



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

**MECANISMOS BIOQUÍMICOS, FISIOLÓGICOS E CRESCIMENTO EM PLANTAS  
DE *Dipteryx odorata* (aubl.) willd (Fabaceae) EM DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS**

**BRUNO MOITINHO MALTAROLO**

**Belém-PA**

**2016**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

**BRUNO MOITINHO MALTAROLO**

**MECANISMOS BIOQUÍMICOS, FISIOLÓGICOS E CRESCIMENTO EM PLANTAS  
DE *Dipteryx odorata* (aubl.) willd (Fabaceae) EM DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Ciências Florestais, para obtenção do título de **Mestre**.

**ORIENTADOR:** Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto  
**CO-ORIENTADOR:** Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa

**Belém-PA**

**2016**

---

Maltarolo, Bruno Moitinho

Mecanismos bioquímicos, fisiológicos e crescimento em plantas de *Dipteryx odorata* (aubl.) willd (fabaceae) em duas condições hídricas. / Bruno Moitinho Maltarolo. - Belém, 2016.

56 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2016.

Orientador: Cândido Ferreira de Oliveira Neto

1. Espécie florestal - déficit hídrico 2. Cumaru - respostas bioquímicas 3. Cumaru – aspectos fisiológicos I. Oliveira Neto, Cândido Ferreira de Oliveira Neto, (Orient.) II. Título

CDD – 581.420724

---



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

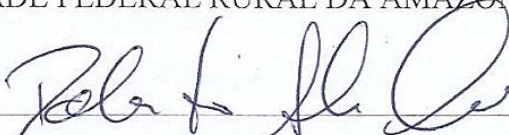
**BRUNO MOITINHO MALTAROLO**

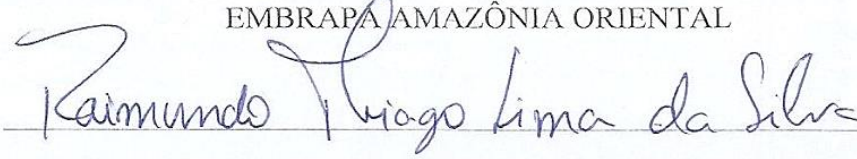
Dissertação apresentada a Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Ciências Florestais, para obtenção do título de Mestre.

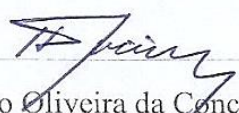
**Aprovado em 25 janeiro de 2016**

**BANCA EXAMINADORA**

  
Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

  
Dr. Roberto Lisboa Cunha - 1º Examinador  
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

  
Dr. Raimundo Thiago Lima da Silva - 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA/CAPITÃO POÇO

  
Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição - 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA/CAPITÃO POÇO

## Dedico

As pessoas mais importantes da minha vida:

**Ana**, minha mãe, por todo carinho e força dada ao longo de toda minha vida.

**Claudio Maltarolo**, meu pai, o mais esforçado de todos os pais.

Aos meus irmãos e aos meus Avós **Ezidio** e **Zula** pelo incentivo direto ou indireto.

**Ellen lima**, meu amor, por todo apoio, companheirismo, ajuda e carinho.

Oferço

A Deus.

## **Agradecimentos**

A Deus que me abençoa todos os dias e me dá forças para seguir em frente e vencer todos os obstáculos.

À todos os pessoas da minha família, meus queridos pais, avós, irmãos(ãs), tios(as), primos(as), que me apoiam em todos os meus projetos e sempre estiveram ao meu lado.

À Ellen Lima por ser minha companheira e amiga em todos os momentos.

À Universidade Federal Rural da Amazônia pela oportunidade de realizar este curso de pós graduação de mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro;

Ao meu Orientador Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Co-orientador Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa pela oportunidade, orientação, paciência e tempo dedicado a este Trabalho;

À banca de defesa Dr. Roberto Lisboa Cunha, Prof. Dr. Raimundo Thiago Lima da Silva, Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição pelas contribuições de grande ajuda para este Trabalho;

À todos integrantes do EBPS que deram apoio na implantação do experimento, coletas, análises e nas demais necessidades: Ellen, Vitor, Kerolém, Karol, Tamires, Wander, Ana Ecidia, Glauco, Thais e Dielle. Especialmente os integrantes Vitor, Kerolém e Ellen que mais contribuíram neste meu trabalho.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	7
<b>ABSTRACT</b> .....	8
<b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	9
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	15
<b>CAPITULO 1</b> .....	18
CRESCIMENTO E PROCESSOS ECOFISIOLÓGICOS EM MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (AUBL.) WILLD.) SUBMETIDAS A DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS. ....	18
RESUMO .....	18
INTRODUÇÃO .....	20
MATERIAL E MÉTODOS .....	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
CONCLUSÃO .....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
<b>CAPITULO 2</b> .....	30
PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS, METABOLISMO DO NITROGENIO E ATIVIDADES DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE CUMARU ( <i>Dipteryx Odorata</i> (AUBL.) WILLD) (FABACEAE) EM DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS. ....	30
RESUMO .....	30
INTRODUÇÃO .....	32
MATERIAL E MÉTODOS .....	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
CONCLUSÃO .....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50

## Lista de Figuras

### Capítulo 1

**Figura 1:** Teor relativo de água em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. ....24

**Figura 2:** Biomassa da raiz (A), caule (B), folha (C) e total (D) em plantas jovens de cumaru submetidas ao déficit hídrico. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. ....25

**Figura 3:** Altura da planta (A) e diâmetro (B) do caule em plantas jovens de cumaru submetidas ao déficit hídrico. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. ....26

**Figura 4:** Transpiração (A) e resistência estomática (B) em plantas jovens de cumaru submetidas ao déficit hídrico. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. ....27

### Capítulo 2

**Figura 1:** Teor relativo de água em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. ....39

**Figura 2:** Teor de clorofila A (A), clorofila B (B) e clorofila total (C) em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ....41

**Figura 3:** Teores de amônio (A), nitrato (B) e prolina (C) em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ....43

