

## TROCAS GASOSAS DIURNAS EM PLÂNTULAS DE *Erythrina velutina* DURANTE O ESTABELECIMENTO TARDIO<sup>1</sup>

Maryelle Campos Silva<sup>2</sup>  
Herley Carlos Bezerra de Oliveira<sup>3</sup>  
Ana Paula de Brito Araújo<sup>4</sup>  
Thadeu Martins Feitosa<sup>5</sup>  
Eduardo Luiz Voigt<sup>6</sup>

### INTRODUÇÃO

A Caatinga é uma floresta tropical seca e um bioma exclusivamente brasileiro que ocupa cerca de 10% do território nacional (IBGE, 2012), consistindo na região semiárida mais populosa do mundo (SOUZA et al., 2015). A maior parte dessa população depende dos recursos naturais desse bioma, usados como fonte de alimentos, forragens, lenha e empregados na apicultura e na medicina popular (MAIA et al., 2017). Além da sua importância econômica e social, a Caatinga também apresenta importância ecológica, por ser um bioma com riqueza e biodiversidade elevadas, incluindo espécies endêmicas (FERREIRA et al., 2016). Devido às ações antrópicas extrativistas e às suas peculiaridades climáticas, a Caatinga vem sofrendo progressiva degradação, exigindo ações de preservação e restauração.

As restaurações de florestas geralmente iniciam pelo repovoamento com espécies vegetais nativas nas áreas degradadas. Para este fim, diversos propágulos podem ser usados, como sementes, bulbos, rizomas, estacas e plântulas. As plântulas obtidas por diferentes sistemas de produção são muito utilizadas (STANTURF; PALIK; DUMROESE, 2014). Um dos principais entraves para o sucesso dessas ações é a elevada taxa de mortalidade das plântulas, a qual tem sido atribuída aos estresses bióticos e abióticos que elas enfrentam. Para além, uma das principais restrições à restauração é a falta de dados sobre o estabelecimento da plântula em espécies consideradas estratégicas (SORIANO et al., 2013).

Embora a qualidade da plântula geralmente seja caracterizada pela morfologia, os seus atributos fisiológicos são considerados mais relevantes (STANTURF; PALIK; DUMROESE, 2014). Após a germinação da semente, a eficiência com a qual as reservas são mobilizadas e utilizadas no crescimento da plântula está associada ao vigor, sendo crucial para alcançar a autotrofia e ter sucesso em condições de campo (GOMMERS e MONTE, 2018). Assim, o estabelecimento da plântula, enquanto transição de fase, envolve alterações da relação fonte-dreno e, portanto, é dependente da disponibilidade de carbono (WINGLER, 2018).

Trabalhos recentes destacam a importância dos carboidratos não estruturais (NSC, do Inglês non-structural carbohydrates) nas diferentes transições de fase. Estes compostos

<sup>1</sup> Resultado de projeto de pesquisa do Programa de Pós Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN.

<sup>2</sup> Mestranda do Curso de Ciências Florestais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, [maryellecampos@gmail.com](mailto:maryellecampos@gmail.com);

<sup>3</sup> Graduando do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, [herleycarl@gmail.com](mailto:herleycarl@gmail.com);

<sup>4</sup> Graduanda do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, [brito\\_paula@outlook.com](mailto:brito_paula@outlook.com);

<sup>5</sup> Graduando do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, [tha\\_deu@hotmail.com](mailto:tha_deu@hotmail.com);

<sup>6</sup> Professor orientador: Doutor em Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, [elvoigt@cb.ufrn.br](mailto:elvoigt@cb.ufrn.br) ou [elvoigt@yahoo.com.br](mailto:elvoigt@yahoo.com.br)

incluem o amido e os açúcares solúveis, como sacarose, glicose e frutose (VILLAR-SALVADOR; USCOLA; JACOBS, 2015). Já que os conteúdos de NSC apresentam oscilações em sincronia com o ciclo diário de luz e escuridão (WINGLER, 2018), é essencial conhecer como esta dinâmica afeta o estabelecimento da plântula, no qual os tecidos de armazenamento vão sendo substituídos pelas primeiras folhas como principais fontes.

A despeito do papel do ritmo circadiano na regulação do metabolismo do amido em folhas estar bem estabelecido, não está claro se o metabolismo dos NSC em outras partes da plântula e a mobilização das reservas também podem ser regulados da mesma forma. Considerando a importância da fotossíntese e da transpiração na dinâmica dos NSC, este primeiro trabalho visou caracterizar as trocas gasosas diurnas em folhas de plântulas de *Erythrina velutina* Willd. durante o estabelecimento tardio, uma espécie nativa, endêmica e pioneira na sucessão ecológica, apresentando potencial para restauração de áreas degradadas da Caatinga (PEREIRA et al., 2014).

