo, assim, o ciclo de Krebs no cumprimento por demandas celulares de ATP, com um rendimento líquido de 2 ATPs por molécula de glicose. Esta energia, aproximadamente 18 vezes menor que aquela produzida por plantas sob condições ideais de oxigênio, é essencial para manter o metabolismo em nível basal, sendo, por isso, necessárias grandes quantidades de açúcares nos tecidos das raízes, para que possa ser gerado ATP suficiente para manter o funcionamento das células em condições hipóxicas (VARTAPETIAN, 1991; VARTAPETIAN; JACKSON, 1997; IRFAN et al., 2010).

As concentrações de glicose e frutose no estipe foram maiores nas plantas alagadas com mais pneumatóforos que naquelas com menos pneumatóforos. Esse resultado parece ser decorrente de uma rápida metabolização da sacarose que chega nas células da estipe, o que supriria a respiração aeróbica (glicólise) e justificaria a maior TCR do estipe nas plantas alagadas com mais pneumatóforos em relação aos demais tratamentos. Um padrão similar ao da estipe foi também observado no bulbo das plantas alagadas com mais pneumatóforos, ou seja, as concentrações de glicose e frutose foram maiores neste que nos demais tratamentos, indicando maior suprimento de substrato para a glicólise e justificando a tendência de uma maior TCR do bulbo (em base de massa seca) neste tratamento em relação aos demais (Fig. 1G).

Nas raízes, a glicose e frutose são utilizadas também na glicólise para a síntese de piruvato, que por sua vez será usado para suprir a respiração mitocondrial (aeróbica) ou fermentação. Nas plantas controle, a respiração aeróbica deve ter alcançado as

maiores taxas em relação as plantas alagadas e, por isto, a TCR de raízes foi maior nessas plantas que nos demais tratamentos. Por outro lado, nas plantas alagadas, a respiração mitocondrial deve ter sido reduzida em função da hipóxia, favorecendo a fermentação. A fermentação usa glicose como substrato, então, o fornecimento adequado de açúcares (glicose ou frutose) decorrente da quebra da sacarose ou mesmo do amido pode ser um mecanismo importante de sobrevivência em condições de inundação (PEÑA-FRONTERRAS et al., 2008). Interessante notar que a concentração de amido nas plantas alagadas com menos pneumatóforos foi menor que nas plantas controle e tendeu ser menor que nas plantas alagadas com menos pneumatóforos.

Plantas alagadas com maior número de pneumatóforos (90-120) apresentaram menos amido no bulbo e raízes que nas plantas controle, com uma tendência de diminuição em relação às plantas alagadas com menor número de pneumatóforos (2-10). Este resultado pode ser decorrente de uma maior atividade respiratória (aeróbica e não aeróbica) nestes órgãos, diminuindo a disponibilidade de glicose para a síntese e acúmulo de amido. Comparativamente, Ye et al. (2018) mostraram uma perda no teor de amido em todos os tecidos de plantas de *Arundinella anomala* submetidas ao alagamento. Dados similares foram também observados em plantas de *Pigeonpea* após seis dias sob alagamento (BANSAL E SRIVASTAVA, 2015). O menor investimento no acúmulo de amido e o favorecimento de vias respiratórias (aeróbica e não aeróbica) parece ser uma estratégia comumente utilizada por espécies tolerantes ao alagamento (LOBO E JOLY, 2000).

Os dados comprovaram que todas as plantas alagadas apresentaram uma diminuição da massa seca de raiz. Dados semelhantes foram obtidos por Ribeiro (2018) com plantas de *Guazuma ulmifolia* com até 32 dias de submersão. A diminuição na respiração das raízes é uma das primeiras respostas das plantas sob anoxia, na qual atividade metabólica é inibida e a produção de ATP decresce, restringindo o fornecimento de energia para o crescimento das raízes e reduzindo, assim, o crescimento vegetativo (BATISTA et al., 2008). Porém, o teor de sacarose nas raízes alagadas foi superior em comparação às plantas sob capacidade de campo. O acúmulo de açúcares solúveis nas raízes de plantas sob alagamento tem sido reportado como forma de tolerância a esse estresse (HENRIQUE et al., 2010).

Desse modo, mudas de palma de óleo, demandam uma grande quantidade de açúcares para os órgãos drenos com estipe, bulbo e raízes durante o período de estresse por hipoxia, provavelmente por se tratar de uma estratégia metabólica utilizadas pelas plantas alagadas para tolerarem as condições de estresse. Demonstrando que o padrão de alocação de biomassa de carboidratos fundamentais nos tecidos drenos (estipe, bulbo, raízes e pneumatóforos) de plantas de palma de óleo sofre influencia do alagamento e pelo número de pneumatóforos.