**Figura 4:** Vazamento de eletrólitos em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. ....45

**Figura 5:** Atividade da enzima superóxido dismutase em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ....46



**Figura 6:** Atividade da enzima catalase em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ....47

**Figura 7:** Atividade da enzima peroxidase em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ....48

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e os mecanismos ecofisiológicos e bioquímicos de tolerância ao estresse por deficiência hídrica, principalmente no que concerne à assimilação de carbono e nitrogênio, concentrações de compostos orgânicos, e enzimas envolvidas nesse processo. O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), localizado em Belém- Pará, no período de março de 2015 a julho de 2015. Foram utilizadas mudas de espécie *Dipteryx odorata* Aubl (Cumaru). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (quatro tempos de avaliação e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. A imposição do déficit hídrico foi obtido pela suspensão da irrigação nos tempos 0 (zero dias de déficit hídrico), o tempo 1 (7 dias de déficit hídrico), o tempo 2 (14 dias de déficit hídrico) e o tempo 3 (21 dias de déficit hídrico). Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa às médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa ASSISTAT Versão 7.7 beta. O conteúdo relativo de água reduziram drasticamente conforme foi aumentando o tempo de estresse nas plantas. Os dados de transpiração apresentaram diminuição e aumento da resistência estomática nas plantas mantidas sem irrigação, com o aumento do tempo de estresse hídrico, apresentando reduções mais pronunciadas no 14º e no 21º dia de estresse hídrico. As massas secas da folha, total e o diâmetro apresentaram diferença significativamente entre os tratamentos entretanto a biomassa da raiz, caule e altura não teve diferenças significativas estatisticamente. Os resultados mostraram que não houve um decréscimo significativo para clorofila A, amônio e nitrato, entretanto, teve para clorofila B, clorofila total e prolina para as plantas sob deficiência hídrica. Ocorreu incremento no vazamento de eletrólitos com 22,74 % para as raízes e 39,55% para folhas. As enzimas SOD, CAT apresentaram incremento significativo a parti do 14º dias de experimento, e APX no 7 dia de experimento. O Cumaru perde água excessivamente sob deficiência e isso prejudicou o seu crescimento e seu metabolismo fazendo com que a planta buscasse alterações para manter processos vitais pra isso o cumaru aumentou o composto prolina, fechou os estômatos, diminuiu a transpiração. O Cumaru apresentou resposta ao aumento de espécies reativas de oxigênio elevando as enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX.

**Palavras-chave:** Espécie florestal, déficit hídrico, respostas bioquímicas, aspectos fisiológico.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the growth and ecophysiological and biochemical mechanisms of tolerance to water stress, especially with regard to the assimilation of carbon and nitrogen concentrations of organic compounds and enzymes involved in this process. The experiment was conducted in a greenhouse at the Universidade Federal Rural da Amazonia (UFRA) located in Belém-Para, from March 2015 to July 2015. Species seedlings were used *Dipteryx odorata* Aubl (Cumaru). The experimental design was completely randomized in split plot in time (four times evaluation and two water conditions: control and drought stress), with 5 repetitions, totaling 40 experimental units, where each experimental unit was composed of a plant / pot. The imposition of water deficit was obtained by withholding water at 0 (zero days of water deficit), time 1 (7 days of water deficit), time 2 (14 days of drought) and time 3 (21 days water deficit). It was applied to analysis of variance in the results and when there was a significant difference to the averages were compared by Tukey test at 5% significance level, and statistical analyzes performed by ASSISTAT Version 7.7 beta program. The relative water content was reduced dramatically as increasing the time of stress in plants. The transpiration data showed decreased and increased stomatal resistance in plants grown without irrigation, with the increase of water stress time, with more pronounced reductions in the 14th and 21st day of water stress. Dried pasta sheet total and the diameter presented significant difference between treatments but the biomass of root, stem and height had no statistically significant differences. The results showed that there was a significant decrease to chlorophyll A, and ammonium nitrate, however, had to chlorophyll B, chlorophyll and proline to the plants under water stress. There was an increase in electrolyte leakage with 22.74% for roots and 39.55% for leaves. The SOD, CAT showed a significant increase in the left of the 14th day of the experiment, and APX in the 7 day experiment. The Cumaru loses water excessively under disability and that impaired their growth and metabolism causing the plant sought changes to maintain vital processes for that the tonka bean increased the proline compound, closed stomata, decreased sweating. The Cumaru presented response to increased reactive oxygen species by raising the antioxidant enzymes SOD, CAT and APX.

**Key words:** forest species, water stress, biochemical responses, physiological aspects

## CONTEXTUALIZAÇÃO

O Cumaru é uma árvore comum na Amazônia brasileira importante por possuir madeira nobre. Sua madeira é apreciada em usos que demandam resistência mecânica às intempéries e à deterioração por ataque de cupins e fungos xilófagos (FREITAS et al., 2014). As sementes dessa espécie contém o óleo essencial chamado cumarina e a exploração desse óleo pela indústria química tem potencial para viabilizar extrativismo não madeireiro (LORENZI, 2002). Neste cenário de potencial econômico e social dessa espécie amazônica, há necessidade de desenvolver tecnologias para restabelecer a presença de cumaru em áreas onde houve desflorestamento e enriquecimento à diversidade em espaços onde ela não está mais presente em função da exploração madeireira predatória. No estabelecimento ou recuperação de áreas florestais, a formação de mudas vigorosas e de boa qualidade condiciona grande parte do sucesso do plantio definitivo (HERNANDEZ et al., 2013).

Atualmente tem-se observado uma crescente conscientização ambiental, seguida de um aumento do interesse em pesquisas com espécies arbóreas nativas, objetivando a recuperação de áreas degradadas e/ou reflorestamento (NASCIMENTO et al., 2011). Entretanto, o custo de tais pesquisas torna-se elevado diante da necessidade de replantio decorrente dos altos índices de mortalidade das mudas. Em alguns casos, isso ocorre devido à falta de conhecimento dos seus aspectos ecofisiológicos, sujeitando-as a áreas propensas a estresses ambientais aos quais não estão adaptadas (CARVALHO FILHO et al., 2003).

Em ecossistemas florestais tropicais, diversos fatores afetam o estabelecimento, desenvolvimento e a sobrevivência de plântulas. Dentre estes fatores estão a produção e dispersão de sementes, disponibilidade de água e luz e a temperatura, que varia entre comunidades de um mesmo ecossistema e entre ecossistemas distintos, além da presença de animais herbívoros que são capazes de controlar algumas populações de plantas, reduzindo suas taxas de crescimento e reprodução, sendo esses considerados eventos cruciais para o crescimento e/ou manutenção das populações (TURCHETTO et al., 2015). Dessa forma, a importância relativa desses fatores com evidências para disponibilidade hídrica podem mostrar diferenças significativas nos padrões de perturbações naturais a que cada ambiente está submetido (MELO et al., 2004). Todavia, independente das relações filogenéticas e ecossistêmicas que ocorram, as espécies tendem a apresentar resposta adaptativa similar para determinado fator de perturbação.

O desenvolvimento e produtividade das plantas são diretamente afetados pela absorção de nutrientes e pela taxa de evapotranspiração, que são influenciadas pelo balanço hídrico do solo

que por sua vez é controlado pelas condições térmicas e distribuição espaço-temporal da precipitação (SOUZA, et al., 2006).

O estresse causa desvio significativo das condições ótimas para a vida, e induz a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanente (LARCHER, 2000).