Plântulas obtidas sob condições controladas foram transferidas para cultivo hidropônico e mantidas em casa de vegetação por 8 dias. Um analisador de gases por infravermelho foi usado para mensurar assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, transpiração, temperatura foliar, CO<sub>2</sub> subestomático e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR, do inglês photosynthetically active radiation) em uma das folhas cordiformes. As medidas foram conduzidas de 2 em 2 h, das 5h30min às 17h30min, de forma casualizada em com cinco repetições por observação e os resultados das variáveis foram analisados por estatística descritiva, considerando média e desvio padrão.

A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> apresentou os maiores valores entre as 9h30min e 13h30min, diminuindo às 15h30min e com valores negativos às 5h30min e 17h30min. A condutância estomática e a transpiração foliar foram mais elevadas entre as 7h30min e 15h30min, enquanto que a temperatura foliar e a PAR foram maiores entre as 9h30min e 13h30min, nos demais horários os valores foram reduzidos.

Esse padrão diurno de trocas gasosas foi semelhante àquele verificado em outras espécies lenhosas tropicais. Durante os momentos com PAR e temperatura mais elevadas, as folhas cordiformes apresentaram movimento paraheliotrópico, dispondo-se de forma paralela aos raios solares, apesar desse posicionamento a temperatura não foi mais baixa. Embora a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> tenha reduzido às 15h30min, não houve concomitante diminuição da transpiração e da condutância estomática, não sendo possível atribuir essa redução ao fechamento dos estômatos, mas provavelmente está envolvida com a diminuição da PAR. Estes resultados podem contribuir para o esclarecimento de estratégias fisiológicas usadas por plântulas de *E. velutina* para lidar com estresses típicos do seu habitat.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Frutos de *E. velutina* foram coletados de dez árvores matrizes, localizadas na região de Acari (RN); esses frutos foram beneficiados, separando as sementes visualmente intactas (sem danos) e acondicionando as mesmas em refrigerador. Após escarificação mecânica, as sementes foram lavadas com detergente comercial diluído (1:500), seguido de lavagem em água corrente. A desinfestação foi realizada com etanol 70% (v/v) por 30 s e NaClO 0,25% (m/v) por 3 min, sucedido de três lavagens com água destilada estéril. Depois, as sementes foram embebidas em água destilada estéril por 2 h e foram transferidas para folhas de papel toalha, do tipo Germitest®, organizadas no sistema de rolos e mantidas sob condições controladas (temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12 h e  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) por 9 dias.

As plântulas foram transferidas para cultivo hidropônico em água destilada contida em vasos plásticos com capacidade de 1 L e mantidas em casa de vegetação por 8 dias. As coletas

foram realizadas em intervalos de 2 h iniciando ao amanhecer, por um período total de 12 h, no estágio fisiológico em que a plântula apresentou o par de folhas cordiformes expandidas.

Com o auxílio de um analisador de gases por infravermelho (IRGA, do inglês, Infrared Gas Analyzer), modelo LCpro-SD, da ADC BioScientif Ltd., foram determinadas assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, transpiração e temperatura foliar, CO<sub>2</sub> subestomático e a PAR em uma das folhas cordiformes em cada plântula.

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado em curva de tempo com cinco repetições por tratamento. Os resultados obtidos para as diferentes variáveis foram analisados por estatística descritiva, considerando média e desvio padrão.

## DESENVOLVIMENTO

A Caatinga é uma floresta tropical seca localizada principalmente na Região Nordeste do Brasil e ocupa cerca de 1.330.000 km<sup>2</sup>, onde vivem mais de 31.000.000 de pessoas (SOUZA; MENEZES; ARTIGAS, 2015). Este bioma é caracterizado por temperatura média anual superior a 25 °C, pluviosidade média anual entre 700 e 2.000 mm e estação seca (FERREIRA et al., 2016). A despeito de que a Caatinga apresenta alta biodiversidade, ainda é um dos biomas menos estudados e mais ameaçados devido a práticas agrícolas inadequadas, como desmatamento e queimadas (SANTOS et al., 2014). Assim, é indispensável fundamentar programas de recuperação e/ou restauração dessas áreas degradadas.

