

Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação

Reginaldo Conceição Cerqueira^{1,3}, Joaquim Miguel Costa^{2,3}, Maria Manuela Chaves³, João Domingos Rodrigues⁴

¹ Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Ciências Humanas / Campus IX. Loteamento Flamengo, s/n, BR 242, CEP 47800-000, Barreiras-BA, E-mail: reconcer@uneb.br

² Instituto Superior de Agronomia - LEAF, Tapada da Ajuda, 1349-017, Lisboa, Portugal. E-mail: miguelc@itqb.unl.pt

³ Universidade Nova de Lisboa, Instituto de Tecnologia Química e Biológica, LEM. Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157, Oeiras, Portugal. E-mail: mchaves@isa.utl.pt

⁴ Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Campus Botucatu, Departamento de Botânica, AC Rubião Junior, Rua Plínio Silva, s/n, Jardim Santo Inácio (Rubião Junior), CEP 18618-970, Botucatu-SP, Brasil. Caixa Postal 510. E-mail: mingo@ibb.unesp.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo comparar duas variedades de videira cultivadas em Portugal, Syrah e Touriga Nacional, em termos de suas respostas fisiológicas e bioquímicas a um ciclo de estresse hídrico severo seguido de reidratação. Os tratamentos consistiram em videiras continuamente regadas (FI) e videiras não regadas durante 21 dias e reidratadas após o potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) atingir cerca de $-1,1\text{MPa}$ (NI). As observações ocorreram em quatro momentos: i) imediatamente antes de suprimir a rega (dia 0), ii) no momento de máximo de estresse (dia 21), iii) dois dias após reidratação (dia 23) e iv) seis dias após reidratação (dia 27). Mediu-se o potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) e do meio dia (Ψ_{md}), a condutância estomática ao vapor de água (gs), a fotossíntese líquida (An), a transpiração (E), a concentração sub-estomática de CO_2 (Ci) e a fluorescência da clorofila a. O teor de clorofila total e teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foram também determinados nas folhas. Todos os parâmetros avaliados foram negativamente afetados pelo estresse hídrico, exceto a fluorescência basal (Fo). A capacidade de recuperação foi similar nas duas variedades, apresentando, inclusive, limitação na taxa da fotossíntese líquida após seis dias a reidratação. A variedade Touriga Nacional apresentou maior degradação de clorofila e maiores teores de H_2O_2 nas folhas, comparada à variedade Syrah.

Palavras-chave: Espécies reativas de oxigênio, fluorescência da clorofila a, potencial hídrico, trocas gasosas, *Vitis vinifera*

Leaf physiology and metabolism in two grapevine varieties subjected to a drying and wetting cycle

ABSTRACT

This work aimed to compare two grapevine varieties grown in Portugal, Syrah and Touriga Nacional, in terms of their physiological and biochemical behavior in response to a cycle of severe water stress followed by rehydration. Vines were subjected to either continuous watering (FI) or not watered for 21 days and rehydrated after leaf water potential at predawn reach -1.1MPa (NI). Observations took place at four stages: i) immediately before water withdrawal (day 0), ii) Maximum stress (day 21), iii) two days after rehydration (day 23) and iv) six days after rehydration (day 27). We measured leaf water potential at pre-dawn (Ψ_{pd}) and at midday (Ψ_{md}), stomatal conductance to water vapor (gs), net photosynthesis (An), transpiration (E), the sub-stomatal CO_2 concentration (ci) and chlorophyll a fluorescence. The contents of total chlorophyll content and hydrogen peroxide (H_2O_2) in leaves were determined as well. All parameters were negatively affected by water stress, except basal fluorescence (Fo). The recovery capacity in terms of water potential and leaf gas exchange was similar in both varieties but it proved incomplete, in particular for net photosynthesis. The variety 'Touriga Nacional' showed higher degradation of chlorophyll and higher levels of H_2O_2 in leaves than the 'Syrah' variety, which may explain the high susceptibility of Touriga to leaf senescence and leaf drop under water stress conditions in the field.

Key words: Reactive oxygen species, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, water potential, *Vitis vinifera*

Introdução

A produção agrícola enfrentará grandes desafios nas próximas décadas devido às mudanças climáticas em curso e, tendo em conta os cenários climáticos desfavoráveis para várias regiões do globo como a da Europa do Mediterrâneo (Fraga et al., 2013). A viticultura é uma atividade com grande relevância econômica e social na bacia mediterrânica (Flexas et al., 2009) e embora a maior parte dos vinhedos seja de sequeiro a área irrigada tem aumentado para mitigar os efeitos negativos de altas temperaturas e da seca extrema, durante o verão quente e seco. Todavia, há crescentes problemas de escassez de água e/ou limitações legislativas, com efeitos negativos na produtividade e qualidade das uvas (Chaves et al., 2010). São necessárias por isso estratégias para tornar mais sustentável e eficiente o uso dos recursos hídricos na região Mediterrânica (Costa et al., 2007).