Dentre os estresses aos quais as plantas estão expostas, a seca é um dos mais importantes, sendo considerado um problema global e que causa perdas econômicas significativas à agricultura (RUFINO et al., 2012).

A deficiência hídrica no solo limita intensamente o crescimento e o desenvolvimento das espécies vegetais em várias regiões do mundo incluindo as regiões norte e nordeste do Brasil, onde a distribuição dos recursos hídricos é irregular, essa limitação pode tornar necessário o uso da irrigação regularmente, uma prática dispendiosa e inacessível aos reflorestadores. Uma estratégia utilizada é o desenvolvimento de variedades vegetais tolerantes a seca através do melhoramento genético. Entretanto, qualquer que seja a opção, torna-se necessário conhecer os mecanismos fisiológicos e bioquímicos de resposta da espécie a esse tipo de estresse. O crescimento celular se mostra como a resposta mais sensível a falta de água no solo. Uma pequena redução no potencial hídrico do solo provoca diminuição no crescimento das células (SALISBURY; ROSS, 2012). O termo estresse hídrico geralmente é definido como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta, este conceito está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Segundo Carvalho e Nepstad (1997), existem regiões na Amazônia, como o Sudeste do Pará, em que ocorrem períodos de déficit hídrico severos, com períodos de mais de 4 meses apresentando pluviosidade inferior a 40mm. O clima da Amazônia é úmido, e quente quase o ano inteiro, com temperatura média de 25°C, pouco flutuante ao longo das estações (NEIMAN, 2012). De acordo com Jipp et al., (1998), florestas situadas no nordeste, sul e sudeste do estado do Pará, suportam em média 5 meses de precipitação abaixo de 50mm, fazendo frente as perdas médias de 120mm de evapotranspiração, devido ao fato de possuírem sistemas radiculares profundos, que asseguram a absorção de água das camadas inferiores do solo.

Vose e Swank (1994) e Stape (2002) destacam que em espécies florestais, o déficit hídrico pode acarretar a baixa produtividade de madeira. A relação entre a disponibilidade hídrica e a produtividade florestal pode estar diretamente ligada com a diminuição da taxa fotossintética,

pois, a deficiência de água aumenta a resistência estomática e isso faz com que diminua a produção de biomassa.

De acordo com Nascimento et al. (2011) as espécies arbóreas brasileiras têm despertado o interesse de vários pesquisadores em demonstrar comportamentos adaptativos que potencializam sua utilização em áreas que não apresentam condições favoráveis para outras espécies, sendo de grande importância silvicultural e econômica. Apesar do potencial silvicultural da espécie *Dipteryx odorata*, a ampliação do seu uso depende da obtenção de conhecimentos sobre suas preferências ambientais, embora tenha bom desenvolvimento nas regiões de origem, pode apresentar resultados satisfatórios em outras regiões.

Segundo O'Neill et al. (2006), técnicas que avaliem efeitos morfológicos e fisiológicos indiretos e rápidos podem ser bem efetivos para diferenciar genótipos tolerantes e susceptíveis à deficiência hídrica. Identificar ferramentas adequadas de seleção e características quantificáveis podem facilitar o processo de melhoramento da cultura para tolerância à escassez de água.

Segundo ROMER et al., (2012) entender a base dos mecanismos de tolerância à seca é bastante complexa, pois resulta da associação de diversas características nas plantas. A adaptação das plantas ao estresse hídrico depende da intensidade e duração do estímulo, as alterações vão desde uma rápida mudança no fluxo de íons para aumentar a pressão osmótica, a redução das trocas gasosas, estabilização das estruturas celulares por protetores osmóticos, até mudanças mais drásticas no padrão de crescimento das plantas (ALVES, 2007).

O estresse hídrico pode afetar várias características morfológicas e fisiológicas das plantas, a fotossíntese sendo um dos processos mais limitada pelo aumento da seca. O processo fotossintético pode ser separado em três etapas: a difusora controlada principalmente pela abertura e fechamento dos estômatos; fotoquímica, que tem uma função primária para absorver a radiação incidente, a formação de ATP e poder redutor; e bioquímica, responsável pelo sequestro de carbono (KREUZWIESER et al., 2010).

Desta forma, o estresse por deficiência hídrica é produzido tanto pela limitação de água no solo, quanto por perda excessiva pela transpiração, em relação à absorção feita pelas raízes, sendo estes processos influenciados por fatores ambientais e por características da própria planta (Sant'anna, 2009). Pesquisas sobre déficit hídrico, em diferentes espécies vegetais, têm sido realizadas por décadas, a fim de se entender os mecanismos de tolerância (SILVA et al., 2003; LIBERATO et al., 2006; LECHNER et al., 2008).

Segundo Martins e outros (2010), todos os processos de crescimento e desenvolvimento da planta podem ser afetados pela deficiência hídrica no tecido, que acarreta na desidratação do protoplasto, diminuição do volume celular e aumento da concentração de solutos.

A deficiência hídrica do solo, pode ainda, elevar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e, quando o equilíbrio da sua formação e detoxificação não pode ser mantido, a ocorrência do estresse oxidativo pode interferir na manutenção da homeostase celular, por lesionar seriamente vários componentes celulares, como, os lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (SMIRNOFF, 2000). Em meio as principais EROs que causam danos celulares, destacam-se o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o  $O_2$  singlete ( $^1O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) (APEL; HIRT, 2004; NEILL et al., 2002). Para sobreviver às condições de estresse a que frequentemente são impostas pelo ambiente, as plantas desenvolveram sistemas de remoção das EROs, realizado por meio do sistema antioxidante enzimático, destacando-se superóxido dismutase (SOD), a ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT), e não enzimático, principalmente pelo ciclo ascorbatoglutationa (APEL; HIRT, 2004). A SOD é considerada peça chave neste processo, pois tem como função não só a conversão do radical  $O_2^{\cdot-}$ , mas também a capacidade de controlar outras EROs, sendo encontrada principalmente nas mitocôndrias e cloroplastos (MAIA et al., 2012). A alteração dos mecanismos antioxidantes está correlacionada com a capacidade de defesa a diferentes estresses. Em condições de déficit hídrico, também foram registradas importantes alterações nas trocas gasosas e atividade antioxidante de plantas de *Prunus* (MESSCHMIDT et al., 2015) e *Coffea arabica* (DEUNER et al., 2011).

A variação na atividade das enzimas antioxidantes faz parte das respostas das plantas ao estresse biótico e abiótico, estando envolvidas nos processos que permitem aumentar a sobrevivência durante o crescimento inicial, frente às mudanças ambientais (DELIAS, 2013).