Uma das principais limitações para a restauração de florestas é a falta de conhecimentos sobre o estabelecimento de plântulas nativas, tendo em vista que essa é uma das fases mais vulneráveis do ciclo de vida das plantas (SORIANO et al., 2013). O estabelecimento é uma transição do desenvolvimento, na qual o metabolismo heterotrófico dependente das reservas viabiliza a progressão para o metabolismo fotossintético (WINGLER, 2018). Nesta ocasião, as reservas estocadas em tecidos de armazenamento são mobilizadas, gerando metabólitos passíveis de serem transportados para o eixo embrionário, sustentando o seu crescimento (GOMMERS; MONTE, 2018).

Trabalhos recentes vêm demonstrando o papel central dos NCS nas respostas fornecidas pelas plântulas aos estresses ambientais, de forma que esses compostos estão intimamente relacionados com o seu desempenho sob condições naturais (VILLAR-SALVADOR; USCOLA; JACOBS, 2015). Em dicotiledôneas, os NCS correspondem ao amido e aos açúcares solúveis. O amido preenche a função de reserva, enquanto os açúcares solúveis fornecem energia e a atuam como precursores, intermediários, transporte de carbono, sinalizadores e osmólitos (MARTINEZ-VILALTA et al., 2016).

Sendo os NSC os principais produtos da fotossíntese, a sua dinâmica é fortemente influenciada pelo ciclo de luz e escuridão. Neste sentido, iniciativas voltadas à caracterização das trocas gasosas durante o estabelecimento da plântula podem ampliar a compreensão sobre a importância deste fenômeno para a colonização do ambiente. Várias iniciativas têm caracterizado a distribuição de NSC em plântulas e plantas jovens de espécies temperadas (VILLAR-SALVADOR; USCOLA; JACOBS, 2015), de modo que são necessários mais estudos em espécies tropicais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo de 12 h, foi possível perceber sincronia entre as diferentes variáveis mensuradas, relativas a trocas gasosas. A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> no amanhecer apresentou valor negativo, aumentando para 1,22 e em seguida para 7,27 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> às 7h30min e 9h30min, respectivamente, mantendo esse padrão até às 13h30min. A partir das



15h30min foi percebida a redução de quase 16% da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e na última coleta voltou a apresentar valor negativo.

Durante a primeira coleta, a transpiração foi equivalente a 1,28 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, na segunda coleta o valor mais que dobrou, enquanto que entre as 9h30min e 13h30min os valores apresentaram um aumento de aproximadamente seis vezes comparados ao da primeira aferição. Após esse período, a transpiração reduziu e na última coleta apresentou valores tão baixos quanto o observado no amanhecer.

A condutância estomática apresentou o maior valor na coleta realizada às 7h30min, ocorrendo uma redução de quase três vezes nas coletas das 9h30min, 11h30min e 13h30min, correspondendo a 0,47, 0,53 e 0,50 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente. Na coleta das 15h30min, a abertura estomática foi equivalente a 0,35 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, valor semelhante ao encontrado às 5h30min. Na última coleta, o fechamento quase que total dos estômatos ficou caracterizado pela aferição mais baixa (0,06 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Acompanhando a tendência dos valores encontrados para a transpiração, a temperatura foliar foi elevada no decorrer das horas. Na primeira coleta, o valor foi de 25 °C, atingindo maiores temperaturas das 9h30min até às 13h30min, a temperatura estava em torno dos 38 °C. Desse ponto em diante, ocorreu diminuição da temperatura foliar até se aproximar do valor encontrado ao amanhecer; de fato às 17h30min, a temperatura foliar foi de 30,1 °C.

A variação do CO<sub>2</sub> subestomático está diretamente relacionada com a sua assimilação líquida, pois os valores coletados foram inversamente proporcionais aos valores aferidos para a atividade fotossintética, sendo os maiores valores expressados nas coletas dos horários das 5h30min, 7h30min e 17h30min. No período em que a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> foi mais alta, das 9h30min até às 15h30min, os valores do CO<sub>2</sub> subestomático foram os mais baixos, variando entre 336,20 e 384,60 vpm. Assim, nos horários em que as plântulas intensificam a atividade fotossintética, a concentração do CO<sub>2</sub> subestomático é reduzida. O contrário foi observado em relação à PAR, os horários de maior irradiância coincidiram com o período de maior assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, além disso, quando os valores da PAR estavam muito baixos ou próximos a zero foram verificados valores negativos da assimilação líquida de CO<sub>2</sub>.