Os efeitos do estresse hídrico e da rega deficitária estão bem estudados na videira (Santesteban et al., 2009; Chaves et al., 2007; 2010), e são vários os trabalhos que evidenciam diferenças varietais na regulação das trocas gasosas (transpiração e fotossíntese) em situação de estresse hídrico moderado a severo (Chaves et al., 2010; Costa et al., 2012). Parâmetros biofísicos e fisiológicos, como a temperatura das folhas e as trocas gasosas, permitiram discriminar variedades de videira em termos da sua resposta e resistência ao déficit hídrico (Rogiers et al., 2009; Costa et al., 2012).

Igualmente tem havido interesse crescente em estudar a capacidade de recuperação após um evento de estresse hídrico, pois as culturas em campo (ex. videiras) são afetadas por flutuações da disponibilidade de água, tanto pela alternância de chuva e períodos de seca ou como resultado da frequência de irrigação (Flexas et al., 2009; Santesteban et al., 2009; Bondada & Shutthanandan, 2012; Sapeta et al., 2013).

O fechamento estomático é uma das primeiras respostas das plantas ao estresse hídrico o que reduz a transpiração e fotossíntese (Souza et al., 2001), e aumenta a temperatura das folhas (Chaves et al. 2010; Costa et al., 2012). Contudo, a redução da fotossíntese pode também estar relacionada com limitações não estomáticas. Assim, quando a energia de excitação luminosa é superior à energia usada no processo fotossintético e/ou em condições de temperaturas supra ótimas a acumulação de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o peróxido de hidrogênio ocorre. As EROs podem não só modificar o metabolismo fotossintético e danificar o aparelho fotossintético devido ao estresse oxidativo (Munné-Bosch et al., 2002; Lawlor & Cornic, 2002; Chaves et al., 2011; Dias et al., 2014), mas também afetar o comportamento estomático (Vilela et al., 2007).

Neste trabalho comparou-se o comportamento de duas variedades de videira cultivadas em Portugal, a Syrah (de origem francesa) e a Touriga Nacional (de origem portuguesa), em termos das relações hídricas, comportamento fotossintético e estomático e da bioquímica das folhas ao longo de um ciclo de estresse hídrico seguido de recuperação. A melhor compreensão deste tipo de resposta em videira, ajudará a otimizar as estratégias de rega em função das condições de estresse no campo e das variedades cultivadas.

Material e Métodos

O ensaio decorreu em casa de vegetação (estufa de vidro) no Instituto de Tecnologia Química e Biológica - ITQB da Universidade Nova de Lisboa, em Oeiras, Portugal (38° 41 N, 9° 19 W) entre 6 de Julho e 3 de Agosto de 2010. As condições climáticas foram semi-controladas, com luz natural e com temperatura média do ar de 25±5°C (Figura 1A) e umidade relativa de 60±20% (Figura 1B). Usaram-se videiras

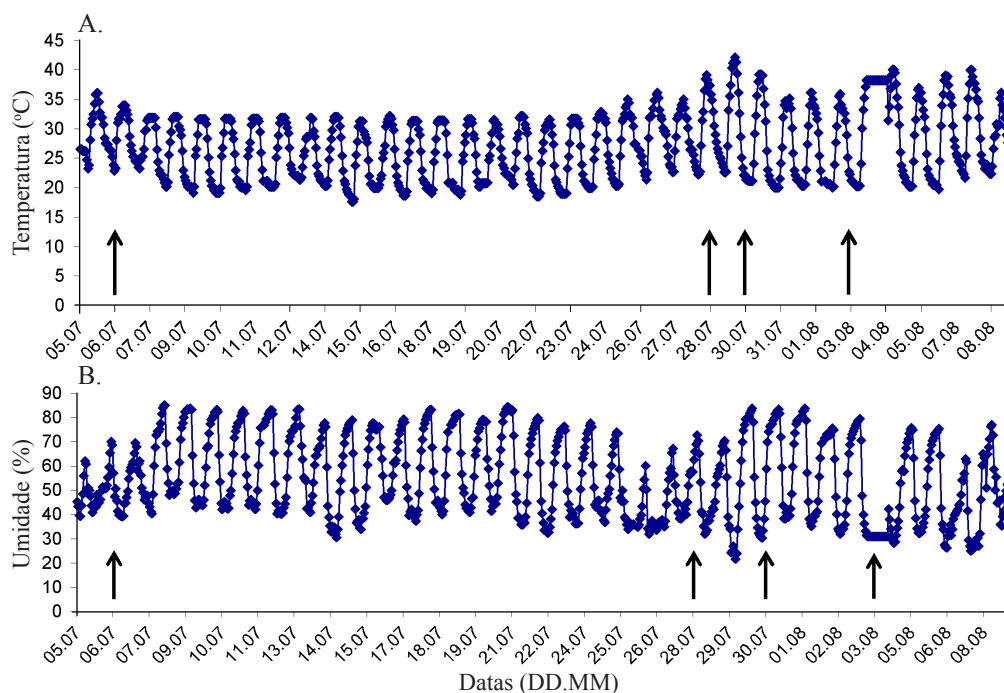


Figura 1. Variação da temperatura (A) e da umidade relativa do ar (B) dentro da casa de vegetação (estufa) no período de estudo, Oeiras, Portugal (2010). As quatro setas indicam os momentos de observação

(*Vitis vinifera* L.) das variedades Syrah e Touriga Nacional, com quatro anos de idade, enxertadas no porta-enxerto 1103 Paulsen. As plantas foram cultivadas em vasos de 40L, contendo terra de textura média e um pH ligeiramente ácido e 3,7% de matéria orgânica. As plantas foram conduzidas em espaldeira e tratadas contra o oídio e cochonilha.

