

Absorção de água pelas folhas de sobreiro (*Quercus suber L.*)

Vasco de Albuquerque Mota Mendes de Abreu

Dissertação para obtenção do grau de mestre em
Engenharia Agronómica

Orientadores: Doutora Raquel Lobo Vale

Júri:

Presidente: Doutor João Rui Rolim Fernandes Machado Lopes, Professor auxiliar do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Maria da Conceição Brálio de Brito Caldeira, Professora auxiliar do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutora Raquel Lobo do Vale, Investigadora júnior do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, orientadora.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à doutora Raquel Lobo do Vale, pela orientação e pelo desafio que me confiou. Muitos foram os conhecimentos que me transmitiu, no laboratório, na estufa e nos inacabáveis dias (e noites) de campo em Vila Viçosa. Agradeço também por me ter proporcionado sempre a oportunidade de trocar ideias e sugestões, nos muitos momentos de *brainstorming* motivados sempre pela ciência e descoberta.

Deixo um agradecimento, também especial, à Lourdes Marçal que me ajudou sempre e incansavelmente nas inúmeras medições e na manutenção do ensaio. Vou relembrar com muito carinho todas as conversas sobre o campo, as “gentes” e a comida.

Não esquecendo também a professora Conceição Caldeira, a Ana Rodrigues, a Carla Faria e por todos os que me deram valiosos conselhos durante este caminho.

Aos meus amigos, do ISA e fora dele, pois foi com eles que tudo começou. E com eles há de continuar!

À minha família, à Carlota, pois estiveram sempre com um olhar atento e interessado neste trabalho. Que remédio!

A alguém que já cá não está!

À Mi.

Resumo

A absorção de água pelas folhas (*Foliar Water Uptake*, FWU) é um fenômeno que ocorre em diferentes espécies de plantas de diversos ecossistemas e pode ser um complemento à água absorvida pelas raízes, com a capacidade de melhorar o estado hídrico das plantas. Quanto aos ecossistemas Mediterrânicos, pouco se sabe sobre a FWU. No entanto, com o aumento da aridez previsto em consequência das alterações climáticas, a FWU poderá assumir uma importância cada vez maior no funcionamento e resiliência destes ecossistemas e, em particular dos montados, onde se tem vindo a observar um aumento da mortalidade e perda de vitalidade do sobreiro (*Quercus suber*). Além disso, a FWU será especialmente relevante em eventos de pequena precipitação, formação de orvalho e nevoeiro.

Neste estudo, pretendeu-se avaliar a ocorrência da FWU em sobreiro, qual a sua contribuição para o estado hídrico das árvores e se será maior em locais mais secos. Para tal, estabeleceu-se um ensaio em condições controladas com plantas de sobreiro de duas proveniências (Companhia das Lezírias e Vila Viçosa), as quais foram submetidas a diferentes disponibilidades hídricas: bem regadas (W), seca (D, regadas a cada duas semanas) e pulverizadas (S, rega do D + pulverizadas 3 x semana). Mediu-se periodicamente o potencial hídrico de madrugada e ao meio-dia e determinou-se a FWU. O crescimento e a mortalidade foram avaliados no final do ensaio.

A FWU ocorreu em 76% das folhas amostradas (n=450), que conduziram à entrada de água de $0,66 \pm 0,02$ mg cm⁻² de folha (média \pm erro padrão), com o consequente ganho de $5,4 \pm 0,2\%$ do teor relativo em água e uma melhoria do estado hídrico de $0,44 \pm 0,02$ MPa. Não foram observadas diferenças entre proveniências na FWU. A pulverização teve um efeito benéfico nas plantas, atrasando a progressão do stresse hídrico, que se refletiu em maior sobrevivência.

Palavras-chave: FWU, resiliência, Mediterrâneo, orvalho, seca.

Abstract

Water uptake by leaves (Foliar Water Uptake, FWU) is a phenomenon that occurs in different plant species from various ecosystems and can complement root water uptake, enhancing the hydric state of the plants. Regarding Mediterranean ecosystems, little is known about FWU. However, with the expected increase in aridity due to climate change, FWU may become increasingly important in the functioning and resilience of these ecosystems, particularly in cork oak forests, where an increase in cork oak (*Quercus suber* L.) mortality and loss of vitality has been observed. Additionally, FWU will be especially relevant during events of low precipitation, dew formation, and fog.

This study aimed to assess the occurrence of FWU in cork oak, its contribution to the trees hydric state, and whether it is more pronounced in drier locations. To do so, an experiment was conducted under controlled conditions using cork oak plants from two different sources (Companhia das Lezírias and Vila Viçosa). These plants were subjected to various watering regimes: well-watered (W), dry (D, watered every two weeks), and sprayed (S, D + sprayed three times a week). Morning and midday leaf water potential were periodically measured, and FWU was determined. Growth and mortality were assessed at the end of the experiment.

FWU occurred in 76% of the sampled leaves (n=450), resulting on a water uptake of $0,66 \pm 0,02$ mg cm⁻² of leaf (mean \pm standard error), leading to a gain of $5,4 \pm 0,2\%$ in relative water content and an improvement in the hydric state of $0,44 \pm 0,02$ MPa. No differences in FWU were observed between the two sources. Spraying had a beneficial effect on the plants, delaying the onset of water stress, which translated into higher survival rates.

Keywords: FWU, resilience, Mediterranean, dew, drought.

Índice

Agradecimentos	I
Resumo.....	II
Abstract.....	III
Índice de Tabelas	VI
Índice de Figuras.....	VII
Lista de abreviações	IX
1. Introdução	1
1.1 O Montado de sobro e a FWU.....	2
1.2 FWU.....	4
1.2.1 Processos biofísicos da absorção de água pelas folhas.....	5
1.2.2 As vias de absorção de água pelas folhas	7
1.2.3 Implicações da FWU na árvore	10
1.3 Eventos de pequena precipitação, queda de orvalho e nevoeiro.....	12
1.4 Objetivos	13
2. Materiais e métodos	15
2.1 Material vegetal e condições de crescimento	15
2.2 Delineamento experimental e tratamentos	15
2.3 Determinação da dotação de rega	17
2.4 Avaliação do crescimento e mortalidade	18
2.5 Avaliação do estado hídrico das plantas	18
2.6 Medição da absorção de água pelas folhas (FWU)	18
2.7 Análise estatística	20
3. Resultados	22
3.1 Mortalidade e crescimento	22
3.2 Potencial hídrico foliar de madrugada (Ψ_{pd})	23
3.3 Potencial hídrico foliar do meio-dia (Ψ_{md}).....	26
3.4 Ψ_{md} em função do Ψ_{pd}	28
3.5 FWU.....	30

4. Discussão	32
4.1 Mortalidade e crescimento	32
4.2 Potencial hídrico foliar dos tratamentos.....	33
4.3 Ψ_{md} em função do Ψ_{pd}	36
4.4 FWU.....	38
5. Conclusão	40
6. Referências Bibliográficas	42

Índice de Tabelas

Tabela 1. Parâmetros das diferentes regressões lineares resultado do potencial hídrico de madrugada contra o potencial hídrico do meio-dia, $\Psi_{md}(\Psi_{pd})$, em que, Δ, d e R^2 são, respetivamente, o valor do Ψ_{md} no eixo das ordenadas, o declive e o coeficiente de determinação da regressão.....	30
--	-----------

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema da analogia à lei de Ohm para o transporte de água nas plantas. R é a resistência hidráulica das várias partes da planta; Ψ_{soil} , Ψ_{root} , Ψ_{stem} , Ψ_{leaf} e Ψ_{atm} são os potenciais hídricos do solo, raízes, caule, folhas e atmosfera, respetivamente. R_{so} , R_r , R_{st} , R_T e K_{FWU} , são, respetivamente, as resistências hidráulicas das raízes, caule, folhas, estomas (e camada limite) e condutância hidráulica das vias de FWU (Schreel & Steppe, 2020).	6
Figura 2. Fluxo antes e depois da FWU: (a) fluxo que antecede qualquer evento de precipitação; (b) fluxo num evento de precipitação (ou início do evento) que molha sobretudo as folhas e resulta em fluxo bidirecional na árvore; (c) redução do fluxo ascendente, porque o evento de precipitação não abastece o solo; (d) fluxo reverso que conduz à exsudação pelas raízes, melhorando ligeiramente o potencial de água no solo (Fonte: Schreel & Steppe, 2020).	10
Figura 3. Esquema simplificado da movimentação dos vasos na sala climatizada (Created with BioRender.com).	16
Figura 4. Pulverização das plantas do tratamento Sprayed (S) (Fonte: Autor).....	17
Figura 5. Folha destacada com o pecíolo não submerso e inserido em massa aderente (Fonte: o Autor).	19
Figura 6. Percentagem de plantas que sobreviveram por tratamento, em cada proveniência, até ao final do ensaio (27/01/2023).	22
Figura 7. Variação do diâmetro do caule (esquerda), em mm, e da altura das plantas (direita), em cm, entre 05/09/2022 e 27/01/2023. Os valores apresentados correspondem à média±EP por tratamento e proveniência. As letras minúsculas e maiúsculas indicam grupos com a média estatisticamente diferente quanto ao tratamento e quanto à proveniência, respetivamente.....	23
Figura 8. Evolução do potencial de hídrico de madrugada, Ψ_{pd} , das plantas de sobreiro de cada tratamento e proveniência durante o período compreendido entre 08/09/2022 e 26/01/2023. Os valores apresentados correspondem à média±EP das 5 folhas amostradas por tratamento e proveniência, em cada data de medição. As letras minúsculas e maiúsculas indicam grupos com a média estatisticamente diferentes quanto ao tratamento e quanto à proveniência, respetivamente.....	24
Figura 9. Depleção, em %, em relação à capacidade de campo (CC) da quantidade de água dos vasos de cada tratamento.....	25
Figura 10. Evolução do potencial de hídrico do meio-dia, Ψ_{md} , das plantas de sobreiro de cada tratamento e proveniência durante o período compreendido entre 8 de setembro de 2022 e 26 de janeiro de 2023. Os valores apresentados correspondem à média±EP das 5 folhas amostradas por tratamento e proveniência, em cada data de medição. As letras minúsculas e	

maiúsculas indicam grupos com a média estatisticamente diferentes quanto ao tratamento e quanto à proveniência, respectivamente.	27
Figura 11. Nuvem de pontos do potencial hídrico de madrugada (eixo das abcissas) vs. o potencial hídrico do meio-dia (eixo das ordenadas), em MPa, e a respectiva reta de regressão.	29
Figura 12. Relação entre o potencial de água da folha, antes da submersão, Ψ_i , em MPa, e a absorção foliar de água, FWU, em mg cm^{-2} . As barras horizontais e verticais correspondem, respectivamente, ao erro padrão dos valores do potencial hídrico foliar e dos valores da FWU de cada classe.	31

Lista de abreviações

CC	Capacidade de campo
CL	Companhia das Lezírias
D	Tratamento de seca (<i>Drought</i>)
DW	Peso seco (<i>Dry Weight</i>) (mg)
EP	Erro padrão
FWU	Absorção de água pelas folhas (<i>Foliar water uptake</i>)
FWU _{CAP}	Capacidade de absorção de água pelas folhas (<i>FWU capacity</i>) (mg cm ⁻²)
HAS	Ativação hidráulica do estoma (<i>Hydraulic activation of stomata</i>)
LM	Massa da folha (<i>Leaf Mass</i>) (mg)
LM _i	Massa da folha antes da submersão (mg)
LM _f	Massa da folha depois da submersão (mg)
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa (<i>Photosynthetically Active Radiation</i>)
R	Resistência à transpiração (g ⁻¹ h MPa)
RWC	Conteúdo em água relativo (<i>Relative water content</i>) (%)
SWU	Absorção de água pelo tronco (<i>Stem and bark water uptake</i>)
S	Tratamento de seca e pulverizado (<i>Sprayed</i>)
T	Taxa da transpiração (g h ⁻¹)
TW	Peso túrgido (<i>Turgid weight</i>) (mg)
VV	Vila Viçosa
W	Tratamento “controlo” (<i>Well Watered</i>)
WUE	Eficiência do uso da água (<i>Water use efficiency</i>)
Ψ _{md}	Potencial hídrico foliar do meio-dia (<i>Midday</i>) (MPa)
Ψ _{pd}	Potencial hídrico foliar de madrugada (<i>Predawn</i>) (MPa)
Ψ _{leaf}	Potencial hídrico foliar (MPa)

Ψ_i	Potencial hídrico foliar antes da submersão (MPa)
Ψ_f	Potencial hídrico foliar depois da submersão (MPa)
Ψ_{atm}	Potencial de água da atmosfera (MPa)
Λ	Valor do potencial hídrico do meio-dia no eixo das ordenadas (MPa)
d	Declive da reta de regressão
R^2	Coefficiente de determinação
K_{FWU}	Condutividade das vias de absorção de água pelas folhas ($g^{-1} h MPa^{-1}$)

1. Introdução

A absorção de água pelas folhas (*foliar water uptake*, FWU), é um fenómeno que ocorre em diversas espécies de plantas presentes em diferentes ecossistemas (Berry et al., 2019; Dawson & Goldsmith, 2018). Foi observada em cerca de 90% das espécies vegetais estudadas (Schreel & Steppe, 2020). Quando ocorre, pode ser um complemento à água que é absorvida pelas raízes, com a capacidade de melhorar significativamente o estado hídrico das plantas (Breshears et al., 2008; Schreel & Steppe, 2020).

No que se refere aos ecossistemas Mediterrânicos, estes terão de lidar com secas cada vez mais frequentes e pronunciadas (IPCC, 2021). Neste contexto, pouco se sabe sobre a ocorrência da FWU e qual o seu contributo para o estado hídrico das plantas. No entanto, este contributo tem a aptidão de ser particularmente relevante nestes ecossistemas, uma vez que a mortalidade após eventos de seca extrema, ou a sujeição a secas anuais sucessivas, são as principais limitações à regeneração natural e à vitalidade do montado (Lobo-do-Vale, Haberstroh, et al., 2023; Lobo-do-Vale, Rafael, et al., 2023).

As regiões de clima Mediterrânico são particularmente suscetíveis às alterações climáticas. O aumento da temperatura nestas regiões, que se espera ser superior ao aumento da temperatura média global, terá a sua maior expressão no verão, avultando os picos de stresse hídrico a que as árvores estão sujeitas. Os extremos de temperatura, nomeadamente temperaturas elevadas, aliados à redução da precipitação (Lionello & Scarascia, 2018; Trambly et al., 2020), proporcionam condições para o aumento da aridez e, conseqüentemente, maior vulnerabilidade das árvores ao stresse hídrico e a pragas, doenças (Bussotti et al., 2015).

Tendo em conta o relatório do IPCC (2021), onde se inclui a região Mediterrânica de entre as mais afetadas por anomalias climáticas, surge a necessidade de melhor compreender a forma como as plantas usam a água, nomeadamente quando ocorrem eventos de pequena precipitação, formação de orvalho e de nevoeiro, levando à absorção de água pelas folhas (Limm et al., 2009).

Segundo Schreel & Steppe (2020), e de acordo com a classificação climática de Köppen–Geiger, cerca de 82% das espécies vegetais que habitam em regiões com verão seco realizam FWU, entre elas a azinheira (*Quercus rotundifolia* Lam.) (Fernández et al., 2014), que comumente coexiste com o sobreiro no montado.

Os ecossistemas florestais têm um papel relevante na regulação do clima e, sobretudo, na regulação do ciclo da água e no ciclo do carbono. Um melhor entendimento sobre o impacto

das várias fontes de água no balanço hídrico das plantas e na assimilação de carbono serão úteis para uma melhor gestão dos ecossistemas Mediterrânicos. Em Portugal, os dados sobre a formação de orvalho e intersecção de nevoeiro são escassos, no entanto, estes eventos de precipitação oculta poderão desempenhar um papel central nas várias estratégias e adaptações do montado face à seca. Pelo que, o sucesso da gestão sustentável e do restauro destes ecossistemas beneficiarão fortemente destes progressos científicos.

Ademais, e se a incerteza climática ficar aquém para motivar a problemática, existe a necessidade exploratória por um mecanismo, a FWU, que parece ser comum também nos ecossistemas de verões secos, mas é pouco contabilizada no seu entendimento e tampouco incluída nos modelos de vegetação.

1.1 O Montado de sobreiro e a FWU

O sistema agroflorestal conhecido como montado, é um ecossistema típico da bacia mediterrânica. Os montados estendem-se sobre uma área de 6 milhões de hectares no sul da península ibérica (Joffre et al., 1999; Olea, 2006; Pereira & Pires da Fonseca, 2003). O montado é caracterizado pela presença de árvores relativamente esparsas sobre planícies e relevo suave e ondulado, onde subsidia uma enorme variedade de espécies vegetais e animais. Esta enorme biodiversidade representa aproximadamente 30% das espécies de plantas, 40% das espécies de aves e de 60% dos mamíferos e répteis presentes na Península Ibérica (Pineda & Montalvo, 1995).

Normalmente associado a zonas pouco produtivas, o montado é composto maioritariamente por azinheiras (*Quercus rotundifolia*) e sobreiros (*Quercus suber*), com uma densidade de 20 a 80 árvores por hectare. A presença humana contínua transformou-o num sistema agrosilvipastoril, em que a extração da lenha e da cortiça, a produção agrícola no sub-coberto, juntamente com o pastoreio e sucessivos cortes da flora arbustiva, resultaram num ecossistema menos estratificado e com menor densidade de árvores (Arosa, 2015). Contudo, em diversas situações, a intervenção humana favoreceu o aumento da sua heterogeneidade e biodiversidade, criando uma grande diversidade de biocenoses que são exemplos relevantes da co-evolução do homem com a natureza (Blondel, 2006; Pereira & Pires da Fonseca, 2003).

O sobreiro é uma espécie esclerófila perene com ocorrência preferencial em solos ácidos a oeste da bacia Mediterrânica, adaptada ao clima xérico (Natividade, 1950). Estas árvores beneficiam da influência atlântica, pelo que as condições ótimas se situam entre temperaturas médias de 14-19 °C e de pluviosidade anual entre 600 e 800 mm. Devido ao elevado

investimento em raízes extensas e profundas, o sobreiro é capaz de sobreviver com menos de 500 mm anuais (Natividade, 1950).