A deficiência hídrica também pode fazer interferência nos pigmentos fotossintetizantes, os quais fornecem dados importantes para estimar de uma forma não-invasiva a eficiência quântica e o rendimento do fotossistema II, relacionando-os à assimilação de carbono (Genty et al. 1989). Parâmetros que podem ser utilizados como indicadores para avaliar o equilíbrio energético ou metabólico da fotossíntese entre cultivares e genótipos sob deficiência hídrica (Mishra et al. 2012).

De modo geral, as plantas submetidas à deficiência hídrica recorrem a algumas estratégias que auxiliam na tolerância à seca, tais como perda das folhas e diminuição da área foliar, reduzindo a transpiração; perda das raízes superficiais e proliferação das profundas; ajustamento osmótico

para manutenção do turgor celular, formação de ceras sobre a superfície foliar, presença de tricomas para reflexão da luz e alterações na dissipação de energia das folhas (TAIZ; ZEIGER, 2013).



## **HIPÓTESES**

1. O tempo de exposição aos níveis de regime hídrico influenciam o desempenho fisiológico e bioquímicos de mudas de *Dipteryx odorata*.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Determinar e analisar mecanismos ecofisiológicos, bioquímicos, biometria e produção de biomassa em plantas de cumaru sob deficiência hídrica, principalmente no que concerne à assimilação de nitrogênio, concentrações de compostos orgânicos, e enzimas envolvidas nesse processo.

### **Objetivos específicos**

Determinar o acúmulo de biomassa total em espécies florestais em resposta aos tempos de exposição aos níveis de regime hídrico;

Avaliar a biometria em resposta aos tempos de exposição aos níveis de regime hídrico;

Determinar o metabolismo do carbono e nitrogênio em função da exposição aos níveis de regime hídrico;

Avaliar a atividade das enzimas do estresse oxidativo em função exposição aos níveis de regime hídrico.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, F. M., Research Center Available at (2007) <http://www.biologia.ufrj.br/~lgmv/MAF/mtehp.html>> laboratório de genética molecular vegetal. Acessado em: 9 de outubro de 2015.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, Oxford, 55, pp. 373– 399. 2004.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. *Cerne*, v.9, n.1, p.109-118, 2003.
- CARVALHO, C. J. R.; NEPSTAD, D. C. Amazonian forests at the edge: canopy phenology, water use and flammability of seasonally-dry forests. VI congresso brasileiro de fisiologia vegetal. Belém- Pará: Sociedade brasileira de fisiologia vegetal. 71-85p. 1997.
- DELIAS, D.S. Características biométricas, trocas gasosas e atividade do sistema antioxidante de plantas de Eucalipto durante o crescimento inicial. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 73 pp. 2013.
- DEUNER, S.; J.D. ALVES, I. ZANANDREA, A.A. LIMA; P.F. P. GOULART, N.M. SILVEIRA; HENRIQUE, P.C.; MESQUITA, A.C. Stomatal behavior and components of the antioxidative system in coffee plants under water stress. *Scientia Agricola* 55 (1), pp.77-85. 2011.
- FREITAS, A. F. de; SOUZA, L. A. G. de; CARDOSO, I. M.; PAIVA, H. N. de Fino de carvão vegetal em substrato para produção de mudas de *Dipteryx odorata*. *Revista Brasileira de Agroecologia*. 9(3): 31-40. 2014.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87-92, 1989.
- HERNANDEZ, W. et al. Propagação vegetativa do Jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis* (Raddi) KUNTZE) por estaquia. *Revista Árvore*, Viçosa, v.37, n.5, p.955-967, 2013.
- JIPP, P. H.; NEPSTAD, D. C.; CASSEL, D. K.; CARVALHO, C. J. R. Deep soil moisture storage and transpiration in forests and pastures of seasonally-dry Amazonia. *Climate change* 39: 395-412, 1998.
- KREUZWIESER, J.; GESSLER, A. Global climate change and tree nutrition: influence of water availability. *Tree physiology*, Oxford. 30:1221-34. 2010.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RIMA, 2000. 531 p.
- LECHNER, L.; PEREYRA-IRUJO, G. A.; GRANIER, C.; AGUIRREZÁBAL, L. A. N. Rewatering plants after a long water deficit treatment reveals that leaf epidermal cells retain

their ability to expand after the leaf has apparently reached its final size. *Annals of Botany*, Oxford, v. 101, p. 1007-1015, 2008.

LIBERATO, M. A. R.; GONÇALVES, J. F. C.; CHEVREUIL, L. R.; NINA JUNIOR, A. R.; FERNANDES, A. V.; SANTOS JUNIOR, U. M. Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Londrina, v. 18, n. 2, p. 315-323, 2006.

LORENZI, H. Árvores brasileiras. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 381p.

MAIA, J.M.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VOIGT, E.L.; MACÊDO, C.E.C.; PONTE, L.F.A.; SILVEIRA, J.A.G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. *Acta Botanica Brasilica* 26(2): 342- 349. 2012.

MARTINS, M. O.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; NETO, A. D. A.; SANTOS, M. G. Crescimento de plantas jovens de nim-indiano (*Azadirachta indica* A. Juss. – Meliaceae) sob diferentes regimes hídricos. *Revista Árvore*, v. 34, n. 5, p. 771-779, 2010.

MELO, F. P. L. et al. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A. G. *Germinação: do básico ao aplicado*, Porto Alegre, 2004, p. 237-250.

MESSCHMIDT, A.A.; BIANCHI, V.J.; ZANANDREA, I.; MARTINAZZO, E.G.; RADMANN, E.B.; BACARIN, M. A. Trocas gasosas e atividade antioxidante de porta enxertos de *Prunus* spp. submetidos ao estresse seca e alagamento. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, Vol 114 (1): 71-81. 2015.

MISHRA, K.B.; IANNACONE, R.; PETROZZA, A.; MISHRA, A., ARMENTANO N, LA VECCHIA G, TRTÍLEK M, CELLINI F & NEDBAL L. (2012). Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. *Plant Science* 182: 79-86.

NASCIMENTO, H. H. C. do; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C. da; SILVA, M. A. da. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*hymenaea courbaril* l.) em diferentes níveis de água no solo *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.35, n.3, Edição Especial, p.617-626, 2011

NEILL, S.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 5, pp. 388-395. 2002.

NEIMAN, Z. Era verde?; ecossistemas ameaçados. São Paulo. Ed. Atual. 23ª edição. 103p. 2012.

O'NEILL, P. M.; SHANAHAN, J. F.; SCHEPERS, J. S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. *Crop Science*, Madison, v. 46, p. 681-687, 2006.

ROMER, C.; WAHABZADA, M.; BALLVORA, A.; PINTO, F.; ROSSINI, M.; PANIGADA, C.; BEHMANN, J.; LÉON, J.; THURAU, C.; BAUCKHAGE, C.; KERSTING, K.; RASCHER, U.; LUTZ, P. Early drought stress detection in cereals: simplex volume maximisation for hyperspectral image analysis. *Functional Plant Biology*, v. 39, n. 11, p. 878-890, 2012.