As videiras envasadas foram sujeitas a dois tratamentos: 1) plantas continuamente regadas (FI) e plantas não regadas durante 21 dias, seguidas de 6 dias de reidratação (NI). A rega ocorreu de dois em dois dias, sendo que a reidratação nas NI ocorreu quando o nível do potencial hídrico de base atingiu $-1,1$ MPa.

Mediu-se o potencial hídrico da folha no período de madrugada (Ψ_{pd}) e ao meio-dia (Ψ_{md}) com uma câmara de pressão do tipo Scholander. As medições de madrugada foram feitas entre as 3 e as 4:00h, enquanto as medições ao meio-dia foram feitas entre as 12 e as 13:00h.

As trocas gasosas e a fluorescência da clorofila a foram avaliadas usando um analisador portátil de trocas gasosas, modelo LI-6400 (Li-Cor Inc, NE, USA) equipado com luz artificial e um flourômetro integrado (Li-6400-40, Li-Cor, Inc). As medições foram feitas nas seguintes condições: luz saturante ($1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10% azul), T block = 29°C ; CO_2 = 400 ppm e fluxo de $500 \mu\text{mol s}^{-1}$. Mediram-se a fotossíntese líquida (An), a transpiração (E), a condutância estomática ao vapor de água (g_s), a concentração sub-estomática de CO_2 (Ci). Estimou-se a eficiência instantânea do uso de água (An/E) e a eficiência carboxílica (An/ci). A medição das trocas gasosas em simultâneo com a fluorescência clorofiliana permitiu estimar a eficiência fotoquímica do fotossistema II (Φ_{PSII}) (Genty et al., 1989). No momento de máximo estresse (21 dias sem rega) determinou-se também a fluorescência basal (Fo), a fluorescência máxima (Fm) e a eficiência quântica máxima potencial (Fv/Fm) durante a madrugada, com as folhas totalmente adaptadas ao escuro. As clorofilas totais foram determinadas em folhas semelhantes às usadas nas trocas gasosas, de acordo com a metodologia descrita por Markwell et al. (1995). Foram também colhidas folhas jovens para determinar os teores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) seguindo-se o protocolo descrito por Loreto & Velikova

(2001). Foi utilizado 150 mg (peso fresco) de tecido foliar homogeneizado num almofariz contendo 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 1% (p/v). O homogeneizado foi depois centrifugado a $15.000g$ a uma temperatura de 4°C , por 10 minutos, usando centrífuga refrigerada. Obteve-se 0,50 mL do sobrenadante ao qual foi adicionado 0,50 mL de tampão fosfato de potássio a 10 mM (pH 7,0) e 1,0 mL de iodeto de potássio (KI) a 1M. O teor de H_2O_2 do sobrenadante foi determinado com o uso de um espectrofotômetro, comparando a sua absorbância a 390 nm frente a uma curva de calibração padrão, que variou entre 1 e 100 mmol mL^{-1} de H_2O_2 . O teor de H_2O_2 foi expresso em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca.

O delineamento experimental consistiu em dois blocos casualizados em esquema de parcela subdividida (4 x 4); sendo a parcela representada pelos quatro tratamentos (Touriga Nacional - FI, Touriga Nacional - NI, Syrah - FI, e Syrah - NI); enquanto a subparcela representada pelos quatro momentos em que se avaliaram as plantas (Dia 0; 21; 23 e 27), com dez plantas envasadas por parcela. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($P < 0.05$) e as médias foram comparadas, levando em consideração seu erro padrão.

Resultados e Discussão

As videiras FI apresentaram valores de Ψ_{pd} próximos do $-0,15$ MPa ao longo de todo o ensaio (Figura 2A), ao contrário das videiras NI que atingiram valores de cerca de $-1,2$ MPa após 21 dias sem rega. No entanto, no segundo dia após reidratação o Ψ_{pd} atingiu o valor de $-0,1$ MPa. Os valores do Ψ_{md} (Figura 2B) foram mais negativos quando comparados aos valores do Ψ_{pd} devido ao déficit de pressão de vapor ser maior ao meio-dia, rondando por volta de $-1,0$ MPa no 1º dia de medida, quer nas NI quer nas FI. No dia de máximo estresse as plantas FI da variedade Syrah apresentaram valores semelhantes aos das NI (cerca de $-1,5$ MPa). Na variedade Touriga as plantas FI apresentaram valores significativamente mais elevados ($-1,2$ MPa) do que nas NI ($-1,5$ MPa). Após dois dias da reidratação (dia 23) as plantas NI mostraram valores da ordem dos $-0,5$ MPa, contra o $-1,3$ MPa das FI, voltando a igualar-se após reidratação no dia 27. Este grande aumento do