O sobreiro é a espécie com maior relevância económica no montado. Em Portugal, representa cerca de 22% da floresta portuguesa, segundo o IFN 6 (6º Inventário Florestal Nacional, ICNF, 2015), e tem maior predominância no Alentejo. O país é líder incontestável na produção de cortiça, com um peso de 46% na produção mundial (APCOR - Associação Portuguesa da Cortiça, 2023). A cortiça é utilizada para diversos fins, salientando-se a transformação em rolhas e em material de construção. O desenvolvimento da indústria corticeira permitiu uma orientação exportadora que tem vindo a crescer. Atualmente, este setor apresenta um saldo positivo na balança comercial de 935 M€ (APCOR - Associação Portuguesa da Cortiça, 2023). Para além disso, a mesma fonte estima que aproximadamente 100 euros por ano (por hectare) digam respeito a serviços ambientais do montado, assumindo importância na resiliência destes ecossistemas e na mitigação das externalidades causadas pelo desenvolvimento antrópico, como as causadas pela alteração do uso da terra, que seriam impostas se a exploração do montado, nas suas diversas formas, não fosse viável e sustentável.

A vitalidade da floresta portuguesa e, em particular, a do montado, tem vindo a ser afetada pelas alterações climáticas, bem como por práticas de gestão ineficientes. O sobrepastoreio e as mobilizações de solo que danificam as raízes superficiais do sobreiro, têm vindo a aumentar a vulnerabilidade das árvores às pragas e doenças (Arosa, 2015). Por outro lado, fatores abióticos como eventos extremos (vagas de calor e/ou secas recorrentes ou prolongadas) têm conduzido à perda de vitalidade geral dos montados (Pinto-Correia & Godinho, 2013). Ainda, não é de todo incomum, encontrarem-se montados bem estabelecidos, com árvores de idade semelhante, em que a regeneração natural é praticamente inexistente. Nestas situações, a longevidade e a manutenção deste ecossistema pode estar comprometida (Arosa et al., 2017).

Muitos são os fatores que ditam o sucesso da regeneração natural, sejam eles bióticos, abióticos ou, exclusivamente, propiciados pelas práticas de gestão. Segundo Arosa (2015), a temperatura e a humidade relativa regulam a emergência e a sobrevivência das plântulas. O tamanho das bolotas e o grau de cobertura beneficiam a germinação, a sobrevivência e o desenvolvimento das plântulas. A predação por herbívoros pode ser uma das mais importantes limitações à regeneração natural. Os encabeçamentos elevados e, sobretudo, a herbivoria de gado bovino representam uma forma de gestão do montado que põe em causa o sucesso da mesma. A seca é, em particular, um fator que se irá amplificar com as alterações climáticas, sendo ainda incerto em que medida esta promoverá alterações na ecologia do montado. De acordo com o relatório do IPCC (2021), as secas serão mais frequentes e mais

severas e o território experimentará menos precipitação sobretudo no inverno e na primavera. Ora, precisamente na primavera, a fenologia do sobreiro coincide com o abrolhamento e crescimento vegetativo. Neste contexto, a avaliação das mudanças nos ciclos hidrológicos é de grande importância para a situação hídrica dos montados. Um melhor entendimento das várias vias de absorção de água por parte das árvores, isto é, daquelas que ainda pouco se sabe, como é o caso da FWU, permitirá avaliar com maior detalhe a vulnerabilidade do montado à seca. Na ausência de precipitação significativa, mas em eventos de pequena precipitação, antecipa-se que a FWU possa assumir um papel relevante na vitalidade do montado, bem como um mecanismo de redistribuição hidráulica e de mitigação de embolismos. Desse modo, a dependência das árvores à FWU, que na sua dimensão desconhecemos, e face à evolução climática quanto aos eventos de pequena precipitação, formação de orvalho e de neblina, poderá ter uma importância acrescida com as alterações climáticas. Os sobreiros, estando sujeitos a longos períodos de seca, poderão depender muito mais daquilo que comumente se pensa destes eventos que deixam a folha molhada e conduzem à FWU.

1.2 FWU

Da absorção de água que ocorre diretamente pelas folhas foram identificadas três vias distintas: a entrada de água pelas cavidades estomáticas (Ketel et al., 1972); difusão pela cutícula (Burkhardt, 2010); e através de estruturas como os tricomas ou hidátodos (Fernández et al., 2014; Ohruí et al., 2007). Por exemplo, Fernández et al. (2014), estudando a azinheira, observou que a FWU ocorreu principalmente através das cicatrizes deixadas pela queda dos tricomas da página adaxial das folhas.

De forma que ocorra FWU, bastará uma fonte de água e um gradiente de potencial hídrico favorável à entrada de água nas folhas (Eller et al., 2015; Rundel, 1982). Ao contrário do que anteriormente se pensava, a FWU não se limita a ocorrer em eventos atmosféricos que deixam a folha molhada. Esta também poderá ocorrer desde que o potencial da folha seja mais negativo que o da atmosfera e, portanto, mesmo na ausência de atmosfera saturada ou eventos de pequena precipitação a FWU pode assumir importância ecológica (Dawson & Goldsmith, 2018). As pesquisas feitas por Dawson & Goldsmith (2018) indicam que, em média, eventos de precipitação que molham exclusivamente as folhas (água que não chega ao solo) ocorrem em 77 dias por ano, nas florestas e bosques mediterrânicos.

A variedade de biomas onde se identificam espécies que realizam FWU origina que diferentes espécies o façam recorrendo a diferentes vias (Limm et al., 2009). Nesta temática, os estudos mais recentes apontam para uma sincronia das várias vias de FWU na mesma espécie (Boanares et al., 2018). Este autor, identificou duas estratégias distintas: a rapidez da FWU

e capacidade de FWU (quantidade de água absorvida), que coexistiram em *Cercis reniformis*, relacionadas com a entrada de água na folha tanto pela cutícula como pelos tricomas. Contudo, o peso relativo de cada via de absorção foliar de água é, ainda, um tema pouco estudado e que deve ser enfatizado (Schreel & Steppe, 2020).

A complexidade deste tema é inerente às características fisiológicas e morfológicas da folha, que são passíveis de variar com a idade da árvore e da folha (Burgess & Dawson, 2004). Desse modo, todos estes fatores poderão ser fonte de variabilidade ao nível das vias e da capacidade de FWU. Buckley (2005) ilustra bem a relação das vias de FWU e a sua complexidade, quando observou a abertura dos estomas em consequência da entrada de água pelos tricomas e hidátodos em folhas desidratadas de diversas espécies. O aumento do potencial hídrico foliar levou à regulação osmótica das células guarda dos estomas. Devido à maior robustez mecânica das células da epiderme, estas, quando túrgidas, promoveram a uniformização do potencial de água das células guarda, a que se sucedeu a abertura dos estomas e entrada de água (por via estomática).

1.2.1 Processos biofísicos da absorção de água pelas folhas

Segundo a teoria da coesão adesão, ao nível da folha, o transporte de água é regido pela transpiração (Dixon & Joly, 1895). Nesta teoria, o fluxo de água inicia-se pela entrada de água do solo para as raízes, seguida do seu transporte através dos vasos condutores do xilema até à subcavidade estomática, neste local evapora, e sai sob a forma de vapor de água dos estomas para a atmosfera. Este é o fluxo normal no contínuo solo-planta-atmosfera. Quando o potencial de água nas raízes é inferior ao potencial das folhas, o fluxo do contínuo para e torna-se reverso (Nadezhdina et al., 2010). Nestas condições existe uma redistribuição hidráulica para as regiões deficitárias em água na árvore.

A taxa da transpiração (T , $g\ h^{-1}$) depende da diferença entre o potencial de água da folha (Ψ_{leaf}) e o potencial de água da atmosfera (Ψ_{atm}), $\Psi_{leaf} - \Psi_{atm}$, pelo que, uma diferença positiva ou um potencial mais negativo na atmosfera conduzirá à transpiração. Pelo contrário, com uma diferença negativa ou um potencial mais negativo na folha poderá ocorrer a FWU. As equações de van de Honert (van den Honert, 1948) demonstram esta relação:

$$T = \frac{\Psi_{leaf} - \Psi_{atm}}{R} \quad [1]$$

Quando $\Psi_{leaf} > \Psi_{atm}$ e em que T é a transpiração, em $g\ h^{-1}$, Ψ é o potencial hídrico ou de água, em MPa, e R a resistência à transpiração, em $g^{-1}\ h\ MPa$, que inclui a resistência estomática e da camada limite.

Contudo, quando $\Psi_{leaf} < \Psi_{atm}$, os restantes termos da equação não são necessariamente inversos. A resistência à transpiração aquando da transpiração ao nível da folha, representa-se por R e é um coeficiente que descreve a resistência encontrada no caminho do vapor de água pela subcavidade estomática e pelas imediações dos estomas até à atmosfera, contudo, no que diz que respeito à FWU, esse caminho poderá ser feito por três vias distintas, já referidas anteriormente. Pela integração destas vias na FWU, R não é necessariamente o inverso de K_{FWU} (condutividade hidráulica associada à FWU) e a equação descreve da seguinte forma:

$$FWU = (\Psi_{leaf} - \Psi_{atm}) \times K_{FWU} \quad [2]$$

Em que, FWU é a absorção de água pelas folhas, em $g\ h^{-1}$, e K_{FWU} é a condutividade das vias de absorção foliar, em $g\ h^{-1}\ MPa^{-1}$. Caso a absorção de água pelas folhas ocorra sobretudo pela via estomática, o que poderá ser verdade para algumas árvores, R e o inverso de K_{FWU} poderão ter a mesma ordem de grandeza, não obstante de tais casos necessitarem de maior investigação (Binks et al., 2019).

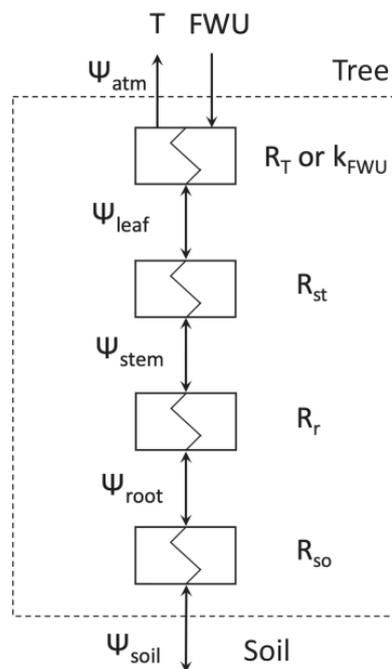


Figura 1. Esquema da analogia à lei de Ohm para o transporte de água nas plantas. R é a resistência hidráulica das várias partes da planta; Ψ_{soil} , Ψ_{root} , Ψ_{stem} , Ψ_{leaf} e Ψ_{atm} são os potenciais hídricos do solo, raízes, caule, folhas e atmosfera, respetivamente. R_{so} , R_r , R_{st} , R_T e K_{FWU} , são, respetivamente, as resistências hidráulicas das raízes, caule, folhas, estomas (e camada limite) e condutância hidráulica das vias de FWU (Schreel & Steppe, 2020).

No que diz respeito ao restante transporte de água do contínuo atmosfera-planta-solo, excetuando o fluxo entre atmosfera e a folha, em condições de redistribuição hidráulica ou fluxo reverso de água este procede de forma semelhante (Figura 1). Ou seja, em ambos os fluxos, normal ou reverso, a resistência no xilema, na raiz e no solo são, em igualdade de condições, iguais.

Além da absorção de água pelas folhas, outros fenômenos que contribuem para a redistribuição hidráulica e reparação de embolismos têm o seu peso relativo em algumas espécies vegetais. A absorção de água através do tronco e dos tecidos lenhificados, conhecida na comunidade científica como *stem or bark water uptake*, SWU, e avaliada por Mayr et al. (2014), revelou-se também importante na recuperação hidráulica das árvores. Tendo em conta os diferentes caminhos de incorporação de água nas plantas, quando o stresse hídrico ambiental lhes é imposto, torna-se relevante distinguir e separar a FWU da SWU pelo motivo de que, ambas, podem assumir um papel conjunto durante eventos de saturação atmosférica e pequena precipitação. Por outro lado, devido à maior exposição das folhas espera-se, com necessidade de experimentação, que a deposição de orvalho, interseção de nevoeiro e os eventos de pequena precipitação molhem sobretudo as folhas e, então, a FWU assuma o papel mais relevante na incorporação de água em ecossistemas mediterrânicos. Relativamente ao sobreiro, e considerando a sua casca suberizada, será de esperar uma muito reduzida ou até inexistente SWU.

1.2.2 As vias de absorção de água pelas folhas

1.2.2.1 Hipótese da difusão cuticular

A cutícula das folhas é composta por uma matriz de polímeros, a cutina, e por ceras cuticulares, que se encontram ligados à parede celular da epiderme através de polissacarídeos, também estes considerados parte da cutícula (Yeats & Rose, 2013). A principal função da cutícula é atuar como barreira protetora contra perda excessiva de água, ataques de microrganismos, danos mecânicos e outros stresses ambientais (Riederer & Schreiber, 2001). A cutícula tem propriedades hidrofóbicas pelo que, quando a FWU se dá por esta via, o fluxo dependerá da permeabilidade da cutícula e do tempo que a água é capaz de permanecer sobre a folha sem que escorra (Fernández et al., 2017). A permeabilidade da cutícula varia quando as folhas são sujeitas a eventos frequentes de humedecimento (Eller et al., 2013; Pina et al., 2016; Goldsmith, 2013). O aumento da turgidez e inchaço da cutícula durante exposição prolongada à humidade, conduz à formação de poros e de conexões com a epiderme superior da folha (superfície adaxial da folha). Por outro lado, estes poros tendem a desaparecer quando as folhas são expostas por períodos longos a um ambiente seco, pelo que parece existir uma resposta dinâmica relativamente a um continuum-aquoso da

superfície adaxial da folha. Considerando a proximidade costeira ou continentalidade de cada montado, será de esperar que esta via de absorção foliar assumira menor ou maior importância, dependendo da ocorrência frequente de fenómenos como nevoeiro e formação de orvalho.

Em sobreiro, foram identificadas variações sazonais na composição da cutícula para maximizar a proteção contra a desidratação, nomeadamente, o aumento da densidade e cobertura das ceras cuticulares durante os meses de verão (Simões et al., 2023). No presente estudo foram usadas plantas de sobreiro de locais distintos, Companhia das Lezírias (CL) e Vila Viçosa (VV). Dado que na CL a influência marítima promove uma maior ocorrência de nevoeiro (IPMA, 2023), conjecturamos que a via cuticular de FWU tenha maior peso nos sobreiros da Companhia das Lezírias em comparação com Vila Viçosa, através da resposta dinâmica da cutícula a eventos frequentes de humedecimento.

1.2.2.2 Hipótese das estruturas foliares: tricomas e hidátodos

Existem vários tipos de tricomas que podem, simultaneamente, coexistir na mesma folha, sejam eles glandulares, não glandulares, em formato filiforme (pelo) ou escama (Johnson, 1975). Cada tipo de tricoma pode ter, uma relação funcional específica com a FWU. Segundo Molinas (1991), a folha do sobreiro apresenta tricomas glandulares e não glandulares, estes últimos com formato filiforme. Os tricomas glandulares do sobreiro, presentes na superfície adaxial da folha, são descritos como sendo curtos e multicelulares, com a extremidade secretora coberta por uma cutícula delgada. Os tricomas filiformes, presentes na superfície abaxial do sobreiro, induzem a formação de uma camada limite sobre a superfície da folha, dando origem a condições muito particulares no continuum folha-atmosfera. Benz & Martin (2006) refere nos seus estudos que a redução da transpiração devido à camada limite induzida pelos tricomas pode ser negligenciada, implicando que a eventual condição facilitadora à incorporação de água ou FWU não se aplicaria ou não seria relevante. Por contraste, as cicatrizes deixadas pela queda dos tricomas, foi demonstrado serem uma via para a entrada de água pelas folhas, em azinheira nos ensaios de Fernández et al. (2014). Enquanto em algumas espécies os tricomas parecem reduzir a capacidade da folha em reter líquidos, noutras é reportado melhorar significativamente a sua molhabilidade e retenção de água (Grammatikopoulos & Manetas, 1994). A interação da água com as superfícies foliares e mediadas pelos tricomas são, desta forma, particulares a cada espécie. Como ilustração, Fernández et al. (2014), reporta que a molhabilidade e aderência às gotas de água é superior na página adaxial ou superior da folha de azinheira, onde os tricomas estão presentes sobretudo em folhas jovens, e que com a maturidade das folhas os tricomas tendem a reduzir

a energia livre da superfície, bem como o parâmetro de solubilidade. Portanto, tornando-se mais repelentes à água.

1.2.2.3 Hipótese da via estomática

A via estomática inicialmente considerada como a via mais provável para a FWU, transitou para o estatuto de que não seria por esse meio que ocorreria a entrada de água devido à formação de gotículas (alta tensão superficial) (Fernández et al., 2017). No entanto, atualmente, a via estomática volta a ser revigorada como um dos caminhos mais prováveis para a entrada de água nas folhas. Uma das principais teorias em seu favor, é a possibilidade dos estomas serem ativados pela formação de uma fina camada aquosa (≤ 100 nm) que conecta o apoplasto (espaço intercelular) com a superfície da folha. Este fenómeno, conhecido como HAS (Hydraulic activation of stomata), e reportado em *Sequoia sempervirens* (Burgess & Dawson, 2004) e em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) (Burkhardt et al., 2012), pode ocorrer devido a vários fatores, incluindo a presença de hifas de fungos, mucilagem epistomática e aerossóis higroscópicos. Por exemplo, quando a humidade relativa atinge o ponto de deliquescência de algumas substâncias, os aerossóis higroscópicos formam uma solução líquida, desenvolvendo uma fina película de água na superfície da folha que resulta num transporte bidirecional de água e solutos entre a superfície e o interior da folha. Obviamente, o valor da humidade relativa que leva à deliquescência de certas substâncias e aerossóis dependerá de si mesmas ou do composto higroscópico. Alguns compostos higroscópicos conhecidos são sais como o cloreto de sódio, os nitratos e os sulfatos, e outros elementos inorgânicos como metais, o cálcio e o magnésio.