RUFINO C. A. TAVARES, L. C.; VIEIRA, J. F.; DÖRR, C. S.; VILLELA, F. A.; BARROS, A. C. S. A. Desempenho de genótipos de milho submetidos ao déficit hídrico no estádio vegetativo. *Magistra*, v. 24, n. 3, p. 217-225, 2012.

SALISBURY, F. B; ROSS, C. W. *Fisiologia das plantas*. Cengage learning. 4.ed, São Paulo. 774p. 2012.

SANT'ANNA, H. L. S. Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidas à deficiência hídrica progressiva. 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA.

SILVA, E. C.; Nogueira, R. J. M. C.; AZEVEDO NETO, A. D.; SANTOS, V. F. Comportamento estomático e potencial da água da folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. *Acta Botanica Brasilica*, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 231-246, 2003.

SMIRNOFF, N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-facetted molecule. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 229-235. 2000.

SOUZA, M.J.H.; RIBEIRO, A.; LEITE, H.G.; LEITE, F.P.; MINUZZI, R.B. Relação entre disponibilidade hídrica e produtividade do eucalipto em diferentes idades, em Guanhães, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 629 - 638, 2006.

STAPE, J.L. Production ecology of clonal Eucalyptus plantations in northerastern Brazil. 2002. 225 p. Thesis (Ph.D. in Forest Sciences) - Colorado State University, Fort Collins. 2002.

TAIZ, L; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 5. ed. São Paulo, Artmed, 2013. 954 p.

TURCHETTO; L. A. T.; RORATO D. G.; GOMES, D. R. Aspectos ecofisiológicos limitantes da regeneração natural. *Felipe. Ecologia e Nutrição Florestal*, Santa Maria-RS, v.3, n.1, p.18-30, jan./abr., 2015.

VOSE, J.M.; SWANK, W.T. Effects of long-term drought on the hydrology and growth of a white pine plantation in the southern appalachians. *Forest Ecology and Management*, Amsterdã, v. 64, n. 1, p. 25-39, 1994.

## CAPITULO 1

### CRESCIMENTO E PROCESSOS ECOFISIOLÓGICOS EM MUDAS DE *Dipteryx odorata* (AUBL.) WILLD.) SUBMETIDAS A DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS.

#### RESUMO

Cumarú (*Dipteryx odorata*) é uma árvore originalmente da Amazônia. O objetivo foi analisar os parâmetros de trocas gasosas, o conteúdo relativo de água, crescimento e produção da biomassa nas folhas e nas raízes das plantas de Cumarú (*Dipteryx odorata*) submetidas a deficiência hídrica. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de ciências agrárias (ICA), Belém- Pará, no período de março de 2015 a julho de 2015. Foram utilizadas mudas de espécie *Dipteryx odorata* Aubl (Cumarú). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (quatro tempos de avaliação e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais. Foi aplicada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, as análises estatísticas foram realizadas pelo programa Assistat versão 7.7 beta. Os resultados mostraram que as plantas de Cumarú apresentaram respostas significativas para algumas variáveis ao nível de 5% do teste de Tukey. O TRA diminuiu significativamente a partir do 7º dia de tratamento. A altura, a biomassa caulinar e radicular não apresentaram diferenças significativas. A deficiência hídrica provocou redução do crescimento em diâmetro, biomassa foliar, transpiração e aumento da resistência estomática. O cumarú não foi eficiente em reter água no sistema por apresentar queda acentuada no teor relativo de água. O mecanismo de fechamento estomático garantiu a diminuição da transpiração para a planta perde menos água, entretendo esse mecanismo afetou também o crescimento da planta.

**Palavra-chave:** Biomassas, trocas gasosas, casa de vegetação, parcela subdividida no tempo.

## ABSTRACT

Cumaru (*Dipteryx odorata*) is originally from the Amazon tree. The aim was to analyze the parameters of gas exchange, relative water content, growth and biomass production in leaves and roots of plants Cumaru (*Dipteryx odorata*) submitted to water deficit. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia (UFRA) belonging to the Institute of Agricultural Sciences (ICA), Belem-Para, from March 2015 to July 2015. species seedlings were used *Dipteryx odorata* Aubl (Cumaru). The experimental design was completely randomized in split plot in time (four times evaluation and two water conditions: control and drought stress), with 5 repetitions, totaling 40 experimental units. Analysis of variance was applied and the means were compared by Tukey test at 5% significance level. the standard deviations were calculated for each treatment, statistical analyzes were performed by Assistat program version 7.7 beta. The results showed that the plant Cumaru showed significant responses to some variables at 5% Tukey test. The TRA significantly decreases after the 7th day of treatment. The height of the stem and root biomass showed no significant differences. Water stress caused a reduction of the diameter growth, foliar biomass, sweating and increased stomatal resistance. The tonka bean was not effective in retaining water in the system by presenting sharp drop in relative water content. The stomatal closure mechanism secured decreased transpiration in the plant loses less water, entertaining this mechanism also affect plant growth.

**Keyword:** Biomass, gas exchange, greenhouse, split plot in time.

## INTRODUÇÃO

Cumaru (*Dipteryx odorata*) é uma árvore originalmente da Amazônia, sua madeira é apreciada em usos que demandam resistência mecânica às intempéries e à deterioração por ataque de cupins e fungos xilófagos. As sementes dessa espécie contém o óleo essencial chamado cumarina e a exploração desse óleo pela indústria química tem potencial para viabilizar extrativismo não madeireiro (LORENZI, 2002). O cumaru é uma espécie de grande dispersão em toda a Amazônia, sendo comum nos levantamentos florísticos dessa região (EMBRAPA, 2012), e encontrado em locais com deficiência hídrica pequena a moderada no Amazonas, no Acre, no Pará, em Rondônia e no norte de Mato Grosso (CARVALHO, 2009).

Há uma grande preocupação com as atuais previsões que sinalizam o aquecimento global e aumento dos períodos de seca em inúmeras regiões do planeta (CARMO et al., 2014). E com isso, a medida que os recursos hídricos tornam-se escassos, a exploração comercial de plantas tolerantes a seca passa a ser prioridade para obtenção de altas produtividades (MATOS et al., 2014). Fazendo-se necessário a escolha de espécies com genótipos tolerantes a deficiência hídrica, assegurando a renda aos produtores rurais de ambientes com escassez de água ou períodos de estiagem. Nesse sentido, o entendimento das respostas das plantas ao deficiência hídrica é de fundamental importância para o conhecimento da variação do consumo de água da cultura em suas diferentes fases de desenvolvimento, podendo-se interferir sobre os aspectos fisiológicos envolvidos no processo, assim como sobre suas consequências (PEIXOTO et al., 2006).