3.5 Conclusões

O padrão de crescimento das plantas de palma de óleo foi negativamente afetado pelo alagamento, sendo que efeitos mais expressivos foram observados nas plantas com menos pneumatóforos, principalmente quanto a taxa de crescimento relativo em altura e massa seca de folhas e raízes;

As análises de carboidratos indicam que o estresse causou poucas diferenças nas concentrações de sacarose entre plantas alagadas e controle. Contudo, as maiores concentrações de glicose e frutose no estipe e bulbo das plantas alagadas com mais pneumatóforos indicam um metabolismo respiratório mais intenso nessas plantas, explicando a maior TCR nessas partes da planta;

As concentrações de glicose nas raízes das plantas alagadas foi reduzida em relação as plantas controle, contudo, quanto maior o número de pneumatóforos, menor a capacidade de armazenamento de amido nas raízes. Dessa forma, sugere-se que a atividade respiratória nas plantas com mais pneumatóforos foi mais intensa que naquelas com menos pneumatóforos, explicando a maior TCR em raízes nas palmeiras.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, G. M. T.; CALBO, M. E. R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular de Carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore), **Acta botânica brasileira**, 18(2), p.219-224, 2004.
- BANSAL, R.; SRIVASTAVA, J. P. Effect of Waterlogging on Photosynthetic and Biochemical Parameters in Pigeonpea, **Russian Journal of Plant Physiology**, Vol. 62, No. 3, p. 322–327, 2015.
- BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding Stress: Acclimations and Genetic Diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.313–339, 2008.
- BAILEY-SERRES, J.; COLMER, T. D. Plant tolerance of flooding stress – recent advances, **Plant, Cell and Environment**, n. 37, p.2211–2215, 2014.
- BATISTA, C.U.N. et al. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.1, p.91-98, 2008.
- CALBO, M. E. R.; MORAES, J. P. V.; CALBO, A. G. Crescimento, condutância estomática, fotossíntese e porosidade de buriti sob inundação, **Revista brasileira de fisiologia vegetal**, v.10, p. 51-58, 1998.
- CARMO, D. L do ; SILVA, C.A. métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos, **Revista Brasileira Ciência do Solo**, 36:1211-1220, 2012.
- CARVALHO, C.J.R.; ISHIDA, F.Y. Respostas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) jovens ao alagamento, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1231-1237, 2002.
- CORLEY, R.; TINKER, P. **Growth, flowering and yield**. pp. 105-119. In: Corley, R. and P. Tinker (ed.). *The oil palm*. 5th ed. Wiley-Blackwell, Oxford, UK. 2015.
- DENNIS, D. T.; BLAKELEY, S. D.; BUCHANAN, B.; GRUISSEM, JONE, W. Carbohydrate metabolism in: biochemistry & molecular biology of plants, S,R, **American society of plant physiologists**, p.630-675, 2000.
- FANTE, C. A.; ALVES, J. D.; GOULART, P.F. P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M. Respostas fisiológicas em cultivares de soja submetidas ao alagamento em diferentes estádios (1), **Bragantia**, vol. 69, núm. 2, p. 253-261, 2010.

FIRMANSYAH, E. Growth and morphology of palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq.) root under different waterlogging salinity. **AGROISTA J. Agroteknologi**, V. 1, P.181-191, 2017.

Fisiologia e desenvolvimento vegetal [recurso eletrônico]/Lincoln Taiz ...[et al.],[tradução:Alexandra Antunes Mastroberti... et al.]; revisão técnica; Paulo Luiz de Oliveira. – 6 .ed.-Porto alegre: Artmed, 2017.

GONÇALVES, J. F. C.; MELO, E. G. F.; SILVA, C. E. M. DA.; FERREIRA, M.J.; JUSTINO, G. C. Estratégias no uso da energia luminosa por plantas jovens de *Genipa spruceana* Steyererm submetidas ao alagamento, **Acta Botanica Brasilica**,v. 26(2),p. 391-398. 2012.

HENRIQUE, P. C.; ALVES, N. J. D.; GOULART,P.F.P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E.M. de. Physiological and anatomical characteristics of Sibipiruna plants under hipoxia, **Ciência Rural**, Santa Maria, 2010.

IRFAN, M.; Hayat, S.; Hayat, Q.; Afroz, S.; Ahmad, A. **Physiological and biochemical changes in plants under waterlogging**. Protoplasma, Wien, v. 241, n. 1/4, p. 3-17, May 2010.

KLAR, A. E.; VILLA NOVA, N. A.; MARCOS, Z. Z.; CERVÉLLINI, A. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. **Anais Escola Superior Agricultura Luiz de Queiroz**, vol.23, Piracicaba, 1966.

KREUZWIESER, J.; RENNENBERG, H.Molecular and physiological responses of trees to waterlogging stress. **Plant cell environ**, v.37, p. 2245-2259, 2014.