1.2.2.4 Idade e morfologia da folha

Em diversas espécies foi reportada uma diminuição da área foliar individual e um aumento da espessura da cutícula com o avançar da idade da árvore (Steppe et al., 2011). A presença de ceras hidrofóbicas diminui a superfície de contacto entre a folha e as gotículas de água. Esta interação favorece a formação de gotas maiores que darão origem à sua escorrência na folha. As relações entre as gotas e ambas as superfícies da folha trarão impactos na ocorrência de FWU. De uma forma geral, qualquer interação que favoreça o tempo de permanência das gotas de água sobre as folhas também favorecerá a sua absorção. Neste contexto, durante eventos de nevoeiro, pequena precipitação ou formação de orvalho, a posição e a inclinação das folhas serão outros aspetos a influenciar o tempo de permanência das gotas de água na folha. Em igualdade destas condições, da inclinação e das características da cutícula, na folha individual, será a área da folha a fazer variar a quantidade de FWU. A erosão e os danos na cutícula identificados nas folhas mais velhas de *Sequoia sempervirens* pareceu explicar

porque nesta espécie as folhas mais velhas absorveram mais água por FWU (Burgess & Dawson, 2004).

1.2.3 Implicações da FWU na árvore

Na ocorrência de FWU, o potencial de água das folhas aumenta favorecendo a hidratação dos tecidos e dos órgãos próximos à folha (Burgess & Dawson, 2004). Nesta situação, um fluxo bidirecional acontece sempre que o terço médio da árvore se encontra a potenciais mais negativos do que, simultaneamente, o do solo e o da folha (Figura 2b e c). Num evento de pequena precipitação e quando há água disponível no solo, mas longe de estar saturado, o fluxo da raiz e das folhas para regiões mais secas da planta é passível de acontecer. Nos eventos mais duradouros de folha molhada, ainda se poderá dar o caso da ocorrência de um fluxo unidirecional das folhas para a raiz (Figura 2d; Schreel & Steppe, 2020). Em condições de humidade elevada, o aumento do potencial de água da folha pode ser tal que excede o da raiz, conduzindo à exsudação radicular e a um aumento da reserva hídrica do solo. A exsudação radicular induzida pela absorção de água pelas folhas foi demonstrada no tomateiro por Breazeale & McGGeorge (1953). Para que tal aconteça, o evento de pequena precipitação, embora duradouro, não poderá de forma significativa aumentar o potencial de água do solo. Ora, em condições de chuva ligeira, a interceção do coberto pode impedir que o solo seja abastecido e não conduzir a variações do seu potencial em água (Schreel & Steppe, 2020), a não ser, às variações devidas ao fluxo reverso.

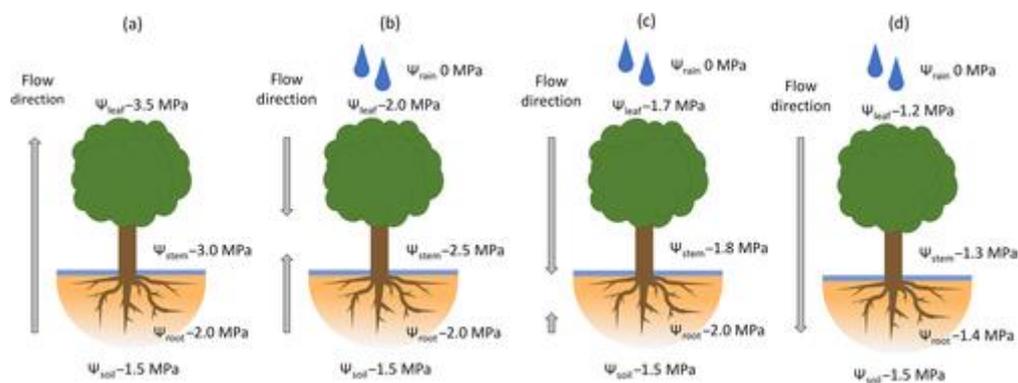


Figura 2. Fluxo antes e depois da FWU: (a) fluxo que antecede qualquer evento de precipitação; (b) fluxo num evento de precipitação (ou início do evento) que molha sobretudo as folhas e resulta em fluxo bidirecional na árvore; (c) redução do fluxo ascendente, porque o evento de precipitação não abastece o solo; (d) fluxo reverso que conduz à exsudação pelas raízes, melhorando ligeiramente o potencial de água no solo (Fonte: Schreel & Steppe, 2020).

A folha molhada tem influência na fotossíntese, na lavagem e incorporação de solutos, no estado hídrico da folha e no balanço hídrico da árvore. Contudo, poucos estudos têm respondido às questões fundamentais sobre a variação temporal e espacial do orvalho na copa da árvore. Além disso, quanto à humidade da copa, esta tem vindo a ser tratada como uma varável binária, copa molhada ou seca (Binks et al., 2021). De facto, este autor, verificou

que a formação espacial de orvalho na copa depende fortemente da estrutura da vegetação envolvente e que variou, sobretudo, horizontalmente. Um melhor entendimento sobre a variabilidade temporal e espacial da humidade na copa poderá significativamente melhorar a interpretação da *eddy covariance* (trocas gasosas) e dos dados remotos sobre os cobertos estudados (Binks et al., 2021) e aferir o impacto da copa molhada e da FWU na assimilação de carbono dos diferentes cobertos vegetais.

Ben-Asher et al. (2010) avaliaram o efeito formação de orvalho matinal em diferentes espécies presentes na região Mediterrânica, detetando, em separado, picos antecipados de fotossíntese e picos tardios de transpiração que conduziram a um aumento (2:1) da eficiência no uso de água (*water use efficiency*, WUE) na amostra afetada pela formação de orvalho. Por outras palavras, esse aumento traduz-se num aumento da fotossíntese com menor transpiração. Ainda que os autores não tenham estudado a possibilidade de FWU ter ocorrido, releva-se a importância do orvalho na regulação do estado hídrico das plantas.

A existência de folha molhada, e a acontecer FWU, num contexto de clima mais quente e seco, como se tem vindo a verificar, poderá ter um impacto positivo na eficiência fotossintética da árvore. Se por um lado, o efeito positivo que uma atmosfera mais rica em CO₂ poderá surtir nas taxas fotossintéticas, por outro, é limitado pela maior afinidade da RuBISCO ao O₂, isto é, favorecendo a fotorrespiração em condições de alta temperatura (Keys et al., 1977) . Também, o arrefecimento da folha e da camada limite devido a um evento de orvalho (ou qualquer outro, de pequena precipitação), poderá favorecer, em contrapartida, a afinidade da enzima ao CO₂, ou seja, a reação fotossintética. Ainda, se houver entrada de água através da FWU na folha, as trocas gasosas podem ser favorecidas resultando num aumento da fotossíntese. Estas considerações, juntamente com a redução da transpiração (que resulta das condições de maior humidade), podem estar em consonância com o aumento da WUE reportado por Ben-Asher et al. (2010) após queda de orvalho matinal.

Nos ecossistemas Mediterrânicos, a precipitação que ocorre no verão é insuficiente para compensar a evapotranspiração. Contudo, a formação de orvalho ou neblina matinal são frequentes nesta estação (Ben-Asher et al., 2010; Tomaszkiwicz et al., 2016). Assim, a FWU assume uma importância acrescida, pois nos meses em que as árvores experimentam o pico de défice hídrico, a absorção de água pelas folhas pode evitar um stresse ainda maior (propagação de embolismos), bem como, aumentar a turgidez das células guarda do estoma e permitir a assimilação de carbono (Schreel et al., 2019).

1.3 Eventos de pequena precipitação, queda de orvalho e nevoeiro

Dados meteorológicos registados num montado de sobreiro em Vila Viçosa, num período de dez anos (2011-2020), indicaram que 52% dos eventos de precipitação foram inferiores a 1 mm, dos quais 68% ocorreram no verão (Lobo-do-Vale, comunicação pessoal). Estes eventos registados quantitativamente em udógrafo dever-se-ão principalmente a queda de precipitação, mas não se poderá excluir a condensação noturna.

A importância do orvalho tem sido um tema controverso, Monteith (1963), nos seus estudos, criticou a forma leviana com que muitos autores se referiam ao orvalho, indicando-o apenas como uma fonte de inspiração poética. Posteriormente, a literatura científica salientou, sobretudo, o papel prejudicial do orvalho na propagação de fungos e doenças nas plantas (Huschke, 1991). No entanto, o impacto positivo do orvalho nas espécies vegetais tem sido abordado por alguns autores (Ben-Asher et al., 2010; Binks et al., 2021; Tomaszewicz et al., 2016), alertando para a necessidade de desenvolver modelos físicos e empíricos, de modo a prever a formação de orvalho num contexto de alterações climáticas e as suas implicações para a produtividade dos ecossistemas.

A neblina e a formação de orvalho são fenómenos meteorológicos distintos. A neblina ocorre quando a temperatura de uma camada de ar estável próxima do solo é igual à temperatura do ponto de orvalho (ar saturado). A sua deposição nas superfícies resulta da interseção do ar saturado, ou seja, das gotículas suspensas. Em contrapartida, para que a formação de orvalho ocorra, a descida da temperatura do ar até ao ponto de orvalho não é condição necessária, sendo apenas necessário que a temperatura da camada limite de qualquer superfície em contacto com o ar atinja o ponto de orvalho. Por esta razão, é muito mais comum, durante os meses secos, ocorrer a formação de orvalho do que de neblina. Por exemplo, a noroeste do deserto de Negev, Michael Evenari (1982) reportou que a queda de orvalho ocorre, em média, duzentas vezes por ano.

Os modelos discutidos por Tomaszewicz et al. (2016) que fornecem previsões para a evolução da colheita de orvalho durante o período entre junho e agosto são conflitantes. Um modelo prevê uma anomalia positiva entre 20 – 40% na colheita de orvalho até 2080, em contraste, outro aponta para uma anomalia negativa de 0 - -20%, nesse mesmo período e para as regiões portuguesas a sul do Tejo. Desse modo, o impacto das alterações na formação do orvalho no funcionamento, resiliência e produtividade do montado, num contexto das alterações climáticas, só poderá ser devidamente avaliado através da quantificação da FWU do sobreiro e das diferentes espécies.

Jacobs et al. (2002), avaliaram a proximidade de um modelo que estima a taxa de condensação nas superfícies, proposto por Garratt & Segal (1988) e Monteith (1981), à formação de orvalho no solo que efetivamente ocorreu (até 1 mm dia⁻¹) nos meses de verão, num local no deserto de Negev, obtendo estimativas muito próximas. De forma análoga, este modelo pode estimar a taxa de condensação na interface folha-ar. Este tipo de modelos juntamente com a recolha de dados remotos sobre a formação de orvalho, podem ser ferramentas muito importantes na compreensão e entendimento da FWU e o seu impacto nas espécies vegetais, nomeadamente, no auxílio à reflorestação e no desenvolvimento de medidas que favoreçam a regeneração natural do sobreiro.

1.4 Objetivos

O presente estudo pretende avaliar a capacidade de absorção de água pelas folhas de sobreiro e a sua contribuição para o estado hídrico da planta. Especificamente, procura responder às seguintes questões:

- O sobreiro é capaz de absorver água pelas folhas?
- Qual a contribuição da absorção de água pelas folhas no estado hídrico da planta?
- A FWU será maior em locais mais secos?

Para responder a estas questões estabeleceu-se um ensaio experimental, em condições controladas, com plantas de sobreiro provenientes de duas localizações distintas, Companhia das Lezírias e Vila Viçosa, respetivamente com influência costeira e influência continental, que foram submetidas a diferentes disponibilidades hídricas (três tratamentos): plantas regadas de forma abundante, plantas que foram sujeitas a stresse hídrico severo e plantas que foram a sujeitas a stress hídrico severo com adição de pulverização de água nas folhas. Mediu-se o potencial hídrico de madrugada (Ψ_{pd}) e do meio-dia (Ψ_{md}) das plantas ao longo do ensaio, bem como a sua capacidade em realizar FWU. Adicionalmente, para compreender como a FWU poderá ser uma estratégia face à seca, avaliou-se o crescimento das plantas e a sua mortalidade.

Tendo em conta que cada proveniência estudada poderá ter estratégias de uso da água distintas, analisou-se a relação entre o Ψ_{md} e o Ψ_{pd} de cada tratamento e proveniência.

No que diz respeito à FWU pelo sobreiro, as hipóteses são as seguintes:

- Dado que a azinheira realiza FWU (Fernández et al., 2014), que é funcionalmente semelhante ao sobreiro, é provável que também este realize.

- A FWU terá maior importância nos locais mais secos ou xéricos, uma vez que segundo Schreel et al. (2019) a quantidade de água absorvida aumenta com a descida do potencial hídrico da folha.
- A contribuição da FWU será significativa e fulcral para a tolerância do sobreiro à seca pois é um complemento à água que é absorvida pela raiz e, em condições de falta de água, melhora o seu estado hídrico e facilita a sua recuperação.

A Década das Nações Unidas da Restauração de Ecossistemas visa prevenir, interromper e reverter a degradação dos ecossistemas face às alterações climáticas e à crise da diversidade. O conhecimento gerado neste estudo tem o potencial de contribuir significativamente para mitigação dos efeitos nefastos das alterações climáticas. Além de respondermos às questões propostas, este avanço científico fornecerá informação relevante para melhor prevermos os impactos das alterações climáticas nos ecossistemas Mediterrânicos.

2. Materiais e métodos

2.1 Material vegetal e condições de crescimento

A capacidade de absorção de água pelas folhas foi estudada em plantas jovens de sobreiro, provenientes de duas localizações distintas, Companhia das Lezírias (CL, 38°49'N, 8°47'W) e Vila Viçosa (VV, 38°49'N, 7°25'W).

A escolha destas proveniências baseou-se no facto de já haver estudos a decorrer nestas propriedades, havendo assim dados climáticos e medições fisiológicas em árvores adultas. A Companhia das Lezírias situa-se junto à costa e Vila Viçosa no interior do país, sendo de esperar condições diferentes em termos de disponibilidade hídrica e da frequência de formação de orvalho.

As plantas foram produzidas em tabuleiros de germinação, no Viveiro Florestal do Instituto Superior de Agronomia, com bolotas apanhadas em 2021 em cada propriedade. Em 07/06/2022, as plantas, com aproximadamente 15 meses de idade, foram transportadas para uma sala climatizada localizada no Edifício Azevedo Gomes do Instituto Superior de Agronomia, onde foram transplantadas para vasos de 1,7 litros com um substrato composto por 50% areia (APAS 30, Areipor, Portugal) e 50% turfa (SIRO turfa 30-0, SIRO, Leal & Soares, S.A., Portugal) e deixadas aclimatar às novas condições de crescimento.

As condições ambientais da sala climatizada foram monitorizadas ao longo do ensaio, tendo-se registado uma temperatura média de 25° C e uma humidade relativa média de 50%. Apesar de a sala ser iluminada naturalmente, foi suplementada, a partir de 07/11/2022, com iluminação artificial LED (Zeus 600W PRO2.9, Lumatek Ltd, Malta), durante 12h diárias, para simular os dias longos de verão, obtendo-se uma radiação fotossinteticamente ativa (PAR) média de 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.2 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental consistiu numa população de 150 plantas, 75 de cada proveniência (CL e VV), distribuídas equilibradamente pelos tratamentos (abaixo descritos, 25 plantas por tratamento e proveniência). De modo a excluir um eventual efeito do tamanho das plantas nas respostas aos tratamentos, as plantas foram ordenadas por altura, para cada proveniência, distribuídas sequencialmente pelos tratamentos, e dispostas na sala climatizada.

Durante o ensaio e com uma cadência semanal, a posição dos vasos foi alterada (Figura 3), para minimizar possíveis efeitos ambientais na sala climatizada, como seja a variação da intensidade luminosa e da temperatura.

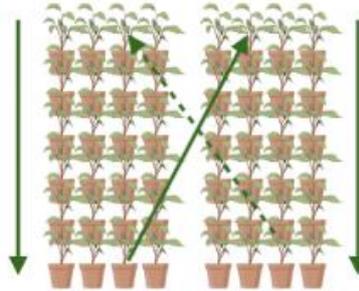


Figura 3. Esquema simplificado da movimentação dos vasos na sala climatizada (Created with BioRender.com).

Com o objetivo de avaliar o efeito da FWU nas plantas, foram estabelecidos três tratamentos de modo a induzir diferentes níveis de disponibilidade de água:

- **W, *well watered***, “controle”, plantas regadas à capacidade de campo, três vezes por semana com uma dotação fixa de 120 ml.
- **D, *drought***, “tratamento de seca”, plantas regadas a cada duas semanas com uma dotação fixa de 120 ml.
- **S, *sprayed***, “tratamento de seca e pulverizado”, plantas regadas a cada duas semanas com uma dotação fixa de 120 ml (como no tratamento D), e pulverizadas com água destilada (na quantidade necessária a molhar todas as folhas da planta) três vezes por semana, durante as primeiras horas da manhã, para simular o orvalho ou pequenos eventos de precipitação. Durante as pulverizações, para evitar o escorrimento e a queda de gotas para o substrato, a superfície dos vasos foi selada com uma saia impermeável (Figura 4).



Figura 4. Pulverização das plantas do tratamento *Sprayed* (S) (Fonte: Autor).