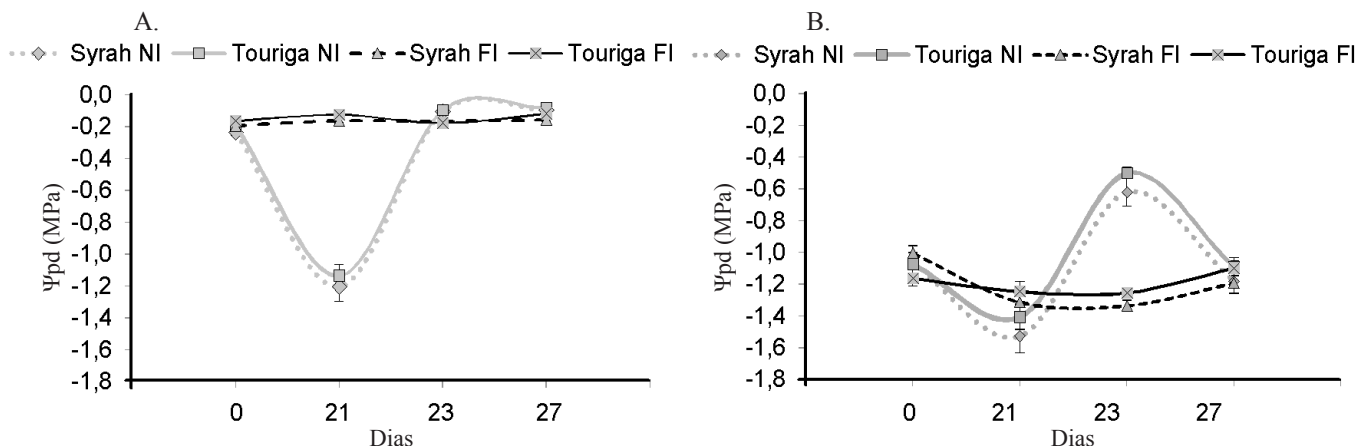


Figura 2. Variação do potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) (A) e do meio-dia (Ψ_{md}) (B) em videiras das variedades 'Syrah' e 'Touriga Nacional', sujeitas a rega contínua (FI) e não regadas durante 21 dias seguidas de reidratação durante 6 dias (NI). Cada ponto representa a média ($n = 10$) e as barras verticais representam o erro padrão, Oeiras, Portugal (2010)

Ψ_{md} nas plantas NI relativamente às FI (61% superior) deveu-se à forte diminuição da condutância estomática ao vapor de água (g_s) nas plantas NI, aliada à disponibilidade de água no solo após reidratação.

No início do ensaio (dia 0), e em condições de estado hídrico similar, a variedade Syrah apresentou maior condutância estomática que a Touriga Nacional (0,26 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 0,20 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente) (Figura 3A). Todavia, à medida que o estresse hídrico foi aumentando as diferenças tornaram-se significativas apenas entre os dois regimes de rega (FI e NI), com valores próximos de zero nas videiras NI no momento de máximo estresse (0,009 $\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Após reidratação, os valores de g_s se recuperaram, mas somente no final do ensaio (dia 27) as plantas NI apresentaram valores próximos das FI (75-80% da FI), nas duas variedades.

Em paralelo com a diminuição da g_s , a taxa de fotossíntese líquida (A_n) decresceu nas plantas NI atingindo valores mínimos de 0,15 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no momento de máximo estresse. Enquanto isso, as plantas FI apresentaram valores de aproximadamente 10 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figura 3B). A A_n respondeu positivamente à reidratação, embora a recuperação não tenha sido total nas plantas NI. Ao fim dos 6 dias de reidratação, as plantas NI mostravam uma redução de cerca de 45-50% nas taxas fotossintéticas, relativamente às plantas FI. Tal resultado está em acordo com a diminuição significativa dos valores F_v/F_m (Tabela 1) das plantas NI no momento de máximo estresse, já que na mesma data ocorreu recuperação da condutância estomática.

A variedade Syrah, apresentou inicialmente valores de transpiração (E) ligeiramente superiores aos da Touriga