LAMADE, E.; SETIYO, E.; PURBA, A.; et al. **Gas exchange and carbon allocation of oil palm seedlings submitted to water logging in interaction with N fertilizer application**. In: Jatmika, A. (Ed.), Proc. Int. Oil Palm Conf. Commodity of the Past, Today and the Future. Indonesian Oil Palm Research Institute, Medan, pp. 573.584. 1998.

LOBO, P. C.; JOLY, C. A. **Aspectos ecofisiológicos da vegetação de mata ciliar do sudeste do Brasil**. In: Matas ciliares: conservação e recuperação. Rodrigues, R.R.; Leitão Filho, H.F. (Eds.). São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Fapesp. p.143 –157. 2000.

MEDRI, M. E.; FERREIRA,A. C.; KOLB ,R. M., BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, C. Alterações morfoanatômicas em plantas de *Lithraea molleoides* (Vell.) (Vell.) (Vell.) Engl. submetidas ao alagamento, **Acta Sci. Biol. Sci. Maringá**, v. 29, n. 1 p. 15-22, 2007.

MURUGESAN, P.; VELAYUTHAM, R. Oil palm (*Elaeis guineensis*) genetic resourcesfor abiotic stress tolerance: A review, **Indian Journal of Agricultural Sciences**, April 2017.

PEÑA-FRONTERRAS, J.T.; VILLALOBOS, M.C.; BALTAZAR, A.M.; MERCA, F.E.; ISMAIL, A. M.; JOHNSON, D.E. Adaptation to flooding in upland and lowland ecotypes of *Cyperus rotundus*, a troublesome sedge weed of rice: tuber morphology and carbohydrate metabolism. **Annals of Botany**, v.103, p.295-302, 2008.

PONTE, N. H. T. da.; SANTOS, R. I. N.; LOPES FILHO, W.R. L.; CUNHA, R. L.;MAGALHÃES, M. M.; PINHEIRO, H. A. Morphological assessments evidence that higher number of pneumatophores improves tolerance to long-term waterlogging in oil palm (*Elaeis guineensis*) seedlings, **Flora**, v. 250, p.52-58, 2019.

RIVERA-MENDES, Y. D. R.; CUENCA, J. C.; ROMERO, H. M. Physiological responses of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under different water soil conditions. **Agromonia Colombiana**, 34(2), 163-171, 2016.

R, Core Team, R: a **Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria , 2016.

RIBEIRO, A. C. M. **Efeito do alagamento e da luminosidade em plantas de *Vitex cymosa*:respostas fisiológicas, bioquímicas e morfoanatômicas**, Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, Brasília, 2014.

RIBEIRO, I. R. **Os efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos causados pelo alagamento de plantas jovens de *Guazuma ulmifolia* Lam. oriundas da Amazônia e do Cerrado**. 2018. 95 f., il. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília.

SILVEIRA, N. M.; ALVES, J. D.; DEUNER,S.; DOUSSEAU, S.; HENRIQUE,P. C. CRESCIMENTO E Partição de carboidratos em plantas de *sebastiania membranifolia* submetidas ao alagamento, **Cerne**, v. 21, n. 1, p. 67-74, 2015.

STITT et al. Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. In: **Methods in enzymology**. Academic Press. p. 518-552. 1989.

TRETHEWEY et al. Combined expression of glucokinase and invertase in potato tubers leads to a dramatic reduction in starch accumulation and a stimulation of glycolysis. **The Plant Journal**, v. 15, n. 1, p. 109-118, 1998.

VARTAPETIAN, B. B. **Flood-sensitive plants under primary and secondary anoxia: ultrastructural and metabolic responses**. In: JACKSON, M. B.; DAVIS, D. D.; LAMBERS, H. (Ed.). *Plant life under oxygen deprivation: ecology, physiology and biochemistry*. The Hague: SPB Academic. p. 201 - 216, 1991.

VARTAPETIAN, B. B.; JACKSON, M. B. Plant adaptations to anaerobic stress. **Annals of Botany, London**, v. 79, p. 3-20, 1997.

VOESENEK L. A. C. J.; BAILEY-SERRES J. Flooding tolerance: O₂ sensing and survival strategies. *Curr Opin Plant Biol* 16(5):647–653, 2013.

YE, X.Q.; MENG, J. L.; ZENG, B.; WU, M. Improved floodingtolerance and carbohydrate status of flood-tolerant plant *Arundinella anomala* at lower water temperature. **Plos one**, Portugal, 2018.

4. CONCLUSÃO GERAL

De acordo com dados analisados as plantas *E. Guineensis*, na fase de muda, submetidas ao alagamento são provavelmente tolerantes a esse estresse. Esse fato é devido as irrelevantes modificações nas variáveis fisiológicas e no status hídrico, assim como um incremento na massa seca da parte aérea. No entanto as raízes tiveram uma perda de biomassa, mas o número de pneumatóforos emitidos por plantas de 90-120P contribuíram, para amenizar os danos do estresse nas raízes.