Os tratamentos foram impostos durante, aproximadamente, 5 meses (entre 08/09/2022 e 26/01/2023), para simular uma seca de verão prolongada

2.3 Determinação da dotação de rega

A dotação de rega foi previamente determinada, em função da perda de água por evapotranspiração. Assim, antes do início do ensaio propriamente dito, todas as plantas foram regadas abundantemente, deixando-se drenar o excesso de água por várias horas. De seguida, os vasos foram pesados, cuja massa corresponde à quantidade máxima de água disponível para as plantas no substrato (CC, massa à capacidade de campo). O mesmo procedimento foi repetido nos dias seguintes, ou seja, os vasos foram pesados (depois de um dia de evapotranspiração nas condições da estufa), seguido de rega abundante, drenagem da água em excesso e novamente pesados. Desta forma foi possível determinar a dotação de rega necessária para manter as plantas do tratamento W à capacidade de campo, ou seja, bem hidratadas. O valor obtido foi 360 ml, por semana, que corresponde à diferença entre a massa à CC e a massa depois de um dia de evapotranspiração multiplicada pelos 7 dias da semana. Nos restantes tratamentos optou-se por aplicar a dotação de 120 ml a cada duas semanas, para induzir gradualmente o stresse hídrico.

Com o intuito de aferir a quantidade de água disponível para as plantas de cada tratamento e proveniência, ao longo do ensaio, todos os vasos foram pesados regularmente e foi estimada a depleção de água em relação à capacidade de campo. Assim, a depleção de água, em %, foi calculada através da diferença da massa dos vasos em condições de CC e da massa registada (m) em determinado dia do ensaio ($\frac{CC-m}{CC} \times 100$). A curva que corresponde à depleção de cada tratamento permitiu-nos validar a manipulação hídrica: mostrar que os tratamentos *Sprayed* e *Drought* foram sujeitos à mesma dotação de rega (no substrato), e que o tratamento *Well Watered* esteve sempre próximo da CC.

2.4 Avaliação do crescimento e mortalidade

O crescimento foi avaliado em termos de diâmetro e altura das plantas, no início e no fim do ensaio. O diâmetro foi medido cruzado na base do caule, em mm, com uma craveira digital (modelo Z22855, Parkside, Alemanha), resultando na média das duas medições. A altura foi medida desde a base do caule até ao ápice, em cm, com uma régua rígida desdobrável de precisão milimétrica.

A variação do diâmetro do caule e da altura das plantas foi calculada através da diferença entre os valores medidos no início e no fim do ensaio, porém, as medições no final do ensaio apenas foram feitas nas plantas que não tinham secado (n=133).

A mortalidade foi considerada através da identificação das plantas que demonstraram a totalidade da parte aérea seca.

2.5 Avaliação do estado hídrico das plantas

A medição do potencial de água no xilema das folhas resulta da assunção de que a tensão da seiva xilémica pode ser medida registando a pressão de equilíbrio entre a pressão da folha e a pressão de uma câmara pressurizada (Scholander et al., 1965). No momento da medição, se o potencial osmótico no xilema for negligenciável, existe um equilíbrio entre a tensão no xilema e o potencial de água no apoplasto e no simplasto, ou seja, com a folha (Ψ_{leaf}) (Tyree & Zimmermann, 2002).

A cada duas semanas, durante o ensaio, foi medido o potencial hídrico foliar, ao amanhecer (*predawn leaf water potential*, Ψ_{pd}) e ao meio-dia solar (*midday leaf water potential*, Ψ_{md}), para monitorizar o estado hídrico das plantas nos diferentes tratamentos. O procedimento consistiu no destaque de uma folha pelo pecíolo, com recurso a uma lâmina, para que, poucos segundos depois, o potencial da folha seja medido. A medição foi feita com recurso a uma câmara de pressão do tipo Scholander (PMS 1000, PMS Instruments Co., EUA). A amostra aleatória consistiu em 5 plantas de cada tratamento (3) por proveniência (2), que resulta numa amostra de 30 plantas (5 x 3 x 2) por data.

2.6 Medição da absorção de água pelas folhas (FWU)

A medição da FWU foi feita sempre que a média aritmética do Ψ_{pd} variou -0.5 MPa em qualquer um dos tratamentos de seca (*Sprayed; Drought*), que resultou numa amostra total de 450 folhas (12 datas de medição).

A quantificação da FWU foi feita nessas mesmas folhas (30 folhas por data), de acordo com o protocolo desenvolvido por Limm et al. (2009) e descrito noutros estudos (Binks et al., 2019;

Schreel et al., 2019; Cavallaro et al., 2020), que consiste na combinação das medições do potencial hídrico foliar e da massa das folhas, antes (Ψ_i e LM_i , respectivamente) e após (Ψ_f e LM_f , respectivamente) da submersão das folhas em água, durante três horas, no escuro, e garantindo que o pecíolo fica completamente isolado e não submerso. A absorção foliar ocorre quando, simultaneamente, a massa (LM) e o potencial da folha (Ψ) aumentam.

Assim, são calculadas:

- a capacidade de absorção foliar:

$$FWU_{CAP} = (LM_f - LM_i)/A \quad [3]$$

- a contribuição da FWU para o estado hídrico da folha:

$$\Delta \Psi = \Psi_f - \Psi_i \quad [4]$$

Em que, A é a área foliar da folha destacada, em cm^2 .

Logo após a medição do potencial da folha e da pesagem, cada folha foi colocada submersa e em câmara escura.

De modo a prevenir a entrada de água pelo pecíolo e a garantir a correta posição de submergência da folha, este foi inserido numa bola de massa adesiva, à base de poliuretano (Bostik), com 2-4 mm de diâmetro, e posteriormente colada ao frasco (Figura 5).



Figura 5. Folha destacada com o pecíolo não submerso e inserido em massa aderente (Fonte: o Autor).

O conteúdo em água das folhas, RWC (*relative water content*), aquando do seu destaque, foi calculado em todas as 30 folhas em cada data de medição. A massa das folhas foi registada imediatamente após sua colheita e corresponde ao LM_i (massa da folha inicial). O peso túrgido, TW (*turgid weight*), da folha é medido após 4 h de reidratação em água destilada.

Após completa desidratação, através de 48 h em estufa (60 °C), as folhas foram pesadas novamente obtendo-se o peso seco (*dry weight*, DW). Deste modo o RWC_i foi calculado usando a seguinte fórmula Pieczynski et al., 2013):

$$RWC_i = \frac{LM_i - DW}{TW - DW} \times 100 \quad [5]$$

Através do valor da massa das folhas após submersão parcial, LM_f , é possível calcular o RWC_f , ou o conteúdo em água da folha após FWU, por forma a quantificar o ganho relativo em água que sucede à entrada de água pelas folhas ($\Delta RWC = RWC_f - RWC_i$).

Assim sendo:

$$RWC_f = \frac{LM_f - DW}{TW - DW} \times 100 \quad [6]$$

2.7 Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados consistiu numa análise de variância (ANOVA) a 2 fatores (tratamento e proveniência), para cada data de medição, por forma a identificar os efeitos dos fatores no potencial hídrico foliar de madrugada e do meio-dia dos tratamentos (Ψ_{Pd} , Ψ_{Md}), bem como no crescimento (altura e diâmetro). Os dados foram transformados para ln, quando necessário, de modo a cumprir os pressupostos da ANOVA, nomeadamente distribuição normal e igualdade das variâncias.

Para avaliar se a capacidade de absorção de água pelas folhas (FWU_{CAP}) diferia entre tratamentos e proveniências, o Ψ_i foi agrupado por classes (≤ -2 ; $]-2, -1.50$]; $]-1.50, -1.25$]; $]-1.25, -1$]; $]-1, -0.75$]; $]-0.75, -0.5$]; $]-0.5, -0.25$] MPa), calculadas as respetivas médias da capacidade de absorção de água pelas folhas (FWU_{CAP}) e analisadas as relações lineares entre as classes de Ψ_i e a FWU_{CAP} . Também foram comparadas, através de ANOVA a um fator, a FWU_{CAP} entre proveniências. Outras variáveis como o ΔRWC e o $\Delta \Psi$ foram descritas para inferir sobre o efeito da FWU no estado hídrico das folhas.

Adicionalmente, analisou-se a relação entre o Ψ_{pd} e o Ψ_{md} , por forma a identificar diferenças no uso da água das plantas de cada tratamento e de cada proveniência.

O tratamento de dados foi realizado com o *software SigmaPlot* versão 13.0 (Systat Software Inc., EUA). Considerou-se um nível de significância de 5%. Os resultados são apresentados sob forma da média \pm erro padrão da média (EP).

3. Resultados

3.1 Mortalidade e crescimento

No dia 27/01/2023 tinham secado 17 plantas. Como a figura 6 indica, o tratamento que revelou menor sobrevivência foi o tratamento D. Deste tratamento, a menor taxa de sobrevivência foi observada no grupo das plantas da Companhia das Lezírias (52% sobrevivência). Apenas uma planta do tratamento S secou, pertencente ao grupo da Companhia das Lezírias (96% de sobrevivência). Nenhuma planta do tratamento W secou, pelo que em ambas as proveniências a taxa de sobrevivência foi 100%. De entre as plantas de Vila Viçosa somente plantas do tratamento D secaram (84% de sobrevivência). Em suma, as plantas da Companhia das Lezírias revelaram muito menor resistência à falta de água imposta e o tratamento D foi o que provocou mais mortalidade.

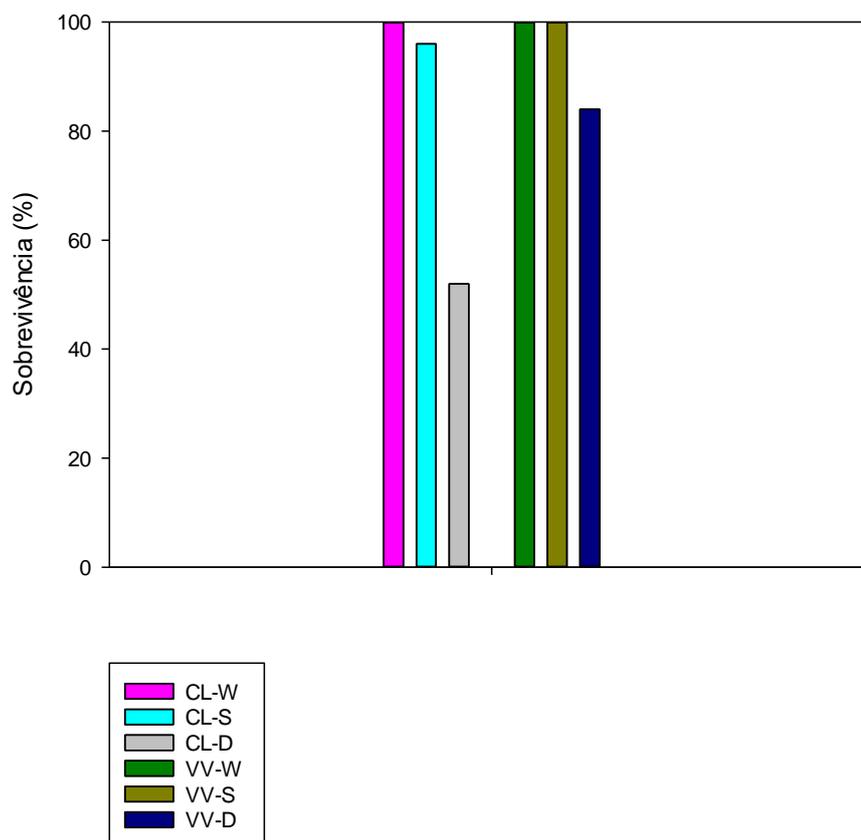


Figura 6. Percentagem de plantas que sobreviveram por tratamento, em cada proveniência, até ao final do ensaio (27/01/2023).

A figura 7 indica o crescimento das plantas de cada tratamento e proveniência, quanto ao crescimento do diâmetro do caule e à altura das plantas no período entre 05/09/2022 e 27/01/2023. No início do ensaio não se identificaram diferenças significativas nestas variáveis entre as proveniências e tratamentos.

As plantas da Companhia das Lezírias apresentaram maior crescimento do diâmetro do caule (Figura 6, $p = 0,009$), comparativamente com as plantas de Vila Viçosa, que se deveu, sobretudo, às plantas dos tratamentos W e D, as quais diferem significativamente do tratamento S ($p = 0,015$ e $p = 0,005$; respetivamente).

Quanto à variação da altura das plantas no período do ensaio, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as proveniências nem entre os tratamentos. Contudo, em ambas as proveniências, as plantas do tratamento W foram as que cresceram mais em altura seguidas pelo tratamento S.

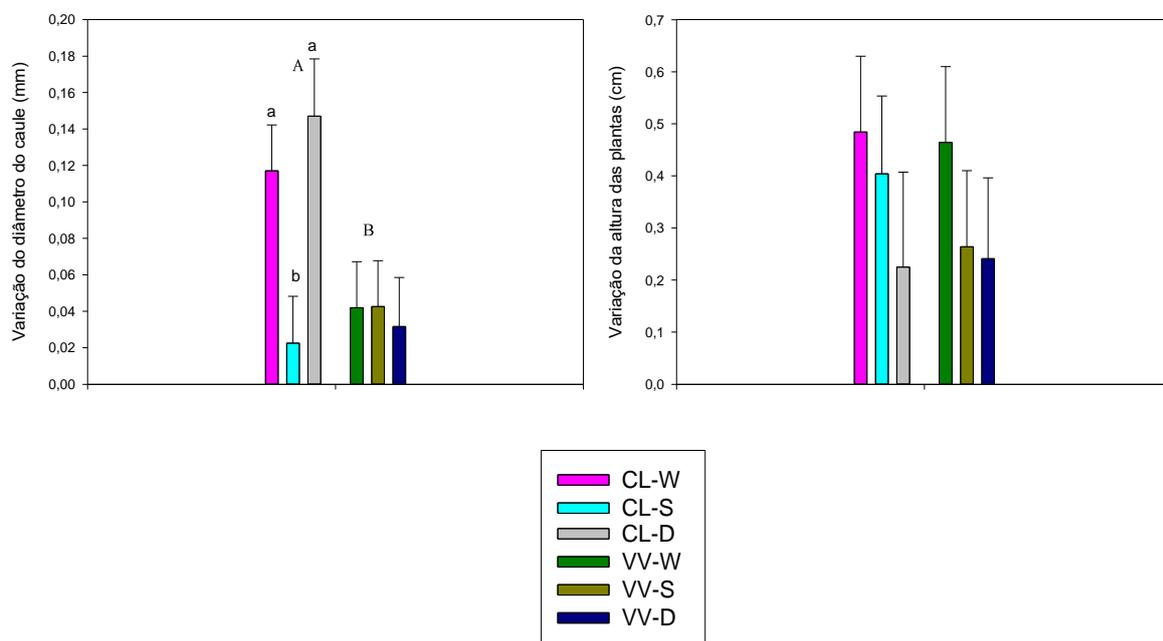


Figura 7. Variação do diâmetro do caule (esquerda), em mm, e da altura das plantas (direita), em cm, entre 05/09/2022 e 27/01/2023. Os valores apresentados correspondem à média \pm EP por tratamento e proveniência. As letras minúsculas e maiúsculas indicam grupos com a média estatisticamente diferente quanto ao tratamento e quanto à proveniência, respetivamente.

3.2 Potencial hídrico foliar de madrugada (Ψ_{pd})

Na primeira data de medição (08/09/2022), os valores do potencial hídrico foliar de madrugada (Ψ_{pd}) encontravam-se equiparados entre os tratamentos (Figura 8). No entanto, encontraram-se diferenças estatisticamente significativas entre as proveniências ($p = 0,031$), tendo-se observado valores de Ψ_{pd} mais negativos na CL do que em VV ($-0,41 \pm 0,03$ MPa e $-0,33 \pm 0,02$ MPa, respetivamente).

A 23/09/2022, o Ψ_{pd} dos tratamentos bem como das proveniências eram semelhantes ($p > 0,05$), compreendidos entre $-0,40$ e $-0,48$ MPa, demonstrando que a disponibilidade hídrica

no substrato entre os tratamentos não era divergente. Como a Figura 9 indica, a depleção de água dos tratamentos S e D ainda não era muito superior comparativamente ao tratamento W, sendo esta a aferição da quantidade relativa de água nos vasos.

Na data de medição seguinte (06/10/2022), manteve-se a tendência de os valores do Ψ_{pd} entre os tratamentos serem semelhantes, não obstante a depleção de água dos vasos do tratamento S e D ser expressamente superior à depleção dos vasos do tratamento W (controlo) (depleção S e D: 21%; depleção W: 9%). Notar que as plantas da Companhia das Lezírias se encontravam a Ψ_{pd} significativamente inferiores comparativamente com as de Vila Viçosa ($p = 0,043$) ($\Psi_{pd (CL)} = -0,66 \pm 0,06$ MPa; $\Psi_{pd (VV)} = -0,52 \pm 0,04$ MPa).