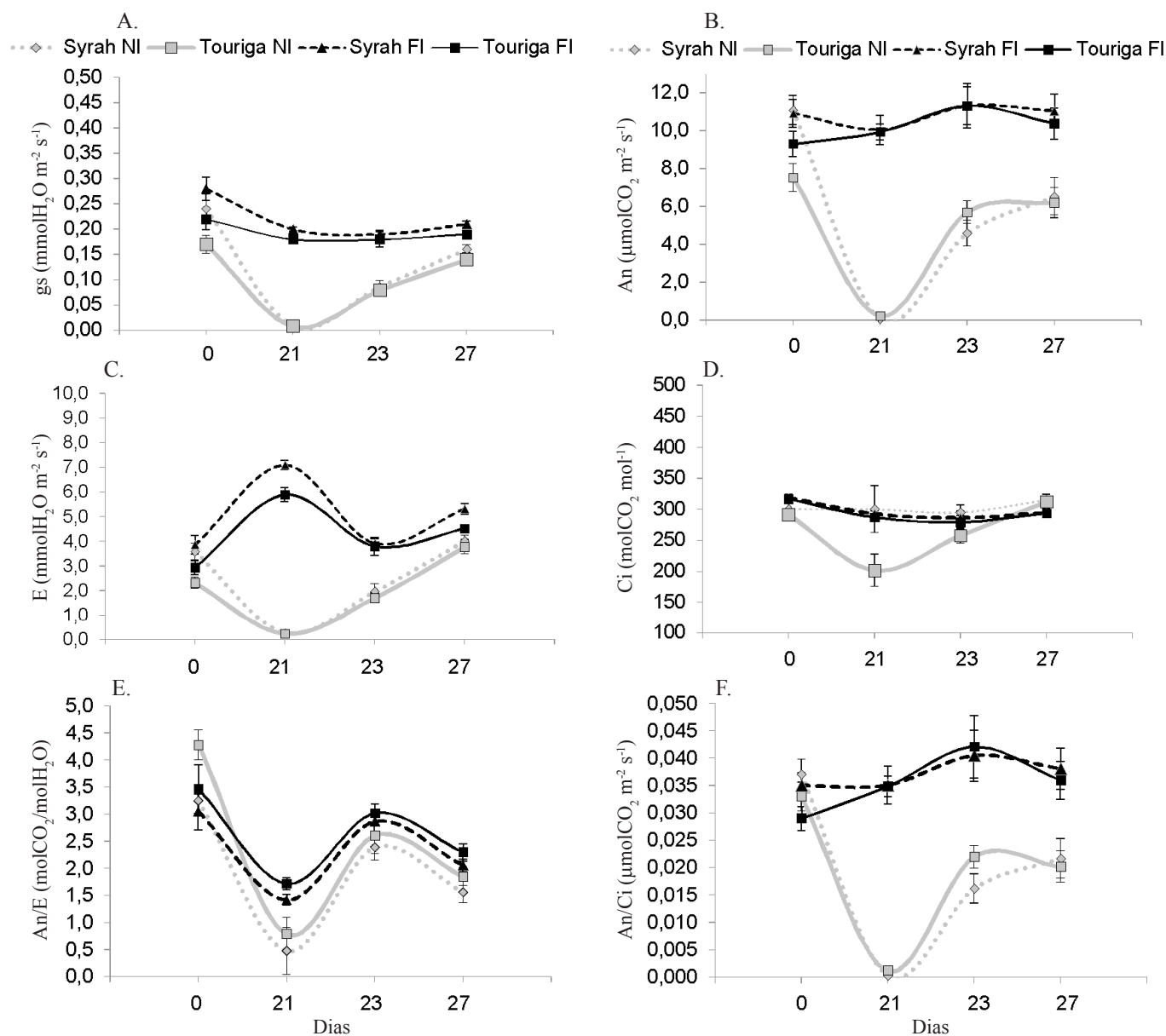


Figura 3. Variação da condutância estomática ao vapor de água - g_s (A) taxa de fotossíntese líquida - A_n (B), transpiração - E (C), concentração sub-estomática de CO_2 - C_i (D), eficiência do uso de água instantânea - An/E (E), e eficiência carboxilica - An/C_i (F) em plantas de videiras envasadas das variedades Syrah e Touriga Nacional, continuamente regadas (FI) e não regadas seguidas de reidratação (NI) ao longo do período do ensaio. As medições foram feitas com um Licor 6400, nas seguintes condições: intensidade luminosa saturante = 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 10% azul), $T_{\text{block}} = 29 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{CO}_2 = 400 \text{ ppm}$ e fluxo de ar de 500 $\mu\text{mol s}^{-1}$. Cada ponto representa a média ($n = 10$) e as barras verticais representam o erro padrão, Oeiras, Portugal (2010)

Nacional, 3,7 e 2,6 molH₂O m⁻²s⁻¹, respectivamente (Figura 3C), em linha com os resultados da gs. No momento de máximo estresse, a transpiração nas plantas NI foi de 0,3 molH₂O m⁻² s⁻¹, enquanto que nas FI esse valor foi de 7,1 molH₂O m⁻² s⁻¹ na ‘Syrah’ e de 5,9 molH₂O m⁻² s⁻¹ na ‘Touriga Nacional’, com a ressalva destes valores de E medidos na câmara de medição do Licor 6400 dependerem das condições de humidade prevalentes na referida câmara e serem provavelmente diferentes das existentes na estufa. As plantas NI conseguiram recuperar e apresentaram valores semelhantes às FI no dia 27, exceto para ‘Syrah’ FI que voltou a subir neste dia, apresentando-se significativamente superior às videiras NI. O aumento anormal da transpiração nas plantas regadas, no dia 21, pode estar relacionado com as temperaturas muito elevadas e baixos VPD do ar registrados nesse período (Figura 1A). Contudo, o fato da ‘Syrah’ FI voltar a apresentar E elevada no dia 27, pode ser uma característica da própria variedade porque a sua condutância estomática apresentou igual tendência de variação, sem, ser contudo, estatisticamente significativa.

Em termos da concentração sub-estomática de CO₂ (Ci), observou-se que no dia de máximo estresse a variedade Touriga Nacional NI apresentaram valores menores de Ci mostrando que o déficit hídrico imposto promoveu o fecho dos estomas, sem que, no entanto, isto afetasse tão negativamente a taxa fotossintética. Enquanto a variedade Syrah não apresentou alteração dos valores de Ci nas plantas NI (Figura 3D). Após a reidratação (dias 23 e 27), as plantas da variedade Touriga Nacional NI recuperaram os valores de Ci semelhantes aos das videiras FI e da ‘Syrah’ NI.