O padrão de assimilação líquida do CO<sub>2</sub> em folhas cordiformes de plântulas de *E. velutina* ao longo do dia apresenta semelhança com aquele verificado em outras espécies lenhosas tropicais. Por exemplo, em folhas de *Annona x atemoya* Mabb. (BARON et al., 2018) e *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. (NÓIA-JÚNIOR et al., 2018), a atividade fotossintética apresenta valores mais elevados pela manhã, diminuindo próximo ao meio dia, quando as condições de iluminação são mais severas. Em comparação, em algumas espécies lenhosas de clima temperado, como *Fagus sylvatica* L., *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl. (ARANDA; GIL; PARDOS, 2000) e *Quercus suber* (TENHUNEN et al., 1984), a diminuição da atividade fotossintética ocorre mais tardiamente, acompanhando a diminuição da iluminação. Assim sendo, mais estudos poderão caracterizar este padrão de atividade fotossintética verificado em espécies lenhosas tropicais como uma estratégia para minimizar possíveis danos durante momentos do dia mais estressantes (SANTOS et al., 2014a).

Apesar da diminuição da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ter sido registrada às 15h30min, não houve concomitante diminuição da transpiração e da condutância estomática, de forma que não é possível atribuir a redução da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ao fechamento dos estômatos, mas pode ser vinculada a diminuição da PAR. Resultados opostos foram encontrados em outras espécies de climas quentes, como em plantas de *Cynophalla flexuosa* [L.] J. Presl, *Poincianella pyramidalis* (SANTOS et al., 2014c), *Oenothera biennis* (KOYAMA; TAKEMOTO, 2015) e *Ziziphus joazeiro* Mart. (SANTOS et al. 2014b), nas quais a limitação da atividade fotossintética se correlaciona com a diminuição da condutância estomática. Ainda, nas folhas cordiformes de *E. velutina*, a temperatura foliar elevada pode ter intensificado a fotorrespiração (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2018).

A diminuição da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> nas folhas cordiformes de *E. velutina* às 15h30min pode também estar relacionada a alterações na respiração e na fotorrespiração causadas pelo aumento da temperatura foliar. Esses efeitos estão bem reportados na literatura, vinculando o aumento da temperatura foliar com a intensificação da atividade respiratória e, ainda, favorecendo a fotorrespiração em relação à fotossíntese (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2018), o que poderia explicar a diminuição da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> mensurada.

As plantas também podem usar estratégias de fotoproteção para equilibrar a absorção de luz com a sua utilização. A captação da luz pode ser modulada pelo ajuste da interceptação foliar, da penetração da luz no cloroplasto e pelas posições das folhas em relação aos raios solares (DEMMIG-ADAMS; ADAMS, 2018). Na leguminosa *Styrax camporum* (HABERMANN et al., 2008), mostrou-se que a assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, a condutância estomática e a transpiração foram maiores em folhas paraheliotrópicas (paralelas aos raios solares) que em folhas diaeliotrópicas (perpendiculares aos raios solares), indicando que as primeiras podem evitar danos à atividade fotossintética nos períodos de maior iluminação.

Durante as aferições, observou-se que, no período de maior PAR, as folhas cordiformes de *E. velutina* apresentaram paraheliotropismo. Em trabalho anterior, foi descrita a presença de pulvínulo na base das suas folhas cordiformes, os quais estão envolvidos nos movimentos trópicos (SILVA et al., 2008). Assim, o paraheliotropismo pode ter sido uma resposta à alta irradiância para reduzir os possíveis danos ao aparato fotossintético.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os padrões diurnos de trocas gasosas em espécies lenhosas da Caatinga ainda são pouco conhecidos, sobretudo durante o estabelecimento da plântula, a continuidade do presente estudo pretende contribuir para elucidação de possíveis estratégias fisiológicas usadas por plântulas de *E. velutina* para lidar com as adversidades presentes em seu habitat. Além disso, pretende-se compreender como a dinâmica dos NCS nos diferentes órgãos das plântulas fundamentam estas estratégias durante os ciclos de iluminação e escuridão.

**Palavras-chave:** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> subestomático, Condutância estomática, Mulungu, Transpiração foliar.