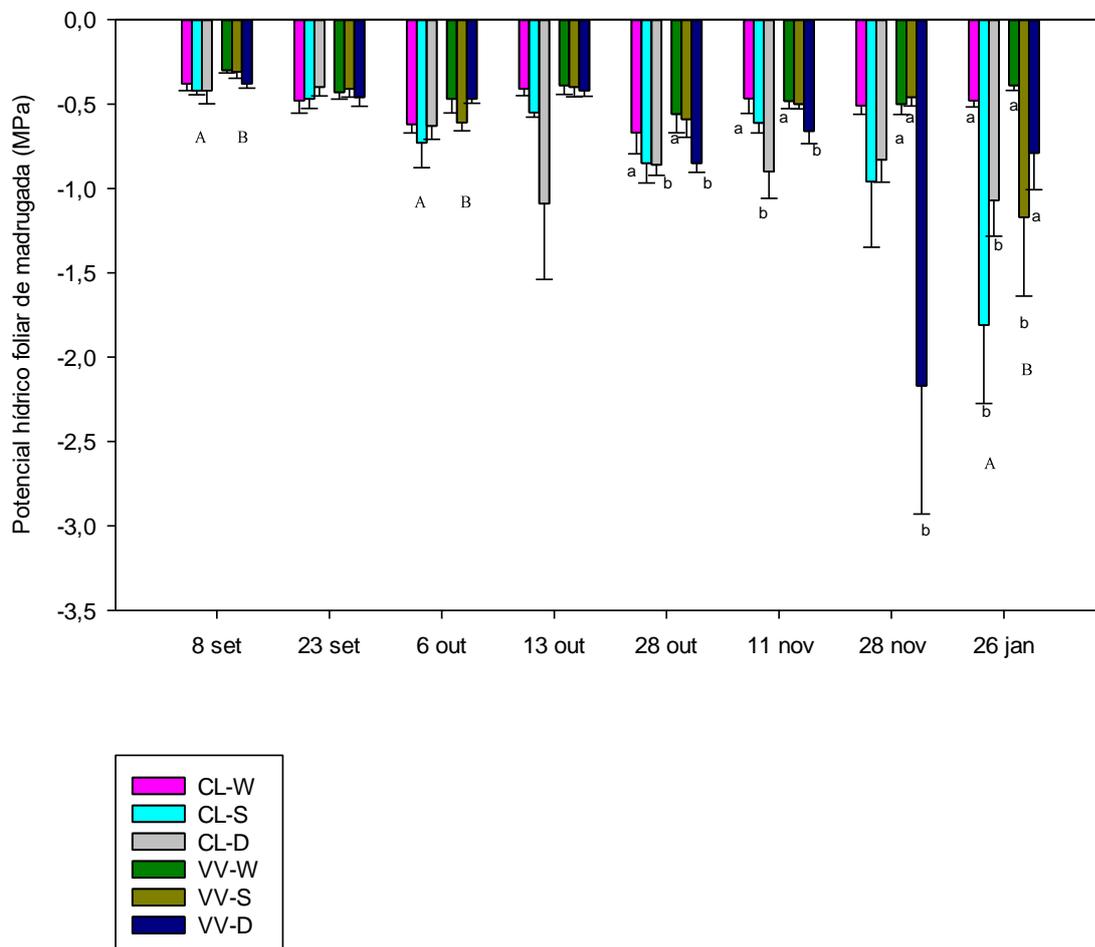


Figura 8. Evolução do potencial de hídrico de madrugada, Ψ_{pd} , das plantas de sobreiro de cada tratamento e proveniência durante o período compreendido entre 08/09/2022 e 26/01/2023. Os valores apresentados correspondem à média \pm EP das 5 folhas amostradas por tratamento e proveniência, em cada data de medição. As letras minúsculas e maiúsculas indicam grupos com a média estatisticamente diferentes quanto ao tratamento e quanto à proveniência, respetivamente.

A 13/10/2022 não se encontraram diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos e proveniências, contudo, o Ψ_{pd} das plantas da Companhia das Lezírias no tratamento D era o mais negativo ($\Psi_{pd(CL \times D)} = -1,09 \pm 0,45$ MPa), contrastando com os restantes grupos que tinham valores compreendidos entre $-0,39 \pm 0,05$ e $-0,55 \pm 0,03$ MPa.

A 28/10/2023 o potencial de madrugada das plantas no tratamento D era o mais negativo e significativamente inferior ao das plantas do tratamento W ($p = 0,030$) ($\Psi_{pd(W)} = -0,62 \pm 0,08$ MPa; $\Psi_{pd(S)} = -0,72 \pm 0,09$ MPa; $\Psi_{pd(D)} = -0,86 \pm 0,04$ MPa). Nesta data do ensaio, a depleção de água dos vasos dos tratamentos S e D encontrava-se, aproximadamente, a 25% da capacidade de campo, não muito longe dos valores máximos registados.

Evolução da perda de água dos vasos em relação à capacidade de campo

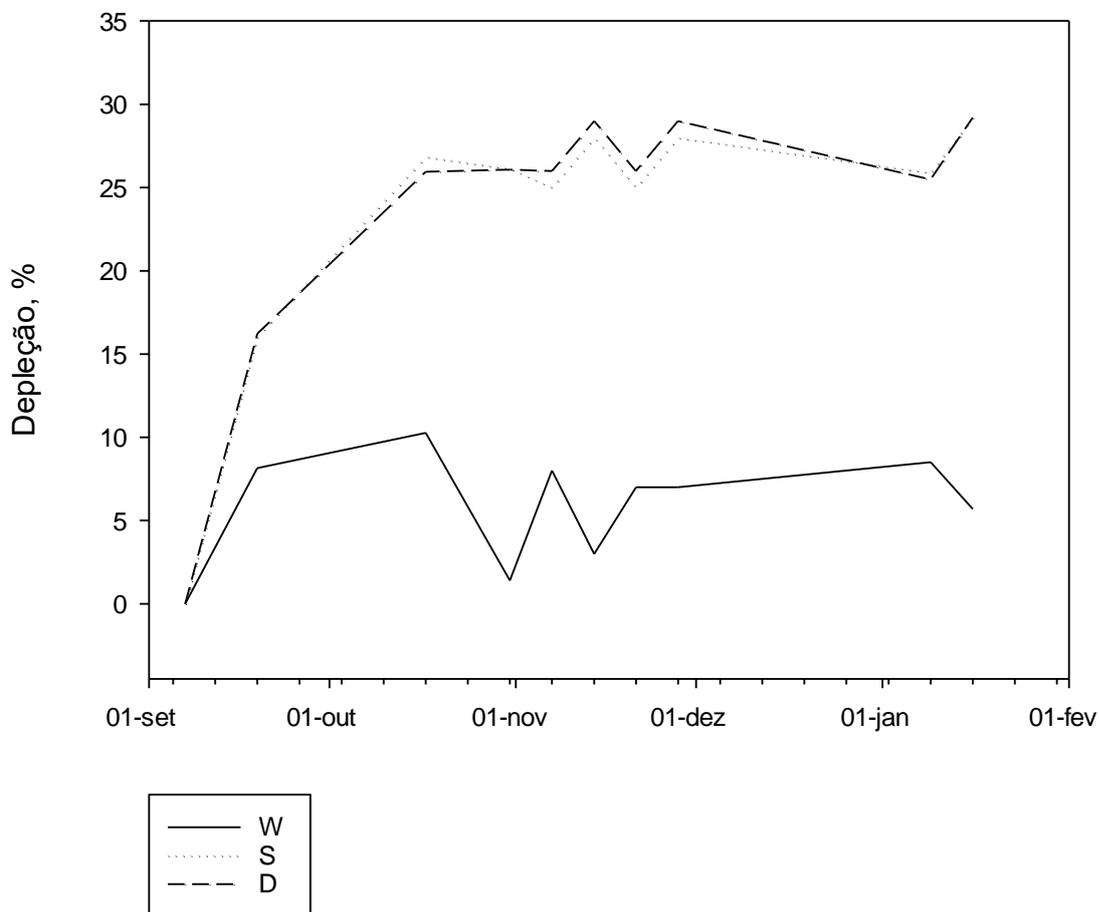


Figura 9. Depleção de água, em %, em relação à capacidade de campo (CC) da quantidade de água dos vasos de cada tratamento.

Na data de medição de 11/11/2022, novamente é o tratamento D a diferir significativamente do controlo (W) ($p = 0,031$) ($\Psi_{pd(D)} = -0,78 \pm 0,09$ MPa; $\Psi_{pd(W)} = -0,48 \pm 0,04$ MPa), pelo que, tal como se verificou na data anterior, o tratamento D demonstrou os valores médios de

potencial hídrico de madrugada mais baixos ($\Psi_{pd(S)} = -0,56 \pm 0,04$ MPa). Apesar de tudo, não se identificaram diferenças significativas entre os tratamentos S e D, que a esta data estavam sujeitos à maior depleção registada. Quanto às proveniências, foi nas plantas da Companhia das Lezírias, nomeadamente no tratamento D, em que se registaram os valores mais negativos de Ψ_{pd} , ainda que sem diferenças estatisticamente significativas.

A 28/11/2022 encontraram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos D e W, nas plantas de Vila Viçosa ($p = 0,008$), pois o Ψ_{pd} do tratamento D era bem mais negativo. Adicionalmente, nas plantas de Vila Viçosa, encontraram-se diferenças significativas entre os dois tratamentos sujeitos a depleção elevada ($p = 0,005$), sendo que, nesta data, identificou-se que o tratamento pulverizado (S) se encontrava em melhor estado hídrico (Ψ_{pd} mais elevado) comparativamente com o tratamento D e sem diferenças significativas relativamente ao controlo (W) ($\Psi_{pd(W)} = -0,51 \pm 0,04$ MPa; $\Psi_{pd(S)} = -0,71 \pm 0,20$ MPa; $\Psi_{pd(D)} = -1,50 \pm 0,43$ MPa). Exclusivamente entre as proveniências não se encontraram diferenças significativas no que diz respeito ao Ψ_{pd} , ainda que tenham sido as plantas de Vila Viçosa a atingir valores mais baixos (no tratamento D).

Na última data do presente estudo (26/01/2023), os tratamentos S e D diferiram significativamente do controlo (W) ($p < 0,001$ e $p = 0,024$; respetivamente) ($\Psi_{pd(W)} = -0,44 \pm 0,03$ MPa; $\Psi_{pd(S)} = -1,49 \pm 0,33$ MPa; $\Psi_{pd(D)} = -0,93 \pm 0,15$ MPa) mas sem que divergissem significativamente entre eles. As plantas da Companhia das Lezírias atingiram valores de Ψ_{pd} significativamente mais baixos ($p = 0,046$), porém, nesta data, a diferença entre as proveniências foi principalmente motivada pelas plantas do tratamento S ($\Psi_{pd(S \times CL)} = -1,81 \pm 0,46$).

3.3 Potencial hídrico foliar do meio-dia (Ψ_{md})

O potencial hídrico foliar do meio-dia (Ψ_{md} ; Figura 10) exibiu um padrão semelhante ao Ψ_{pd} ao longo do estudo, no entanto, com valores mais negativos.

Na data de medição de 08/09/2022, o Ψ_{md} foi semelhante entre tratamentos e proveniências, com valores compreendidos entre -0,86 e -0,71 MPa.

Em 23/09/2022 e 06/10/2022, também não se encontraram diferenças estatisticamente significativas entre proveniências nem tratamentos. Todavia, nestas datas, os valores do Ψ_{md} descenderam ligeiramente, para valores em torno de -1 MPa ($\Psi_{md} = -1,05 \pm 0,05$ MPa e $\Psi_{md} = -1,00 \pm 0,05$ MPa, média global em 23/09/2022 e 06/10/2022, respetivamente).

Na seguinte data de medição (13/10/2022), verificou-se uma descida do Ψ_{md} das plantas da Companhia das Lezírias no tratamento D ($\Psi_{md (CL \times D)} = -1,88 \pm 0,44$ MPa). Contudo, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre proveniências nem tratamentos.

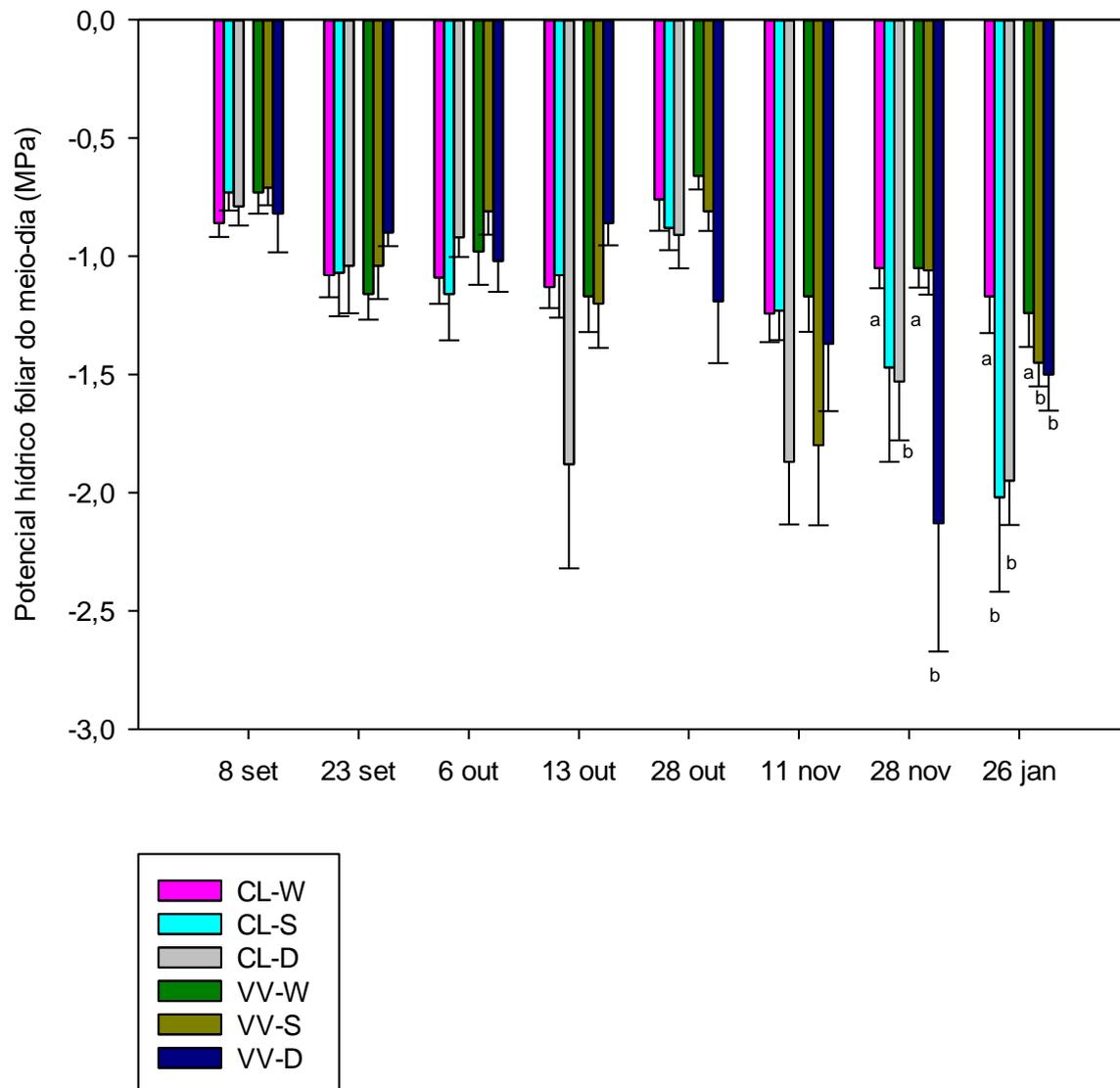


Figura 10. Evolução do potencial de hídrico do meio-dia, Ψ_{md} , das plantas de sobreiro de cada tratamento e proveniência durante o período compreendido entre 8 de setembro de 2022 e 26 de janeiro de 2023. Os valores apresentados correspondem à média \pm EP das 5 folhas amostradas por tratamento e proveniência, em cada data de medição. As letras minúsculas e maiúsculas indicam grupos com a média estatisticamente diferentes quanto ao tratamento e quanto à proveniência, respetivamente.

A 28/10/2022, o Ψ_{md} não diferiu significativamente entre proveniências e tratamentos. Contudo, os valores mais negativos de Ψ_{md} foram observados nas plantas do tratamento D, seguido do tratamento S ($\Psi_{md (W)} = -0,71 \pm 0,07$ MPa; $\Psi_{md (S)} = -0,85 \pm 0,06$ MPa; $\Psi_{md (D)} = -1,05 \pm 0,15$ MPa). Não obstante a depleção de água dos tratamentos já se encontrar bastante

elevada (em S e D), a divergência dos valores do Ψ_{md} entre os tratamentos não é expressiva o suficiente por forma a se identificarem diferenças estatisticamente significativas.

A 11/11/2022 verificou-se uma descida nos valores do Ψ_{md} em todas as plantas do ensaio ($\Psi_{md (W)} = -1,21 \pm 0,09$ MPa; $\Psi_{md (S)} = -1,52 \pm 0,19$ MPa; $\Psi_{md (D)} = -1,62 \pm 0,20$ MPa). Importa salientar que esta medição ocorreu cinco dias após a instalação da iluminação artificial LED, que veio a aumentar a radiação PAR em toda a estufa. Tal como se verificou na data anterior, o Ψ_{md} não diferiu significativamente entre as proveniências nem entre tratamentos, apesar de se terem registado Ψ_{md} mais negativos no tratamento D.

Pela primeira vez, a 28/11/2022, encontraram-se diferenças significativas no Ψ_{md} entre os tratamentos. O Ψ_{md} das plantas do tratamento D diferiu significativamente do tratamento W ($p = 0,043$), enquanto entre os tratamentos S e D não se identificaram diferenças ($\Psi_{md (W)} = -1,05 \pm 0,06$ MPa; $\Psi_{md (S)} = -1,27 \pm 0,21$ MPa; $\Psi_{md (D)} = -1,83 \pm 0,30$ MPa). O valor médio do Ψ_{md} entre as proveniências foi semelhante, porém, verificou-se que as plantas do tratamento D de Vila Viçosa atingiram Ψ_{md} mais baixos, tendo algumas nesta data excedido os -2 MPa.

Na última data de medição, 26/01/2023, os tratamentos D e S encontravam-se com valores de Ψ_{md} significativamente inferiores ao controlo ($p = 0,016$ e $P = 0,024$; respetivamente) ($\Psi_{md (W)} = -1,21 \pm 0,10$ MPa; $\Psi_{md (S)} = -1,74 \pm 0,22$ MPa; $\Psi_{md (D)} = -1,73 \pm 0,14$ MPa). Apesar de não se verificarem diferenças significativas entre as proveniências, o Ψ_{md} das plantas da Companhia das Lezírias, nesta data, foi mais negativo que o de Vila Viçosa ($\Psi_{md (CL)} = -1,71 \pm 0,18$ MPa; $\Psi_{md (VV)} = -1,40 \pm 0,08$ MPa).

3.4 Ψ_{md} em função do Ψ_{pd}

Os valores do potencial hídrico foliar ao meio-dia apresentaram uma resposta aproximadamente linear perante as variações do potencial hídrico foliar de madrugada (Figura 11). Esta regressão explica cerca de 47% da variabilidade do Ψ_{pd} , como se verifica através do R^2 (Tabela 1).