A eficiência instantânea do uso da água (An/E) foi semelhante nas plantas FI e NI, exceto a variedade Touriga Nacional que foi superior inicialmente, mas 21 dias após supressão da rega verificou-se uma queda acentuada nas videiras NI (Figura 3E), isto porque gs e An eram quase nulas (Figura 3A e 3B, respectivamente). Já a redução da An/E nas plantas FI pode estar relacionada com queda pronunciada da fotossíntese devido à combinação de elevadas temperaturas do ar e de baixa umidade relativa registradas nesse momento (Figura 1A e 1B), o que promoveu o aumento do déficit de pressão de vapor e fez aumentar a transpiração, apesar da

condutância estomática ser mantida. De fato, as temperaturas máximas do ensaio (cerca de 40°C) coincidiram com o dia de máximo estresse (Figura 1A).

A eficiência carboxilica (An/Ci) variou de forma semelhante a An, diferindo apenas dos valores iniciais na variedade Touriga NI, enquanto que os valores mais baixos ocorreram nas plantas NI na situação de máximo estresse hídrico (dia 21) (Figura 3F). A recuperação da An/Ci não foi completa, mesmo após 6 dias de reidratação das plantas NI, apresentando estas, valores cerca de 40% inferiores à An/Ci das videiras FI, na mesma ocasião.

A eficiência fotoquímica do PSII (Φ_{PSII}) medida em condições de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de PAR apresentou valores médios de 0,16 no início do ensaio para todas as plantas de ambas variedades (Tabela 1). Todavia, após 21 dias sem rega, a Φ_{PSII} das plantas NI decresceu cerca de 2,7 vezes relativamente ao dia 0, enquanto as plantas FI mantiveram os valores iniciais de cerca de 0,20. A reidratação aumentou significativamente o valor da Φ_{PSII} nas FI mas a recuperação foi incompleta nas plantas NI (com 0,14 contra os valores de 0,21 nas FI). Esta resposta deve-se, provavelmente a uma regulação negativa da atividade fotoquímica, o que é corroborado pelos baixos valores de Fm e Fv/Fm nas plantas submetidas ao máximo estresse (Tabela 1), enquanto os valores de Fo não diferiram significativamente. Por outro lado, as plantas FI apresentaram valores de Fv/Fm próximos de 0,8 indicando ausência de efeitos de estresse hídrico ao nível fotoquímico, mesmo com temperaturas elevadas.

A variedade Syrah apresentou folhas com teores médios de clorofila total (Chl) maiores do que a Touriga ao longo do ensaio (Tabela 2), causando a deficiência hídrica um decréscimo de cerca de 50% no momento de máximo estresse quando comparado com o dia zero. A degradação da Chl foi mais marcante na ‘Touriga Nacional’ (cerca de 79%), enquanto na ‘Syrah’ a redução foi apenas de 60%, em igual período. Os teores de Chl nas videiras NI não responderam à reidratação das plantas.

O conteúdo de H₂O₂ aumentou nas folhas das videiras NI, alcançando valores médios de 0,43 $\mu\text{mol g}^{-1}\text{mf}$ no momento de máximo estresse, enquanto as videiras FI apresentaram valores

Tabela 1. Eficiência fotoquímica do PSII (Φ_{PSII}) medida em condições de luz (1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Φ_{PSII})) e ao longo do ensaio e valores da fluorescência basal (Fo), fluorescência máxima (Fm), e eficiência quântica máxima potencial (Fv/Fm) medidas de madrugada (3:00 am), em folhas das variedades Syrah e Touriga Nacional, continuamente regadas (FI) e em videiras não regadas durante 21 dias (estresse máximo) seguidas de reidratação (NI). Os valores são médias \pm erro padrão (n = 10), Oeiras, Portugal (2010)

Tratamentos	Φ_{PSII}				Fo	Fm	Fv/Fm
	Dia - 0	21	23	26			
Syrah NI	0,16 \pm 0,05	0,06 \pm 0,00	0,09 \pm 0,03	0,14 \pm 0,06	354 \pm 21	1163 \pm 161	0,63 \pm 0,030
TourigaNI	0,15 \pm 0,00	0,06 \pm 0,01	0,11 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04	388 \pm 34	1181 \pm 199	0,60 \pm 0,054
Syrah FI	0,16 \pm 0,03	0,21 \pm 0,06	0,24 \pm 0,07	0,22 \pm 0,06	379 \pm 6	1887 \pm 31	0,79 \pm 0,006
TourigaFI	0,15 \pm 0,06	0,20 \pm 0,03	0,21 \pm 0,04	0,20 \pm 0,06	396 \pm 8	1970 \pm 53	0,79 \pm 0,005

Tabela 2. Valores médios de clorofila total (Chl) e teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em videiras ‘Syrah’ e ‘Touriga Nacional’, continuamente regadas (FI) e em videiras não regadas durante 21 dias (estresse máximo) seguidas de reidratação (NI). Os valores são médias \pm erro padrão (n = 10), Oeiras, Portugal (2010)