## REFERÊNCIAS

- ARANDA, I.; GIL, L.; PARDOS, J. A. Water relations and gas exchange in *Fagus sylvatica* L. and *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl. in a mixed stand at their southern limit of distribution in Europe. **Trees**, [s.l.], v. 14, n. 6, p.344-352, 2000.
- BARON, D. et al. Leaf gas exchanges responses of atemoya scion grafted onto Annona rootstocks. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, [s.l.], v. 30, n. 3, p.203-213, 2018.
- DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. An integrative approach to photoinhibition and photoprotection of photosynthesis. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 154, p.1-3, 2018.
- DUSENGE, M. E.; DUARTE, A. G.; WAY, D. A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO<sub>2</sub> and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. **New Phytologist**, [s.l.], v. 221, n. 1, p.32-49, 2018.
- FERREIRA, R. L. C. et al. Richness and diversity of Caatinga areas in different successional stages in north eastern Brazil. **Scientia Forestalis**, Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais (IPEF). Piracicaba, v. 44, n. 112, p. 799-810, 2016.

- GOMMERS, C. M. M.; MONTE, E. Seedling Establishment: A Dimmer Switch-Regulated Process between Dark and Light Signaling. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 176, n. 2, p.1061-1074, 2017.
- HABERMANN, G. et al. Leaf heliotropism in *Styrax camporum* Pohl from the Brazilian cerrado: distinct gas exchange and leaf structure, but similar leaf temperature and water relations. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 20, n. 1, p.71-83, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. Série Manuais Técnicos em Geociências 1, 2ª edição revista e ampliada, 2012.
- KOYAMA, K.; TAKEMOTO, S. Morning reduction of photosynthetic capacity before midday depression. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-6, 2014.
- MAIA, J. M. et al. Motivações socioeconômicas para a conservação e exploração sustentável do bioma Caatinga. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, [s.l.], v. 41, p.295-310, 2017.
- MARTÍNEZ-VILALTA, J. et al. Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: A global synthesis. **Ecological Monographs**, [s.l.], v. 86, n. 4, p.495-516, nov. 2016.
- NÓIA JÚNIOR, R. S. et al. Characterization of photosynthesis and transpiration in two rubber tree clones exposed to thermal stress. **Brazilian Journal of Botany**, [s.l.], v. 41, n. 4, p.785-794, 2018.
- PEREIRA, A. M. S. et al. Seed Germination and Production of *Erythrina mulungu* and *Erythrina velutina* Plantlets. **American Journal of Plant Sciences**, [s.l.], v. 05, n. 05, p.535-540, 2014.
- SANTOS, L. M. J.; SILVA, E. C.; SILVA JUNIOR, C. D. Análise preliminar das trocas gasosas, fluorescência de clorofila e potencial hídrico caulinar do juazeiro em uma região semi-árida de Sergipe, Brasil. **Scientia Plena**, v. 10, n. 2, p.1-10, 2014b.
- SANTOS, M. G. et al. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate changes? **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.83-99, 2014a.
- SANTOS, M. G. et al. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate changes? **Theoretical And Experimental Plant Physiology**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.83-99, 2014c.
- SILVA, K. B. et al. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas de *Erythrina velutina* Willd., leguminosaeae - Papilionideae. **Revista Brasileira de Sementes**, [s.l.], v. 30, n. 3, p.104-114, 2008.
- SORIANO, D. et al. Effects of burial and storage on germination and seed reserves of 18 tree species in a tropical deciduous forest in Mexico. **O ecologia**, v. 174, p. 33-44, 2013.
- SOUZA, B. I.; MENEZES, R.; ARTIGAS, R. C. Efeitos da desertificação na composição de espécies do bioma Caatinga, Paraíba/Brasil. **Investigaciones Geográficas**, Boletín, n. 88, Instituto de Geografía, UNAM, México, p 45-59, 2015.
- STANTURF, J. A.; PALIK, B. J.; DUMROESE, R. K. Contemporary forest restoration: A review emphasizing function. **Forest Ecology and Management**, [s.l.], v. 331, p.292-323, 2014.
- TENHUNEN, J. D. et al. Changes in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and CO<sub>2</sub> compensation point associated with midday stomatal closure and midday depression of net CO<sub>2</sub> exchange of leaves of *Quercus suber*. **Planta**, [s.l.], v. 162, n. 3, p.193-203, 1984.
- VILLAR-SALVADOR, P.; USCOLA, M.; JACOBS, D. F. The role of stored carbohydrates and nitrogen in the growth and stress tolerance of planted forest trees. **New Forests**, [s.l.], v. 46, n. 5-6, p.813-839, 2 jul. 2015.
- WINGLER, A. Transitioning to the next phase: The role of sugar signaling throughout the plant life cycle. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 176, n. 2, p.1075-1084, 28 feb. 2018.