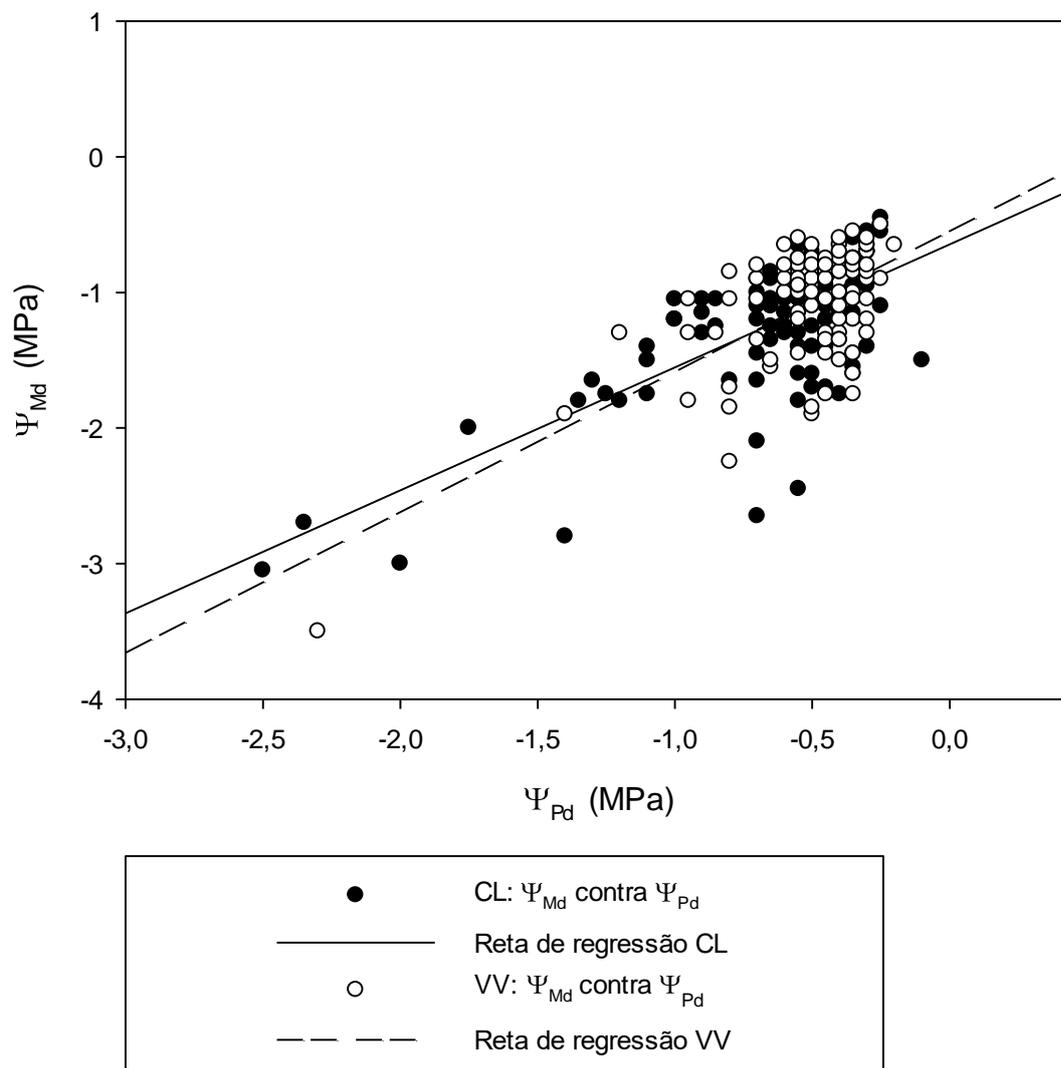


Figura 11. Nuvem de pontos do potencial hídrico de madrugada (eixo das abcissas) vs. o potencial hídrico do meio-dia (eixo das ordenadas), em MPa, e as respectivas reta de regressão.

O valor do Ψ_{md} que responde à ordenada na origem (Λ) é considerado o potencial hídrico no qual a planta atinge o máximo de transpiração em condições de água abundante (Martínez-Vilalta et al., 2014). Desta forma, em condições de disponibilidade hídrica, a regressão obtida com todas as observações (proveniências e tratamentos) indicia que a transpiração máxima ocorreu quando o Ψ_{md} foi em torno de -0,60 MPa. Em condições de água abundante, as retas de regressão dos tratamentos S e D têm ordenadas na origem não muito díspares ($\Lambda_D = -0,56$ MPa; $\Lambda_S = -0,63$ MPa). O coeficiente de determinação do tratamento S é inferior à do tratamento D ($R^2_{(S)} = 0,42$; $R^2_{(D)} = 0,55$) (Tabela 1).

Na reta do potencial hídrico do meio-dia contra o potencial hídrico de madrugada, o declive (d) descreve o comportamento mais ou menos iso-hídrico das plantas (Martínez-Vilalta et al.,

2014). Para a regressão com todos os pontos, o declive da reta é de 0,956 (Tabela 1) e demonstra a amplitude variação da transpiração. Comparando os tratamentos que foram sujeitos a depleção de água elevada (S e D), o tratamento D demonstrou maior variação do Ψ_{md} relativamente ao potencial de água do substrato (que corresponde ao Ψ_{pd}), ou seja, maior amplitude de transpiração (d_S : 0.820, d_D : 1.037) (menor comportamento iso-hídrico).

O valor da ordenada na origem é ligeiramente inferior nas plantas da Companhia das Lezírias comparativamente com as plantas de Vila Viçosa.

Tabela 1. Parâmetros das diferentes regressões lineares resultado do potencial hídrico de madrugada contra o potencial hídrico do meio-dia, $\Psi_{md}(\Psi_{pd})$, em que, Λ , d e R^2 são, respetivamente, o valor do Ψ_{md} no eixo das ordenadas, o declive e o coeficiente de determinação da regressão.

Tratamento	Λ	d	R^2
W	-0.863	0.389	0.031
S	-0.634	0.820	0.420
D	-0.560	1.061	0.549
Proveniência			
CL	-0.645	0.907	0.496
VV	-0.547	1.037	0.397
Todos os pontos (Figura 11)	-0.601	0.956	0.466

3.5 FWU

A absorção de água pelas folhas ocorreu em toda a gama de potencial hídrico foliar (entre -0,25 e -4,20 MPa) e em 76% das folhas amostradas (n=450). No que diz respeito à frequência da FWU, estas foram semelhantes entre as proveniências, Companhia da Lezírias ou Vila Viçosa, pelo que aproximadamente 76% das folhas amostradas de cada proveniência realizaram absorção de água pelas folhas.

A figura 12 indica a relação entre o potencial hídrico medido nas folhas, logo após o seu destaque, e a quantidade de água incorporada pela via FWU por unidade de área da folha (FWU_{CAP}). O coeficiente de determinação desta regressão (R^2) é de 89% (com pontos das duas proveniências), o que significa que esta é a percentagem da variabilidade da FWU_{CAP} que é explicada através da variação do Ψ_{leaf} . A reta de regressão obtida aponta para uma relação linear negativa entre o potencial hídrico da folha e FWU, tal que, quanto mais

deficitária em água estiver a folha maior será a quantidade de água passível de ser incorporada pela via foliar.

Os valores da FWU_{CAP} das 341 folhas que realizaram absorção de água pelas folhas estão compreendidos entre $2,27 \text{ mg cm}^{-2}$ (Max) e $0,06 \text{ mg cm}^{-2}$ (Min). O valor médio da FWU_{CAP} foi de $0,66 \pm 0,02 \text{ mg cm}^{-2}$. A ocorrência de FWU conduziu a um aumento de $5,4 \pm 0,2\%$ do RWC, com valores compreendidos entre os 0,5% e os 18,9%. O contributo da FWU para o estado hídrico das folhas, $\Delta\Psi$, foi em média $0,44 \pm 0,02 \text{ MPa}$, podendo chegar aos 3,05 MPa. Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre as proveniências relativamente à FWU_{CAP} ($FWU_{CAP(VV)} = 0,63 \pm 0,03 \text{ mg cm}^{-2}$; $FWU_{CAP(CL)} = 0,70 \pm 0,03 \text{ mg cm}^{-2}$).

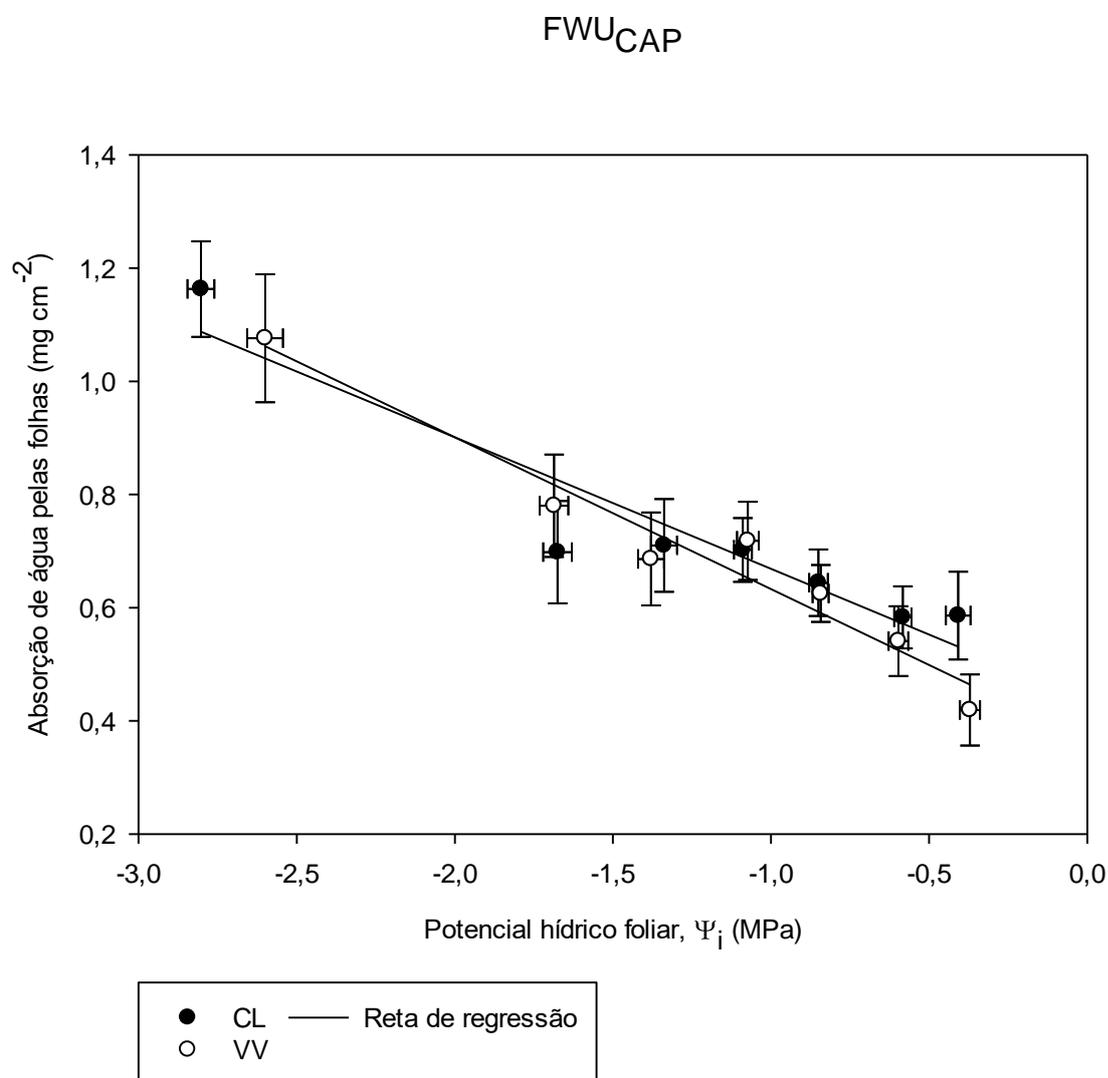


Figura 12. Relação entre o potencial de água da folha, antes da submersão, Ψ_i , em MPa, e a absorção foliar de água, FWU, em mg cm^{-2} . As barras horizontais e verticais correspondem, respetivamente, ao erro padrão dos valores do potencial hídrico foliar e dos valores da FWU de cada classe.

4. Discussão

4.1 Mortalidade e crescimento

No decorrer do ensaio, 17 plantas secaram como consequência da seca a que foram sujeitas. Um mecanismo utilizado pelas plantas iso-hídricas para resistir à falência hidráulica é a regulação do seu estado hídrico através do fecho dos estomas, no entanto, esta estratégia pode levar à carência de carbono resultando na morte da planta (McDowell et al., 2008). A morte por falência hidráulica *per si* também pode ocorrer nas espécies iso-hídricas (como o sobreiro, Haberstroh et al., 2022), sendo que ocorre, usualmente, em árvores que já atingiram a sua altura máxima ou em plantas muito jovens (McDowell et al., 2008).

Desta forma, não sabemos se as plantas de sobreiro secaram devido à carência de carbono ou porque o seu sistema hidráulico foi comprometido. Plantas de ambas as proveniências atingiram potenciais hídricos do meio-dia próximos dos valores reportados por Lobo et al. (2018) por estarem associados ao início da propagação de embolismos em sobreiro (compreendidos entre -4,93 e os -2,14 MPa). Como tal, a morte por falência hidráulica *per si* pode ter ocorrido.

A taxa de sobrevivência do tratamento D foi muito inferior à do tratamento S, onde apenas uma planta secou. Tal facto, demonstra o efeito positivo das pulverizações e da folha molhada, provavelmente através da FWU, na resistência ao stresse hídrico e no estado hídrico das plantas, dado que o tratamento D, quanto ao Ψ_{pd} , revelou diferenças estatisticamente significativas comparativamente com o controlo em muito mais datas de medição e muito mais cedo do que o tratamento S.

As plantas provenientes da Companhia das Lezírias demonstraram ser menos tolerantes à seca comparativamente com as plantas de Vila Viçosa. Por outro lado, o crescimento do diâmetro do caule das plantas da Companhia das Lezírias durante o ensaio foi significativamente superior ao das plantas de Vila de Viçosa. Uma vez que para poderem crescer, as plantas da Companhia das Lezírias teriam de abrir os estomas e realizar a fotossíntese, a falência hidráulica pode ter ocorrido e com mais prevalência nesta proveniência. De facto, verificaram-se diferenças entre os potenciais hídricos de madrugada destas proveniências que indicaram que as plantas foram menos conservadoras no uso da água.

No que diz respeito aos tratamentos, da mesma forma, apenas se encontraram diferenças significativas no crescimento do diâmetro do caule. As plantas dos tratamentos W e D cresceram mais comparativamente com o as plantas do tratamento S. Quanto ao crescimento em altura das plantas, a diferença entre os tratamentos não foi suficiente para exceder a

variabilidade da amostra, contudo, nas duas proveniências o padrão de variação entre os tratamentos foi similar, verificando-se que as plantas do tratamento W cresceram mais seguidas do tratamento S. No entanto, sendo o sobreiro uma espécie de crescimento de lento, não seria de esperar um crescimento de relevo, e conseqüentemente, diferenças significativas entre os tratamentos e proveniências terminado um de período de 5 meses. Assim sendo, são levantados alguns alertas quanto à interpretação destas variáveis, sobretudo, da variação diâmetro.

As variações do diâmetro do tronco, podem detetar de forma precisa e atempada o stresse hídrico das plantas, mesmo que este não seja acentuado (Fernández & Cuevas, 2010). Tendo isto em consideração, os dados relativos à variação do diâmetro num período tão curto de uma planta de crescimento lento e sujeita a stresse hídrico, devem ser usados com reservas no que diz respeito ao crescimento da planta. E, ainda, neste estudo, a medição final dos diâmetros, usando uma craveira digital, ocorreu apenas alguns dias depois de as plantas do tratamento S terem atingido o pico do stresse hídrico (26/01/2023) (ver Figura 8, Ψ_{pd}). Desta forma, as variações do diâmetro relacionadas com estado hídrico das plantas podem enviesar os dados do crescimento e, neste caso em particular, sobrestimar as diferenças encontradas entre o tratamento S e os restantes. Lembrando que, no início do ensaio, foram medidos o diâmetro do caule e altura das plantas enquanto estas se encontravam em condições de água abundante.

4.2 Potencial hídrico foliar dos tratamentos

O potencial hídrico de madrugada da planta (Ψ_{pd}) é tido como sendo equivalente ao potencial hídrico do solo (Ψ_{soi} , Sellin (1999)). Desta forma, o Ψ_{pd} é um indicador da disponibilidade de água no solo/substrato bem como do estado hídrico da planta.

O potencial hídrico de madrugada a 08/09/2022 de todos os tratamentos e proveniências era elevado devido ao facto de todos os vasos terem sido regados à CC no dia 05/09/2022. Contudo, na primeira data de medição, as plantas da Companhia das Lezírias encontravam-se com Ψ_{pd} mais negativos. Uma vez que todas plantas foram regadas abundantemente no início do ensaio (ficando todos os vasos à CC), este facto indica-nos que esta proveniência (CL) transpirou mais, pelo menos, enquanto teria condições de água abundante, do que as plantas de Vila Viçosa. A 23/09/2022, ainda que não se verificassem diferenças significativas, o Ψ_{pd} das plantas da Companhia das Lezírias manteve-se mais negativo e, na data seguinte (06/10/2022), o mesmo se sucedeu, mas sendo estatisticamente significativo. A 13/10/2022, com a depleção de água dos tratamentos S e D já bem mais elevada do que o controlo (W), as plantas da Companhia das Lezírias do tratamento D começaram a evidenciar algum stresse hídrico. De facto, a média deste grupo demonstrou os potenciais hídricos mais

negativos e abaixo dos -1 MPa. Apesar do valor divergente (e mais negativo) do potencial hídrico de madrugada das plantas da Companhia das Lezírias do tratamento D comparativamente com os restantes grupos, essa diferença não foi significativa. Contudo, vem reforçar que as plantas da Companhia das Lezírias foram menos conservadoras no uso de água do que as plantas de Vila Viçosa. Além do mais, a demonstração de stresse hídrico no tratamento D enquanto o tratamento S se equiparava ao controlo, nesta data, evidenciou o efeito benéfico da pulverização no estado hídrico das plantas.