Tratamentos	Clorofila (mg g ⁻¹ mf)				Peróxido de Hidrogênio ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ g ⁻¹ mf)			
	Dia - 0	21	23	26	Dia - 0	21	23	26
Syrah NI	486 \pm 31	218 \pm 26	234 \pm 24	253 \pm 25	0,21 \pm 0,03	0,37 \pm 0,05	0,40 \pm 0,07	0,19 \pm 0,01
Touriga NI	276 \pm 26	82 \pm 11	88 \pm 09	94 \pm 14	0,21 \pm 0,03	0,49 \pm 0,04	0,42 \pm 0,04	0,26 \pm 0,02
Syrah FI	656 \pm 11	546 \pm 77	560 \pm 80	575 \pm 84	0,22 \pm 0,03	0,29 \pm 0,04	0,24 \pm 0,02	0,19 \pm 0,20
Touriga FI	472 \pm 49	397 \pm 42	382 \pm 40	371 \pm 44	0,24 \pm 0,02	0,22 \pm 0,03	0,16 \pm 0,02	0,28 \pm 0,03

de 0,29 e 0,24 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{mf}$, para as variedades Syrah e Touriga Nacional, respectivamente (Tabela 2). A 'Touriga Nacional' NI apresentou os valores mais elevados no máximo estresse, 0,49 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{mf}$, cerca do dobro da testemunha FI. Dois dias após reidratação os teores em H_2O_2 mantiveram-se elevados nas folhas das plantas NI, mas acabaram por se reduzirem ao fim de 6 dias de reidratação, para níveis semelhantes aos das plantas regadas. Estes resultados sugerem que as videiras NI foram afetadas também por estresse oxidativo como consequência do funcionamento deficiente do aparelho fotossintético.

Os nossos resultados mostram que as duas variedades têm idêntica capacidade de recuperação após reidratação, e que apesar do estresse severo, a recuperação do potencial hídrico ocorre muito rapidamente sugerindo a não ocorrência de limitações hidráulicas. No entanto, a recuperação das trocas gasosas não foi total, o que pode estar relacionado com a degradação da clorofila, senescência foliar e com limitações na abertura estomática após a reidratação, por exemplo, pela via do aumento de ABA, já observado em diversos trabalhos (Correia et al., 1995). Contrariamente às experiências em campo em condições de estresse hídrico moderado (Costa et al., 2012), as variedades Syrah e Touriga Nacional não apresentam diferenças marcantes nas trocas gasosas para níveis idênticos de potencial hídrico foliar. No entanto, a 'Touriga Nacional' apresentou maior degradação das clorofilas acompanhada de teores mais elevados de peróxido de hidrogênio comparativamente aos encontrados nas folhas da 'Syrah'. O incremento no teor de peróxido de hidrogênio nas folhas de plantas submetidas ao estresse hídrico foi também observado em videira (Doupis et al., 2012) e em outras espécies tais como a *Melia azedarach* e a *Arabidopsis* sp (Huang et al., 2005). Nestes dois últimos casos os teores de peróxido de hidrogênio foram semelhantes aos valores observados no presente trabalho.

Os menores valores de H_2O_2 no momento de máximo estresse, encontrados na variedade Syrah, podem ser resultado da melhor eficiência do sistema de enzimas antioxidantes e compostos não enzimáticos, responsáveis pela eliminação de ROS como o H_2O_2 (Dias et al., 2014). Além disso, os maiores teores de H_2O_2 encontrados na 'Touriga Nacional' podem também explicar a frequente susceptibilidade desta variedade à senescência foliar observada em condições de campo sob déficit hídrico e temperaturas extremas (Macedo et al., 2011).

Conclusões

As características fisiológicas (potencial hídrico, as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila) foram negativamente afetadas pelo estresse hídrico em ambas as variedades, excetuando-se a fluorescência basal (F_0).

Quanto às características bioquímicas, a variedade Touriga Nacional apresentou maior degradação de clorofila e maiores teores de H_2O_2 nas folhas, comparada à variedade Syrah.

Já a capacidade de recuperação das plantas após reidratação foi similar nas duas variedades, apresentando inclusive, limitação na taxa da fotossíntese líquida após seis dias de reidratação.

Agradecimentos

CAPES/FAPESP - Brasil - no apoio ao desenvolvimento do trabalho de tese de doutorado sanduíche (Brasil/Portugal) do primeiro autor.

J M Costa was supported by a postdoc fellowship granted by Fundação para a Ciência e Tecnologia, (Portugal) (SFRH / BPD / 34429 / 2006) e (SFRH / BPD / 93334 / 2013).