Os estudos relacionados à condição de estresse têm importância para a ecofisiologia e constituem-se em ferramentas que possibilitam a avaliação dos limites de tolerância e sobrevivência, bem como, a adaptação destas espécies às condições de estresses naturais (GUEDES et al., 2013). O déficit hídrico é um dos principais fatores limitantes do desenvolvimento e crescimento das plantas, apenas as espécies com mecanismos de resistência à seca podem prosperar em ambientes com limitação de água (GONZÁLES et al., 2012).

Períodos de seca podem incrementar o desenvolvimento das raízes e acumular fotoassimilados nelas, o que aumenta a absorção de água de camada do solo que tem água disponível (CALVACHE et al., 1997). O crescimento celular se mostra como a resposta mais sensível a falta de água no solo, uma pequena redução no potencial hídrico do solo provoca diminuição no crescimento das células (SALISBURY; ROSS, 2012). A redução ou a interrupção completa do crescimento é considerada a primeira e a mais séria consequência fisiológica da deficiência hídrica para as plantas, uma vez que compromete o alongamento celular (LARCHER, 2006).

Para Larcher (2000) esse fato é uma paralisação no crescimento vegetativo, ocorrendo direcionamento dos fotoassimilados produzidos para os órgãos reprodutivos.

Dessa forma torna-se fundamental o estudo ecofisiológico dessa espécie em sua fase inicial de crescimento, principalmente por auxiliar no estabelecimento de parâmetros fisiológicos indicativos de tolerância a estresses abióticos. Parâmetros esses que, se bem empregados e manejados, podem melhorar a produção e estabelecimento de novas mudas, além de facilitar na seleção de material genético mais resistente as condições edafoclimáticas desejadas (NOGUEIRA; SILVA, 2002).

Os parâmetros de trocas gasosas, crescimento e biomassa, podem ajudar no entendimento dos processos fisiológicos do cumaru em condições de deficiência hídrica. O objetivo desse trabalho foi analisar os parâmetros de trocas gasosas, o conteúdo relativo de água, crescimento e produção da biomassa nas folhas e nas raízes das plantas de cumaru (*Dipteryx odorata*) submetidas a deficiência hídrica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e condução experimental**

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de ciências agrárias (ICA), localizado em Belém-Pará, no período de março a julho de 2015. As mudas de cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.), provenientes de sementes foram fornecidas pela AIMEX (Associação das Indústrias Exportadoras de Madeira do Estado do Pará) com quatro meses de idade, foram acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 3,6 L. O substrato usado foi constituído por latossolo amarelo distrófico. Antes do início dos tratamentos, foram irrigadas todas as mudas diariamente durante os três meses, correspondendo ao tempo de aclimação para mantê-las na capacidade de campo.

Adicionou-se 5 mL de solução com macro e micronutrientes em todas as amostras no início da aclimação, na forma de solução nutritiva (HOAGLAND; ARNON, 1950), modificada no laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), UFRA.

As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: irrigado (controle) e deficiência hídrica, no qual a imposição da deficiência hídrica foi obtida pela suspensão da irrigação no período de 21 dias, sendo o tempo 0 (zero dias de deficiência hídrica), o tempo 1 (7 dias de deficiência hídrica), o tempo 2 (14 dias de deficiência hídrica) e o tempo 3 (21 dias de deficiência hídrica). Durante o período das análises, as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a



água perdida pela evapotranspiração. Fez-se também o controle de plantas daninhas manualmente. Não foi detectado ocorrência de sintoma de deficiência nutricional, bem como o ataque de pragas e patógenos.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (quatro tempos de avaliação e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Além disso, foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa ASSISTAT Versão 7.7.

### **Teor relativo de água (TRA)**

O TRA foi determinado 06:00h em cada coleta. As plantas (ainda no vaso) foram levadas para o laboratório, onde foram retirados os discos para a determinação imediata do TRA. O método utilizado foi o descrito por Slavick (1979), foram retirados 10 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de um vazador de aço inoxidável, determinando imediatamente a massa dos mesmos (MF1) em balança analítica. Em seguida os discos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo 35 mL de água destilada e deixados na bancada (25° C) por um período de 12 horas. Posteriormente, os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e, em seguida, pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70° C) por 24 h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula abaixo:

$$\text{TRA} = (\text{MF1} - \text{MS}) / (\text{MF2} - \text{MS}) \times 100 (\%)$$

Em que:

MF1= Massa fresca 1;

MF2= Massa fresca 2(com saturação);

MS= Massa seca;

### **Trocas gasosas**

A resistência estomática e a transpiração (E) foram determinadas por meio de um porômetro portátil de equilíbrio dinâmico (mod. Li 1600, LiCor, Nebraska, USA).

As medições foram realizadas 9:00 h da manhã sob luz natural com radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em torno de  $680 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , e umidade relativa do ar (UR) de 80% e temperatura do ar (Tar) de 30 °C. Como amostras, foram selecionados folíolos maduros e completamente expandidos a partir de folhas do segundo ou terceiro par contados a partir do ápice.

### **Crescimento e biomassa**

A altura da planta considerada foi a altura total correspondendo ao comprimento que vai da base do caule até o ápice para tal medição foi usada uma régua graduada em centímetros. O diâmetro do caule foi medido com paquímetro digital.

A produção de biomassa foi medida no ato de cada coleta destrutiva (aos 0, 7, 14 e 21 dias de deficiência hídrico), onde as plantas foram separadas em raiz, caule e folha. Essa biomassa após secagem em estufa de circulação forçada, a 70°C por 72 horas, foi utilizada para determinar a massa seca da raiz, a massa seca do caule, massa seca da folha e a massa seca total, em balança analítica.

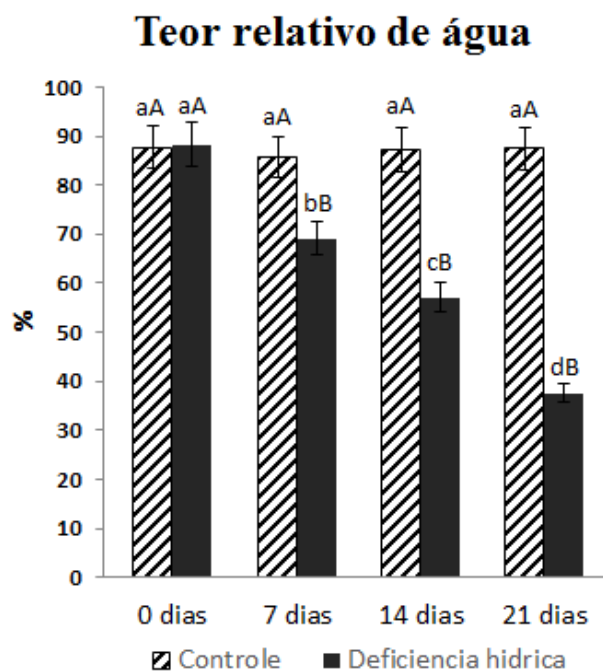
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os teores relativo de água (TRA) presente nas folhas de cumaru sob estresse hídrico decresceram com o passar dos dias e em médias as plantas controles apresentaram percentagem de água entre 87,7% e 85,5% enquanto as plantas sob deficiência entre 88,3% e 37,5%. A redução significativa do TRA foi notada a partir de 7 dias de suspensão hídrica, chegando a valores muito baixos ao afinal de 21 dias de estresse como mostra a figura 1.