A 28/10/2022, o potenciais hídricos do tratamento D em ambas as proveniências diferiam significativamente do controlo (W), sendo no tratamento (D) onde as plantas revelavam maior stresse hídrico. Tendo em conta que as plantas dos tratamentos S e D se encontravam com a mesma disponibilidade hídrica no substrato e ambos com depleção de água elevada (próxima dos valores máximos registados), o facto de as plantas do tratamento S se encontrarem com Ψ_{pd} semelhantes às plantas do tratamento W, revelou, mais uma vez, o efeito positivo da pulverização das folhas. Na medição seguinte (11/11/2022), novamente ambas as proveniências do tratamento D diferiram significativamente do controlo (com valores de Ψ_{pd} próximos de -1 MPa), indicando que, nesta fase, o tratamento S estaria claramente a ser beneficiado pela pulverização, evitando que as plantas atingissem Ψ_{pd} muito baixos, mesmo com a depleção elevada a que estavam sujeitas.

A 28/11/2022 verificou-se uma descida do Ψ_{pd} das plantas de Vila Viçosa do tratamento S, que desceram a valores além de -1 MPa. No entanto, o tratamento estatístico não indicou que diferenças em relação ao controlo (W). Por outro lado, foram as plantas de Vila Viçosa do tratamento D que diferiam estatisticamente do controlo, pois atingiram potenciais muito negativos (<-2 MPa) associados à perda de condutância hidráulica em sobreiro (Lobo et al., 2018). Além do mais, os tratamentos D e S, nas plantas de Vila Viçosa, diferiram entre si de forma significativa, estando o tratamento S em melhor estado hídrico.

Na última data de medição (26/01/2023), o tratamento S e o tratamento D indicaram diferenças significativas comparativamente com o controlo. O tratamento S atingiu os valores de Ψ_{pd} mais negativos e, pela primeira vez, significativamente diferentes do controlo, seguido pelo tratamento D. Quanto às proveniências, as plantas da Companhia das Lezírias atingiram os valores significativamente mais baixos de Ψ_{pd} comparativamente com as plantas de Vila Viçosa.

Nesta última data de medição, verificou-se pela primeira vez a evidência que as plantas do tratamento pulverizado (S) estariam em stresse hídrico elevado, tal como as plantas do tratamento D. Ora, uma vez que foi verificado a 28/10/2022, e em todas as datas que se sucederam, que o tratamento D atingia os potenciais hídricos de madrugada mais negativos,

contrastando de forma evidente com o controlo (W) e só a 26/01/2023 se verifica o mesmo para as plantas pulverizadas (S), torna-se evidente o efeito das pulverizações no atraso da progressão do stresse hídrico das plantas quando foram sujeitas à seca.

Os eventos que molham exclusivamente as folhas podem melhorar o estado hídrico da planta, como consequência da FWU e da supressão da transpiração (Dawson & Goldsmith, 2018). Dado que as pulverizações foram feitas nas primeiras horas da manhã, altura em que ocorre a abertura dos estomas, um dos efeitos motivados pela folha molhada terá sido provavelmente a supressão da transpiração, com a consequente limitação da fotossíntese. Dados das trocas gasosas serão necessários para confirmar esta suposição.

O potencial hídrico do meio-dia (Ψ_{md}) é o valor mínimo do dia pois é nesta altura que ocorre o valor máximo da transpiração. Como foi dito, o Ψ_{md} variou ao longo do ensaio com alguma semelhança à variação do Ψ_{pd} (ver Figuras 8 e 10), mas como era de esperar, com valores mais negativos. As diferenças do Ψ_{pd} encontradas entre as proveniências até 06/10/2022, altura em que todos os tratamentos estavam sujeitos a pouca depleção de água, não foram tão evidentes no Ψ_{md} . Tendo em conta que a luz artificial só foi instalada a 07/11/2022, uma possibilidade que explica estas diferenças mais subtis, é que a luz natural da estufa não tenha sido saturante, causando menos transpiração e uma progressão do stresse hídrico mais lenta. De facto, a 11/11/2022 verificou-se uma descida generalizada do Ψ_{md} em todos os grupos que se deveu provavelmente à suplementação de luz artificial.

Somente a 28/11/2022 é que se identificaram pela primeira vez diferenças entre os tratamentos, quando o tratamento D demonstrou Ψ_{md} mais negativos que o controlo. E, na última data (26/01/2023), também o tratamento S foi distinto do controlo.

A ausência de diferenças significativas no Ψ_{md} entre os dois tratamentos sujeitos a depleção de água elevada (S e D), revela que não foi evidente que as pulverizações tenham suprimido a transpiração, pelo menos, de forma duradoura e que se refletisse na transpiração. Por outro lado, a ocorrência antecipada de valores de Ψ_{md} mais negativos e distintos do tratamento D relativamente ao controlo, pois só ocorreram mais tarde no tratamento S, vem a reforçar o efeito positivo das pulverizações.

Somente através do Ψ_{pd} e do Ψ_{md} , que nos inferem sobre estado hídrico e a transpiração das plantas, respetivamente, não é possível concluir qual dos fenómenos, FWU ou redução da transpiração, teve maior impacto no estado hídrico das plantas do tratamento S. No entanto, conjuntamente com dados de crescimento e de trocas gasosas que nos indiquem, por exemplo, que as plantas do tratamento S realizaram mais fotossíntese que as plantas do tratamento D, poderíamos inferir que a FWU, ocorreu com peso destacável devido às

pulverizações, na medida em que água absorvida pela via foliar tornar-se-ia disponível para a fotossíntese. No presente estudo, os dados do crescimento revelaram que as plantas da Companhia das Lezírias cresceram mais em diâmetro do caule que as plantas de Vila Viçosa e que os tratamentos W e D, desta proveniência, também (comparativamente com as plantas S). Estes dados poderiam indicar que a melhoria do estado hídrico das plantas S resultou, sobretudo, da supressão da transpiração causada pelas pulverizações com água destilada nas folhas. Adverte-se, contudo, às reservas que foram referidas anteriormente quanto a estes dados do crescimento, relacionadas com a curta duração deste ensaio relativamente ao crescimento lento do sobreiro e à sua interpretação sem o auxílio de dados sobre a fotossíntese.

E, ainda, tendo em conta que as plantas foram pulverizadas durante a manhã, e não de noite, é provável que a mais rápida evaporação da água das folhas tenha limitado tanto a FWU como a supressão da transpiração, tornando assim as diferenças no potencial hídricos foliar entre tratamentos, mais subtis e mais difíceis de detetar no meio da variabilidade de outros fatores. Apesar disso, verificou-se um efeito benéfico da folha molhada nas plantas do tratamento S para a manutenção do seu estado hídrico em condições de seca.

4.3 Ψ_{md} em função do Ψ_{pd}

O potencial hídrico de madrugada explicou 47% da variação do potencial hídrico do meio-dia (Figura 11, Tabela 1). A análise da nuvem de pontos e da regressão obtida na Figura 11 permite concluir que para valores do Ψ_{pd} superiores a -1 MPa, a dispersão dos dados aumenta afastando a regressão da linearidade. Esta dispersão é um indicador da estratégia hídrica do sobreiro em condições de disponibilidade de água, pelo que, nestas condições, a variabilidade indicia que a transpiração dependerá mais de condições como a luz e o déficit da pressão de vapor do que o controlo estomático, tal como constatou Pereira et al. (1987).

O valor do Ψ_{md} na origem (Λ , Tabela 1) da recta de regressão com todas as plantas corresponde ao valor máximo da transpiração em condições de disponibilidade hídrica (-0,601 MPa). O menor valor da ordenada na origem diz respeito à regressão do tratamento W (Tabela 1) ($\Lambda_W = -0,863$, $\Lambda_S = -0,634$, $\Lambda_D = -0,560$ MPa). Devido à ausência de limitação de água, este tratamento teve uma resposta do Ψ_{md} muito mais variável e muito pouca variação do Ψ_{pd} , dando origem a um valor muito baixo do coeficiente de determinação ($R^2_W = 0,0309$), indicando um menor controlo estomático e uma resposta maior às condições da estufa. Por sua vez, os valores semelhantes da ordenada na origem da regressão dos tratamentos S e D não demonstraram um efeito evidente da pulverização. Dito de outro modo, a provável supressão da transpiração motivada pelas pulverizações não se refletiu num valor de Λ

notoriamente superior, comparativamente ao tratamento D, que, em última análise, vem reforçar que a provável supressão da transpiração teve uma duração bastante limitada. Caso a água administrada pelas pulverizações tenha sido, em grande parte, incorporada pela via FWU, esperar-se-ia um valor da Λ do tratamento D menos negativo do que o tratamento S, que é o que se verifica, já que, uma melhoria do estado hídrico da planta, promovida pela FWU, iria favorecer a abertura dos estomas. No entanto, não encontrando diferenças significativas entre os Ψ_{md} dos tratamentos S e D (Figura 10), que foi o que também se verificou, devido à proximidade entre os dois valores da ordenada na origem e da variabilidade no Ψ_{md} explicada pela variabilidade do Ψ_{pd} (R^2), não podemos afirmar que a FWU promoveu mais trocas gasosas. Ainda assim, como se verificou que o Ψ_{md} do tratamento D tem uma relação mais forte com o Ψ_{pd} do que o tratamento S (Tabela 1), a variabilidade da transpiração do tratamento S dependeu mais de outros fatores que não controlo estomático (ditado pelo estado hídrico da planta ou Ψ_{pd}). Outro fator que, no caso do tratamento S, em igualdade de circunstâncias com o tratamento D, foi o efeito da folha molhada ou da pulverização (único fator distinto).

O declive das retas de regressão do potencial do meio-dia em função do potencial de madrugada representa a razão entre a condutância estomática e a condutância hidráulica do xilema (Martínez-Vilalta et al., 2014). O declive da reta de regressão do tratamento D foi superior ao do tratamento S (d_D : 1,061, d_S : 0,820 MPa) (Tabela 1), o que significa que este tratamento (D) revelou uma menor perda da condutância estomática. Dado que estamos a comparar parâmetros de regressões dentro da mesma espécie, que incluem o mesmo número pontos de cada proveniência, podemos afirmar que a tolerância à perda de condutância hidráulica dos dois tratamentos é a mesma e, portanto, o tratamento S demonstrou menor condutância estomática, pelo menos, em condições de disponibilidade hídrica. Acrescentar que, essa perda de condutância estomática, com água abundante, pode estar associada à supressão da transpiração causada pelas pulverizações. Já em condições de stresse hídrico, a divergência entre os valores dos declives das retas pode significar que um dos tratamentos experienciou maior perda de condutância hidráulica. No presente estudo, foi o tratamento D que, apresentando o maior declive da reta, revelou a maior perda de condutância hidráulica. De outra perspetiva, também foi o tratamento D que revelou o maior número de plantas a secarem (a taxa de sobrevivência mais baixa, 68%) (Figura 6). Sendo assim, conclui-se que o tratamento D mostrou ser o mais vulnerável à seca, pelo que, de alguma forma, o tratamento S foi beneficiado pelas pulverizações.

Entre as proveniências, as retas do Ψ_{md} em função do Ψ_{pd} são semelhantes (Tabela 1). O valor do potencial hídrico na ordenada é ligeiramente inferior nas plantas provenientes da

Companhia das Lezírias ($\Delta_{CL} = -0,645$ MPa) em comparação com o das plantas de Vila Viçosa ($\Delta_{VV} = -0,547$), indicando que as plantas de Vila Viçosa serão mais conservadoras no uso da água, em condições de água abundante. Por outro lado, o maior valor do declive da reta das plantas de Vila Viçosa ($d_{VV} = 1,037$, $d_{CL} = 0,907$) indicam que, em condições de stresse hídrico, as plantas de Vila Viçosa atingiram potenciais hídricos mais baixos. O que não deixa de ser interessante, pois, a taxa de sobrevivência desta proveniência foi muito superior à das plantas da Companhia das Lezírias (Figura 6). Então, evidencia-se que as plantas de Vila Viçosa têm menor vulnerabilidade à seca.

4.4 FWU

A absorção de água pelas folhas ocorreu nas plantas de sobreiro independentemente da proveniência. Existe uma relação linear entre o potencial hídrico da folha (Ψ_i , medido antes de ser parcialmente submersa), e a quantidade de água incorporada pela via foliar (Figura 12). Assim, num determinado intervalo de tempo, quanto menor o valor do Ψ_i , maior será a quantidade de água absorvida (FWU_{CAP}). A FWU_{CAP} variou entre 2,27 e 0,06 mg cm⁻², e com os valores médios de $0,66 \pm 0,02$ mg cm⁻². Limm et al. (2009), utilizando o mesmo protocolo que neste estudo para determinar a FWU em diferentes espécies, obtiveram valores coincidentes com o presente estudo (compreendidos entre 2,50 e 0,10 mg cm⁻²). De igual forma, Schreel et al. (2019), obtiveram valores médios de FWU de $0,52 \pm 0,13$ mg cm⁻².

A maior dispersão dos valores da FWU_{CAP} relativamente a Ψ_i muito baixos, pode estar associada à propagação de cavitações nos vasos condutores da folha. Lobo et al. (2018) elaborou curvas de vulnerabilidade à cavitação em sobreiro e verificou que a entrada de ar no xilema do sobreiro ocorria entre os -4,93 e os -2,14 MPa. Ora, a entrada de ar no xilema pode conduzir a uma subida de pressão no local do embolismo até à pressão atmosférica (Tyree & Zimmermann, 2002) e, assim, limitando ou impossibilitando a FWU, que requer um gradiente de pressão favorável. Por outro lado, valores de potenciais de água inferiores a -2 MPa, desde que não motivem a formação de embolismos e a sua propagação na folha, oferecem um gradiente de pressões muito favorável à FWU. Da mesma forma, a ocorrência de embolismos em parte dos vasos xilémicos da folha pode causar o aumento da variabilidade espacial da entrada de água na folha, pois parte da folha terá perdido condutância hidráulica, enquanto outra porção terá as colunas de água intactas e um gradiente de potenciais favoráveis à entrada de água.

O aumento do RWC no presente estudo (ΔRWC , $5,4\% \pm 0,2\%$), consequência da entrada de água pelas folhas, é comparável ao aumento do RWC obtido por Fernández et al. (2014) ($4,7 \pm 1,3\%$), que molharam as páginas adaxiais provenientes de ramos de azinheiras. Os

mesmos autores reportam, associado a esse aumento do RWC, uma subida no Ψ_i de $0,96 \pm 0,16$ MPa em ramos que se encontravam a $-2,47 \pm 0,10$ MPa de potencial hídrico. Neste estudo, obteve-se uma $\Delta\Psi$ de $1,44 \pm 0,14$ MPa associado à classe ≤ -2 MPa, algo superior ao valor obtido por estes autores, porém, a média desta classe ($\Psi_i (\leq -2 \text{ MPa}) = -2,70 \pm 0,05$ MPa) também é superior aos valores reportados. Desse modo, a discrepância entre os valores de RWC pode ser explicada pelas diferenças no Ψ_i da folha entre o estudo, mas também pode ser um indicativo de que o sobreiro absorve mais água pela via FWU que azinheira.

Em última análise, a comprovação de que o sobreiro realiza FWU e de que a quantidade de água incorporada por esta via é maior em função do stresse hídrico da folha, trazem implicações importantes no entendimento da ecologia do montado. Os sobreiros que se encontram maioritariamente no interior do país, normalmente sujeitos a maior falta de água que aqueles nas regiões mais próximas do litoral, poderão depender em maior extensão da água incorporada por FWU. Ainda, tendo em conta que as alterações climáticas podem vir a sujeitar também os sobreiros das zonas mais costeiras, como na Companhia das Lezírias, a cada vez maior falta de água, a FWU poderá ser um fenómeno cada vez mais importante na vitalidade dos sobreiros em toda a extensão de onde este se encontra distribuído.

5. Conclusão

Com este estudo, pudemos validar que a absorção de água pelas folhas (FWU) ocorre em sobreiro. A capacidade das folhas em absorver água dependeu da existência de um gradiente de potencial hídrico favorável à entrada de água. O intervalo de valores da FWU_{CAP} do sobreiro, coincide com os valores reportados por outros autores em diversas espécies de árvores. A melhoria do estado hídrico das folhas de azinheira após FWU, foi comparável à obtida neste estudo, em sobreiro, ainda que inferior.

Os tratamentos sujeitos a stresse hídrico, D e S, não revelaram diferenças significativas entre si quanto ao potencial hídrico de madrugada e do meio-dia, com exceção numa data. No entanto, o stresse hídrico progrediu mais rapidamente no tratamento D do que no tratamento S, como indicado pelos valores de Ψ_{pd} .

Em condições de stresse hídrico severo, os tratamentos D e S, experienciaram valores de Ψ associados à perda de condutividade hidráulica, mas, as plantas do tratamento D atingiram-nos bem mais cedo, e com implicações na sobrevivência das plantas, que foi muito inferior neste tratamento.

Foi interessante notar que, quanto às plantas que secaram, as plantas da Companhia das Lezírias dominaram este grupo, não obstante, das plantas de Vila Viçosa terem atingido Ψ_{md} extremamente baixos, associados ao início da propagação de embolismos. Constata-se, então, que as plantas de Vila Viçosa possuem um xilema menos vulnerável à propagação de embolismos e, portanto, à falência hidráulica.

A pulverização beneficiou o estado hídrico das plantas do tratamento S, mas não é claro, através dos dados do ensaio, se esse impacto positivo resultou em maior parte da FWU, da redução da transpiração, ou de ambos.

Às questões que nos propusemos responder, este estudo concluiu que a FWU, além de ser um fenómeno que ocorre no sobreiro, é maior quanto maior for stresse hídrico experienciado pela planta e que a sua contribuição atrasa, de forma significativa, a progressão do stresse hídrico da planta. Atendendo à relação entre o stresse hídrico e a FWU, concluímos que a FWU pode ter uma maior contribuição nos sobreiros das regiões mais secas do país. E, num contexto de alterações climáticas, mesmo nas zonas mais húmidas onde os montados estão distribuídos, é provável que nesses locais esses montados venham cada vez mais a depender destes fenómenos para a manutenção da sua vitalidade.