Literatura Citada

- Bondada, B.; Shutthanandan, J. Understanding differential responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf and fruit to water stress and recovery following re-watering. *American Journal of Plant Sciences*, v.3, n.9, p.1232-1240, 2012. <<http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.39149>>.
- Chaves, M. M.; Costa, J. M.; Saibo, N. Recent advances in photosynthesis under drought and salinity. *Advances in Botanical Research*, v.57, p.49-104, 2011. <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-387692-8.00003-5>>.
- Chaves, M. M.; Santos, T. P.; Souza, C. R.; Ortuño, M. F.; Rodrigues, M. L.; Lopes, C. M.; Maroco, J. P.; Pereira, J. S. Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*, v.150, n.2, p.237-252, 2007. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2006.00123.x>>.
- Chaves, M. M.; Zarrouk, O.; Francisco, R.; Costa, J. M.; Santos, T.; Regalado, A. P.; Rodrigues, M. L.; Lopes, C. M. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, v.105, n.5, p.1-16, 2010. <<http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcq030>>.
- Correia, M. J.; Pereira, J. S.; Chaves, M. M.; Rodrigues, M. L.; Pacheco, C. A. ABA xylem concentrations determine maximum daily leaf conductance of field-grown *Vitis vinifera* L. plants. *Plant, Cell and Environment*, v.18, n.5, p.511-521, 1995. <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-387692-8.00003-5>>.
- Costa J. M.; Ortuño, M. F.; Lopes, C. M.; Chaves, M.M. Grapevine varieties exhibiting differences in stomatal response to water deficit. *Functional Plant Biology*, v.39, n.3, p.179-189, 2012. <<http://dx.doi.org/10.1071/FP11156>>.
- Costa, J. M.; Ortuño, M. F.; Chaves, M. M. Deficit irrigation as a strategy to save water: physiology and potential application to horticulture. *Journal of Integrative Plant Biology*, v.49, n.10, p.1-14, 2007. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1672-9072.2007.00556.x>>.
- Dias, M. C.; Azevedo, C.; Costa, M.; Pinto, G.; Santos, C. *Melia azedarach* plants show tolerance properties to water shortage treatment: An ecophysiological study. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.75, p.123-127, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.12.014>>.
- Doupis, G.; Chartzoulakis, K.; Patakas, A. Differences in antioxidant mechanisms in grapevines subjected to drought. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, v.24, n.6, p.607-613, 2012. <<http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.v24i6.14679>>.

- Flexas, J.; Baro, M.; Bota, J.; Ducruet, J. M.; Galle, A.; Galme, J.; Jime, M.; Poul, A.; Ribas-Carbo, M.; Sajnani, C.; Toma, M.; Medrano, H. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri*-*V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany*, v.60, n.8, p.2361-2377, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erp069>>.
- Fraga, H.; Malheiro, A. C.; Moutinho-Pereira, J.; Santos, J. A. An overview of climate change impacts on European viticulture. *Food Energy Security*, v.1, n.2, p.94-110, 2013. <<http://dx.doi.org/10.1002/fes3.14>>
- Genty, B.; Briantais, J. M.; Baker, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.990, n.1, p.87-92, 1989. <[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)>.
- Huang, C.; He, W.; Guo, J.; Chang, X.; Su, P.; Zhang, L. Increased sensitivity to salt stress in na ascorbate-deficient *Arabidopsis* mutant. *Journal of Experimental Botany*, v.56, n.422, p.3041-3049, 2005. <<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eri301>>.
- Lawlor, D. W.; Cornic, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment*, v.25, n.2, p.275-294, 2002. <<http://dx.doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>>.
- Loreto, F.; Velikova, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, v.127, n.4, p.1781-1787, 2001. <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.010497>>.
- Macedo, P.; Gonçalves, B.; Correia, C.; Bacelar, E.; Ferreira, H.; Moutinho Pereira, J. Caulino-uma nova estratégia no combate ao stress estival na vinha. *Enovitis - Revista Técnica de Viticultura e Enologia*, v.24, p.22-26, 2011.
- Markwell, J.; Osterman, J. C.; Mitchell, J. L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, v.46, n.3, p.467-472, 1995. <<http://dx.doi.org/10.1007/BF00032301>>.
- Munné-Bosch, S.; Jubany-Marí, T.; Alegre, L. Enhanced photo - and antioxidative protection, and hydrogen peroxide accumulation in drought-stressed *Cistus* and *Cistus* plants. *Tree Physiology*, v.23, n.1, p.1-12, 2002. <<http://dx.doi.org/10.1093/treephys/23.1.1>>.
- Rogiers, S. Y.; Greer, D. H.; Hutton, R. J.; Landsberg, J. J. Does night-time transpiration contribute to anisohydric behaviour in a *Vitis vinifera* cultivar? *Journal of Experimental Botany*, v.60, n.13, p.3751-3763, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erp217>>.
- Santesteban, L. G.; Miranda, C.; Royo, J. B. Effect of water deficit and rewatering on leaf gas exchange and transpiration decline of excised leaves of four grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, v.121, n.4, p.434-439, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2009.03.008>>.
- Sapeta, H.; Costa, J. M.; Lourenço, T.; Maroco, J.; Van der Linde, P.; Oliveira, M. M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. *Environmental and Experimental Botany*, v.85, p.76-84, 2013. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.08.012>>.
- Souza, C. R. de; Soares, A. M.; Regina, M. A. Trocas gasosas de mudas de videira, obtidas por dois porta-enxertos, submetidos à deficiência hídrica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.10, p.1221-1230, 2001. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2001001000002>>.
- Vilela, B. J.; Carvalho, L. C.; Ferreira, J.; Amâncio, S. Gain of function of stomatal movements in rooting *Vitis vinifera* L plants: regulation by H₂O₂ is independent of ABA before the protruding of roots. *Plant Cell Reports*. v.26, n.12, p.2149-2157, 2007. <<http://dx.doi.org/10.1007/s00299-007-0427-3>>.