O TRA nas folhas está correlacionado com a disponibilidade de água no solo assim como a eficiência da planta em assimilar água em condições adversas e manter água na planta diminuindo as perdas.

A fotossíntese é um processo que promove perda de água através dos estômatos e com a baixa disponibilidade de água no solo o TRA diminui (LOBATO et al., 2008).

Silva et al., 2012 trabalhando com *Carica papaya* L encontrou um TRA de 59% após 20 dias de suspensão hídrica, resultados se aproximaram ao TRA do Cumaru com 14 dias de suspensão hídrica (figura1).



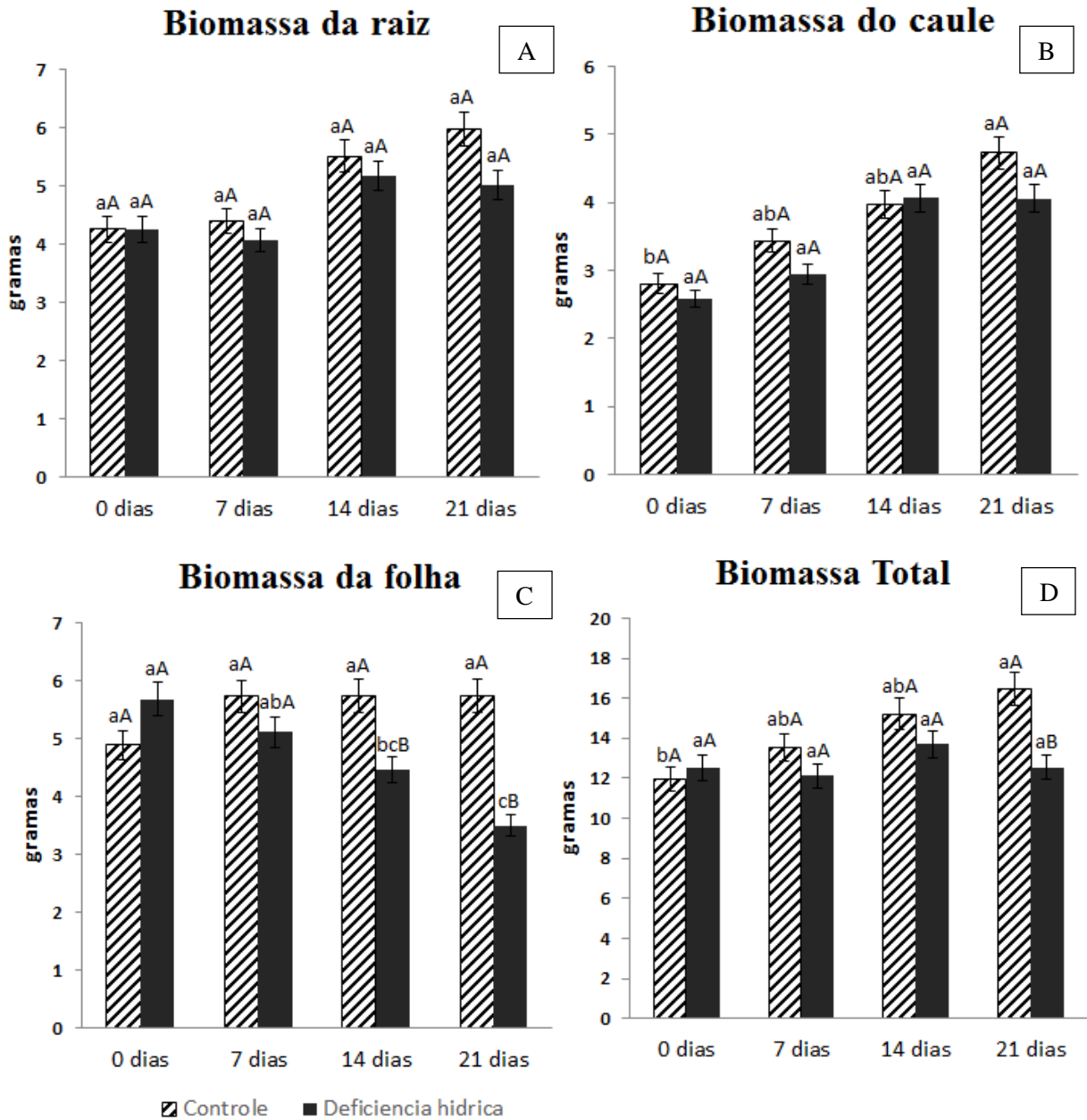
**Figura 1:** Teor relativo de água em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A biomassa da raiz apresentou valores entre 4,25 e 5,97 g nas plantas controles e 4,25 g e 5 g em deficiência hídrica (figura 2A). No caule os valores foram de 2,8 a 4,7 g (controle) e 2,58 a 4,05 g (deficiência hídrica) (figura 2B). Nas folhas ficou de 4,88 a 5,97 g (controle) e 4,9 a 3,99 g (deficiência hídrica) (figura 2C). A biomassa total foi de 11,93 a 16,6 g (controle) e 11,73 a 13,04 g (deficiência hídrica) como pode ser observado na figura 2D.

A biomassa da raiz e do caule do cumaru apresentaram tendência de crescimento ao longo do tempo nas duas condições hídricas, porém em ambas as partes esse incremento não diferiu estatisticamente (figura 2). A biomassa da folha apresentou comportamento diferente da raiz e do caule, na qual houve uma queda ao 21º dia de experimento nas plantas sob deficiência hídrica. A biomassa total reflete a soma dos efeitos ocorrido na biomassa das demais partes da planta com isso foi notado uma diferença estatística entre as plantas controle e deficiência hídrica aos 21 dias de estresse, isso se dá provavelmente pela perda de biomassa pela senescência, e infelizmente essas folhas que caíram não foi possível contabilizar.

Em meio às características morfológicas, a área foliar é a primeira afetada pela deficiência hídrica, devido a diminuição do crescimento foliar, podendo ser acompanhado de senescência foliar como forma de redução da área transpiratória (MAR et al.; 2013).