Este trabalho permitiu dar os primeiros passos no conhecimento e compreensão da FWU no sobreiro. Contudo, muitas questões ficam ainda por responder. Futuramente, seria interessante conduzir um ensaio semelhante, mas com pulverizações durante a noite, de

modo a reduzir o efeito da FWU na transpiração e realçar a contribuição da FWU para o estado hídrico das plantas. Da mesma forma dar continuidade ao presente estudo, explorando as vias de FWU, ou seja, se a FWU ocorre na página abaxial e/ou adaxial das folhas e quais as estruturas envolvidas. Considerar a FWU na reflorestação e realçar também a importância de se obterem dados sobre a formação de orvalho, para permitir o cruzamento com dados de campo dos inúmeros ensaios com espécies Mediterrânicas e auxiliar nos inúmeros projetos de florestação.

6. Referências Bibliográficas

- APCOR - Associação Portuguesa da Cortiça. (2023). *Sobreiro*.
<https://www.apcor.pt/montado/sobreiro/>
- Arosa, M. L. (2015). *The Decline of Coark Wak Woodlands: Biotic and Abiotic Interactions in Portuguese Montados*. [Tese de Doutoramento, Universidade de Coimbra].
- Arosa, M. L., Bastos, R., Cabral, J. A., Freitas, H., Costa, S. R., & Santos, M. (2017). Long-term sustainability of cork oak agro-forests in the Iberian Peninsula: A model-based approach aimed at supporting the best management options for the montado conservation. *Ecological Modelling*, 343. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2016.10.008>
- Ben-Asher, J., Alpert, P., & Ben-Zvi, A. (2010). Dew is a major factor affecting vegetation water use efficiency rather than a source of water in the eastern Mediterranean area. *Water Resources Research*, 46(10), 2008WR007484. <https://doi.org/10.1029/2008WR007484>
- Benz, B. W., & Martin, C. E. (2006). Foliar trichomes, boundary layers, and gas exchange in 12 species of epiphytic Tillandsia (Bromeliaceae). *Journal of Plant Physiology*, 163(6), 648–656. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.05.008>
- Berry, Z. C., Emery, N. C., Gotsch, S. G., & Goldsmith, G. R. (2019). Foliar water uptake: Processes, pathways, and integration into plant water budgets. *Plant, Cell & Environment*, 42(2), 410–423. <https://doi.org/10.1111/pce.13439>
- Binks, O., Finnigan, J., Coughlin, I., Disney, M., Calders, K., Burt, A., Vicari, M. B., da Costa, A. L., Mencuccini, M., & Meir, P. (2021). Canopy wetness in the Eastern Amazon. *Agricultural and Forest Meteorology*, 297. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2020.108250>
- Binks, O., Mencuccini, M., Rowland, L., Costa, A. C. L., Carvalho, C. J. R., Bittencourt, P., Eller, C., Teodoro, G. S., Carvalho, E. J. M., Soza, A., Ferreira, L., Vasconcelos, S. S., Oliveira, R., & Meir, P. (2019). Foliar water uptake in Amazonian trees: Evidence and consequences. *Global Change Biology*, 25(8), 2678–2690. <https://doi.org/10.1111/gcb.14666>
- Blondel, J. (2006). The “design” of Mediterranean landscapes: A millennial story of humans and ecological systems during the historic period. *Human Ecology*, 34(5). <https://doi.org/10.1007/s10745-006-9030-4>

- Boaneres, D., Isaias, R. R. M. S., de Sousa, H. C., & Kozovits, A. R. (2018). Strategies of leaf water uptake based on anatomical traits. *Plant Biology*, 20(5), 848–856. <https://doi.org/10.1111/plb.12832>
- Breazeale, E. L., & McGeorge, W. T. (1953). EXUDATION PRESSURE IN ROOTS OF TOMATO PLANTS UNDER HUMID CONDITIONS. *Soil Science*, 75(4).
- Breshears, D. D., McDowell, N. G., Goddard, K. L., Dayem, K. E., Martens, S. N., Meyer, C. W., & Brown, K. M. (2008). FOLIAR ABSORPTION OF INTERCEPTED RAINFALL IMPROVES WOODY PLANT WATER STATUS MOST DURING DROUGHT. *Ecology*, 89(1), 41–47. <https://doi.org/10.1890/07-0437.1>
- Buckley, T. N. (2005). The control of stomata by water balance. *New Phytologist*, 168(2), 275–292. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01543.x>
- Burgess, S. S. O., & Dawson, T. E. (2004). The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, 27(8), 1023–1034. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01207.x>
- Burkhardt, J. (2010). Hygroscopic particles on leaves: nutrients or desiccants? *Ecological Monographs*, 80(3), 369–399. <https://doi.org/10.1890/09-1988.1>
- Bussotti, F., Pollastrini, M., Holland, V., & Brüggemann, W. (2015). Functional traits and adaptive capacity of European forests to climate change. *Environmental and Experimental Botany*, 111, 91–113. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.11.006>
- Dawson, T. E., & Goldsmith, G. R. (2018). The value of wet leaves. *New Phytologist*, 219(4), 1156–1169. <https://doi.org/10.1111/nph.15307>
- Dixon, H. H., & Joly, J. (1895). XII. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.(B.)*, 186, 563–576.
- Eller, C. B., Burgess, S. S. O., & Oliveira, R. S. (2015). Environmental controls in the water use patterns of a tropical cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *Tree Physiology*, 35(4), 387–399. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv001>
- Eller, C. B., Lima, A. L., & Oliveira, R. S. (2013). Foliar uptake of fog water and transport belowground alleviates drought effects in the cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *New Phytologist*, 199(1), 151–162. <https://doi.org/10.1111/nph.12248>

- Fernández, J. E., & Cuevas, M. V. (2010). Irrigation scheduling from stem diameter variations: A review. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(2), 135–151. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2009.11.006>
- Fernández, V., Bahamonde, H. A., Javier Peguero-Pina, J., Gil-Pelegri n, E., Sancho-Knapik, D., Gil, L., Goldbach, H. E., & Eichert, T. (2017). Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *Journal of Experimental Botany*, 68(19), 5293–5306. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx302>
- Fernández, V., Sancho-Knapik, D., Guzm n, P., Peguero-Pina, J. J., Gil, L., Karabourniotis, G., Khayet, M., Fasseas, C., Heredia-Guerrero, J. A., Heredia, A., & Gil-Pelegri n, E. (2014). Wettability, Polarity, and Water Absorption of Holm Oak Leaves: Effect of Leaf Side and Age. *Plant Physiology*, 166(1), 168–180. <https://doi.org/10.1104/pp.114.242040>
- Garratt, J. R., & Segal, M. (1988). On the contribution of atmospheric moisture to dew formation. *Boundary-Layer Meteorology*, 45(3), 209–236. <https://doi.org/10.1007/BF01066671>
- Goldsmith, G. R. (2013). Changing directions: the atmosphere–plant–soil continuum. *New Phytologist*, 199(1), 4–6. <https://doi.org/10.1111/nph.12332>
- Grammatikopoulos, G., & Manetas, Y. (1994). Direct absorption of water by hairy leaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to drought avoidance. *Canadian Journal of Botany*, 72(12), 1805–1811. <https://doi.org/10.1139/b94-222>
- Haberstroh, S., Lobo-do-Vale, R., Caldeira, M. C., Dubbert, M., Cuntz, M., & Werner, C. (2022). Plant invasion modifies isohydricity in Mediterranean tree species. *Functional Ecology*, 36(9), 2384–2398. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14126>
- Huschke, R. E. (1991). *Dew, Meteorological Glossary* (6th ed.).
- ICNF. (2015). 6.º *Invent rio da Floresta Nacional, IFN 6*.
- IPCC, 2021: Summary for Policymakers. In: Climate Change 2021: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 1-34, <https://www.ipcc.ch/report/synthesis-report/>
doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001
- IPMA. (2023). *Normal Climatol gica 1971-2001*. <https://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/1971-2000/#535>

- Jacobs, A. F. G., Heusinkveld, B. G., & Berkowicz, S. M. (2002). A simple model for potential dewfall in an arid region. *Atmospheric Research*, 64(1–4), 285–295. [https://doi.org/10.1016/S0169-8095\(02\)00099-6](https://doi.org/10.1016/S0169-8095(02)00099-6)
- Joffre, R., Rambal, S., & Ratte, J. P. (1999). *The dehesa system of southern Spain and Portugal as a natural ecosystem mimic*.
- Johnson, H. B. (1975). Plant pubescence: An ecological perspective. *The Botanical Review*, 41(3), 233–258. <https://doi.org/10.1007/BF02860838>
- Ketel, D. H., Dirkse, W. G., & Ringoet, A. (1972). WATER UPTAKE FROM FOLIAR-APPLIED DROPS AND ITS FURTHER DISTRIBUTION IN THE OAT LEAF*. *Acta Botanica Neerlandica*, 21(2), 155–165. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1972.tb00759.x>
- KEYS, A. J., SAMPAIO, E. V. S. B., CORNELIUS, M. J., & BIRD, I. F. (1977). Effect of Temperature on Photosynthesis and Photorespiration of Wheat Leaves. *Journal of Experimental Botany*, 28(3), 525–533. <https://doi.org/10.1093/jxb/28.3.525>
- Limm, E. B., Simonin, K. A., Bothman, A. G., & Dawson, T. E. (2009). Foliar water uptake: A common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*, 161(3), 449–459. <https://doi.org/10.1007/S00442-009-1400-3/FIGURES/3>
- Lionello, P., & Scarascia, L. (2018). The relation between climate change in the Mediterranean region and global warming. *Regional Environmental Change*, 18(5), 1481–1493. <https://doi.org/10.1007/s10113-018-1290-1>
- Lobo, A., Torres-Ruiz, J. M., Burlett, R., Lemaire, C., Parise, C., Francioni, C., Truffaut, L., Tomášková, I., Hansen, J. K., Kjær, E. D., Kremer, A., & Delzon, S. (2018). Assessing inter- and intraspecific variability of xylem vulnerability to embolism in oaks. *Forest Ecology and Management*, 424, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.04.031>
- Lobo-do-Vale, R., Haberstroh, S., Werner, C., Nogueira, C., Bugalho, M. N., & Caldeira, M. C. (2023). Effects of Shrub Encroachment on Carbon Assimilation and Growth of Mediterranean Cork Oak Trees Depend on Shrub Cover Density. *Forests*, 14(5), 960. <https://doi.org/10.3390/f14050960>
- Lobo-do-Vale, R., Rafael, T., Haberstroh, S., Werner, C., & Caldeira, M. C. (2023). Shrub Invasion Overrides the Effect of Imposed Drought on the Photosynthetic Capacity and Physiological Responses of Mediterranean Cork Oak Trees. *Plants*, 12(8), 1636. <https://doi.org/10.3390/plants12081636>

- Martínez-Vilalta, J., Poyatos, R., Aguadé, D., Retana, J., & Mencuccini, M. (2014). A new look at water transport regulation in plants. *New Phytologist*, 204(1), 105–115. <https://doi.org/10.1111/nph.12912>
- Mayr, S., Schmid, P., Laur, J., Rosner, S., Charra-Vaskou, K., Dämon, B., & Hacke, U. G. (2014). Uptake of Water via Branches Helps Timberline Conifers Refill Embolized Xylem in Late Winter. *Plant Physiology*, 164(4), 1731–1740. <https://doi.org/10.1104/pp.114.236646>
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D. G., & Yezzer, E. A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*, 178(4), 719–739. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02436.x>
- Michael Evenari, L. S. N. T. (1982). *The Negev: The Challenge of a Desert*. Harvard University Press.
- Molinas, M. L. (1991). The stomata of the cork-oak, *Quercus suber*. An ultrastructural approach. *Nordic Journal of Botany*, 11(2), 205–212. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1991.tb01821.x>
- Monteith, J. L. (1963). Gas exchange in plant communities. *L. T. Evans (Editor) Environmental Control of Plant Growth*. Academic Press, New York.
- Monteith, J. L. (1981). Evaporation and surface temperature. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 107(451), 1–27. <https://doi.org/10.1002/qj.49710745102>
- Nadezhdina, N., David, T. S., David, J. S., Ferreira, M. I., Dohnal, M., Tesař, M., Gartner, K., Leitgeb, E., Nadezhdin, V., Cermak, J., Jimenez, M. S., & Morales, D. (2010). Trees never rest: the multiple facets of hydraulic redistribution. *Ecohydrology*, 3(4), 431–444. <https://doi.org/10.1002/eco.148>
- Natividade, J. V. (1950). *Subericultura*. Ministério da Economia, Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas.
- Ohruí, T., Nobira, H., Sakata, Y., Taji, T., Yamamoto, C., Nishida, K., Yamakawa, T., Sasuga, Y., Yaguchi, Y., Takenaga, H., & Tanaka, S. (2007). Foliar trichome- and aquaporin-aided water uptake in a drought-resistant epiphyte *Tillandsia ionantha* Planchon. *Planta*, 227(1), 47–56. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0593-0>

- Olea, L. (2006). The Spanish dehesa. A traditional Mediterranean silvopastoral system linking production and nature conservation. *Grassland Science in Europe*, 11.
- Pereira, J. S., Beyschlag, G., Lange, O. L., Beyschlag, W., & Tenhunen, J. (1987). *Comparative phenology of four mediterranean shrub species growing in Portugal*. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:126944933>
- Pereira, P. M., & Pires da Fonseca, M. (2003). Nature vs. Nurture: the Making of the Montado Ecosystem. *Conservation Ecology*, 7(3), art7. <https://doi.org/10.5751/ES-00562-070307>
- Pieczynski, M., Marczewski, W., Hennig, J., Dolata, J., Bielewicz, D., Piontek, P., Wyrzykowska, A., Krusiewicz, D., Strzelczyk-Zyta, D., Konopka-Postupolska, D., Krzeslowska, M., Jarmolowski, A., & Szweykowska-Kulinska, Z. (2013). Down-regulation of *CBP80* gene expression as a strategy to engineer a drought-tolerant potato. *Plant Biotechnology Journal*, 11(4), 459–469. <https://doi.org/10.1111/pbi.12032>
- Pina, A. L. C. B., Zandavalli, R. B., Oliveira, R. S., Martins, F. R., & Soares, A. A. (2016). Dew absorption by the leaf trichomes of *Combretum leprosum* in the Brazilian semiarid region. *Functional Plant Biology*, 43(9), 851. <https://doi.org/10.1071/FP15337>
- Pineda, F., & Montalvo, J. (1995). Dehesa Systems in the western Mediterranean. In P. Halladay & D. A. Gilmour (Eds.), *Conserving Biodiversity Outside Protected Areas* (pp. 107–110). IUCN - The World Conservation Union.
- Pinto-Correia, T., & Godinho, S. (2013). Changing agriculture-changing landscapes: What is going on in the high valued montado landscapes of southern Portugal? *Research in Rural Sociology and Development*, 19. [https://doi.org/10.1108/S1057-1922\(2013\)0000019006](https://doi.org/10.1108/S1057-1922(2013)0000019006)
- Riederer, M., & Schreiber, L. (2001). Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*, 52(363), 2023–2032. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.363.2023>
- Rundel, P. W. (1982). *Encyclopedia of Plant Physiology Plant Ecology II Water Relations and Carbon Assimilation*. Springer.
- Schreel, J. D. M., & Steppe, K. (2020). Foliar Water Uptake in Trees: Negligible or Necessary? *Trends in Plant Science*, 25(6), 590–603. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.003>
- Schreel, J. D. M., von der Crone, J. S., Kangur, O., & Steppe, K. (2019). Influence of Drought on Foliar Water Uptake Capacity of Temperate Tree Species. *Forests*, 10(7), 562. <https://doi.org/10.3390/f10070562>

- Sellin, A. (1999). Does pre-dawn water potential reflect conditions of equilibrium in plant and soil water status? *Acta Oecologica*, 20(1), 51–59. [https://doi.org/10.1016/S1146-609X\(99\)80015-0](https://doi.org/10.1016/S1146-609X(99)80015-0)
- Simões, R., Miranda, I., & Pereira, H. (2023). Variation in Leaf Cutin Content and Chemical Composition along One Annual Cycle in the Mediterranean Cork Oak (*Quercus suber* L.). *Forests*, 14(2), 334. <https://doi.org/10.3390/f14020334>
- Steppe, K., Niinemets, Ü., & Teskey, R. O. (2011). *Tree Size- and Age-Related Changes in Leaf Physiology and Their Influence on Carbon Gain* (pp. 235–253). https://doi.org/10.1007/978-94-007-1242-3_9
- Tomaszkiewicz, M., Abou Najm, M., Beysens, D., Alameddine, I., Bou Zeid, E., & El-Fadel, M. (2016). Projected climate change impacts upon dew yield in the Mediterranean basin. *Science of The Total Environment*, 566–567, 1339–1348. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.195>
- Tramblay, Y., Koutroulis, A., Samaniego, L., Vicente-Serrano, S. M., Volaire, F., Boone, A., Le Page, M., Llasat, M. C., Albergel, C., Burak, S., Cailleret, M., Kalin, K. C., Davi, H., Dupuy, J.-L., Greve, P., Grillakis, M., Hanich, L., Jarlan, L., Martin-StPaul, N., ... Polcher, J. (2020). Challenges for drought assessment in the Mediterranean region under future climate scenarios. *Earth-Science Reviews*, 210, 103348. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103348>
- Tyree, M. T., & Zimmermann, M. H. (2002). *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-04931-0>
- van den Honert, T. H. (1948). Water transport in plants as a catenary process. *Discussions of the Faraday Society*, 3, 146. <https://doi.org/10.1039/df9480300146>
- Yeats, T. H., & Rose, J. K. C. (2013). The Formation and Function of Plant Cuticles. *Plant Physiology*, 163(1), 5–20. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222737>