Díaz-Lopez et al. (2012) afirma que as plantas em tratamentos de seca tendem a reduzir o crescimento das partes aéreas de modo a favorecer o crescimento da raiz em busca de água. Entretanto, a espécie estudada no presente trabalho não apresentou essa estratégia.



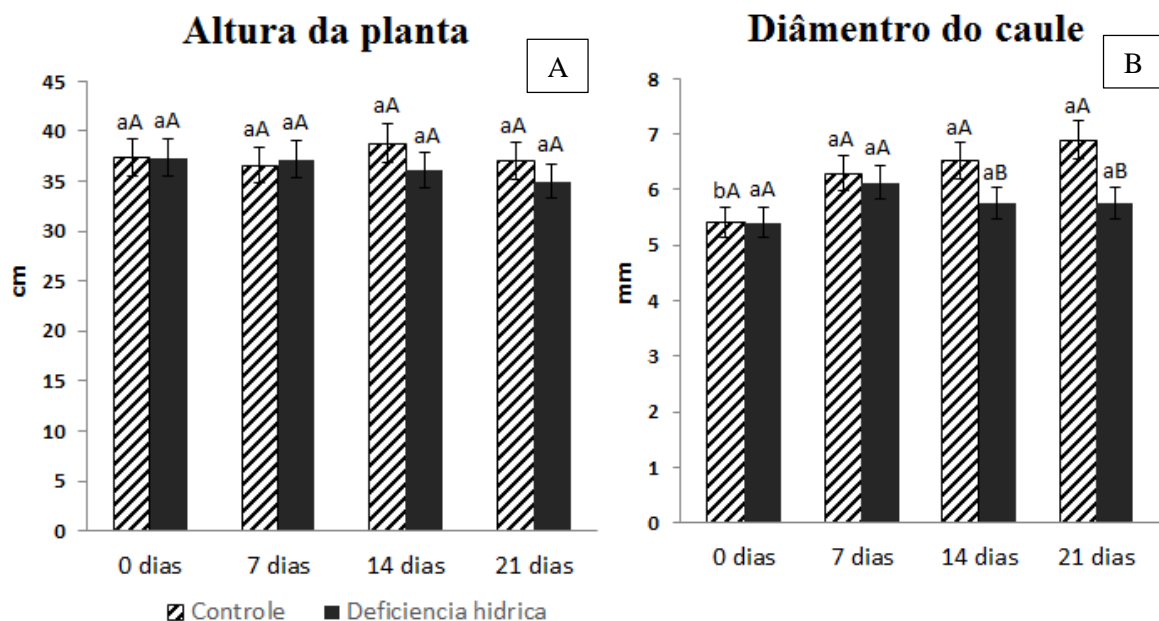
**Figura 2:** Biomassa da raiz (A), caule (B), folha (C) e total (D) em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da altura no final do experimento não teve uma diferença significativa, os valores foram 37 cm para as plantas controle e 35 cm para plantas sob deficiência hídrica (figura 3A).

O diâmetro do caule apresentou diferença estatística significativa com valores de 6,89 cm nas plantas controles e 5,75 cm nas plantas sob deficiência hídrica (figura 3B).

Em uma seleção de mudas é necessário avaliar vários parâmetros, nesse sentido a altura é uma variável muito importante por ser de fácil medição e não destrutiva. A altura das mudas estudadas nesse trabalho apresentou pouca diferença entre os tratamentos não havendo nenhuma diferença estatística entre os tempos de coleta e nem entre as condições hídricas aplicadas. O não crescimento em altura das plantas de Cumaru se deve ao fato dessa espécie possuir crescimento muito lento. Essa afirmação pode ser conferida ao analisar a altura das plantas controle que encontrasse em condições adequadas de desenvolvimento e mesmo assim não cresceu em altura, logo a altura das mudas de Cumaru não diferiu entre os tratamentos pela característica intrínseca ao comportamento dessa espécie.

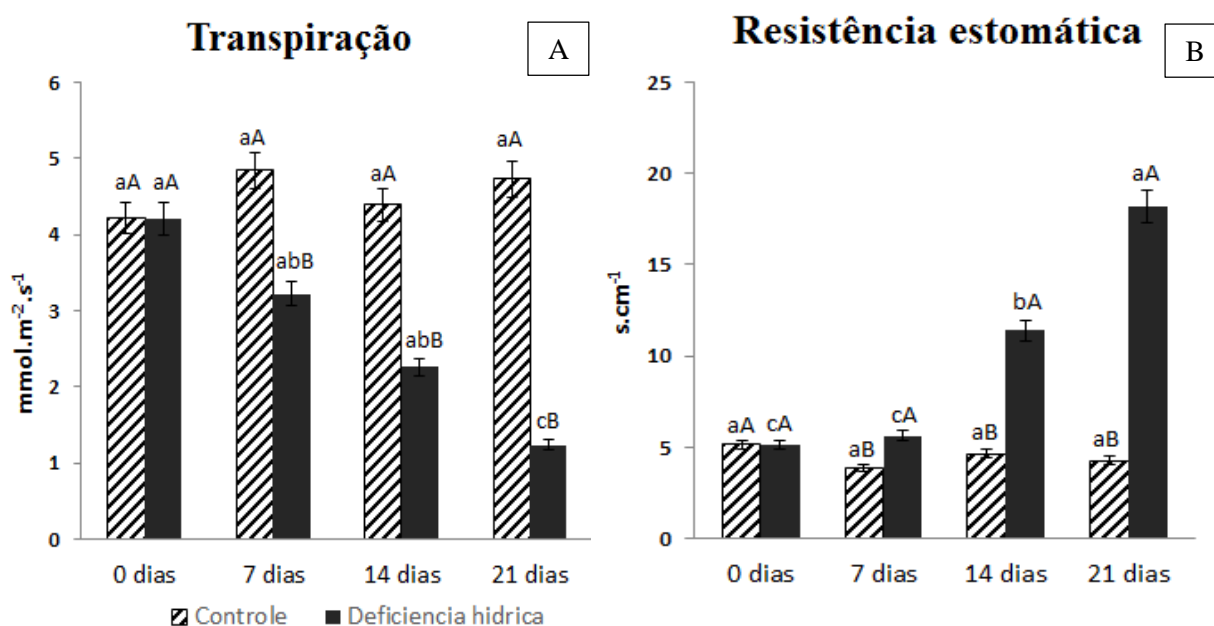
O diâmetro foi afetado provavelmente pela diminuição do alongamento celular provocado pela força de turgor que consiste em pressão positiva promovida pela água nas células chamado de mecanismo de extensão de tecido (KERBAUY, 2004).



**Figura 3:** Altura da planta (A) e diâmetro (B) do caule em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A transpiração caiu drasticamente nas plantas sob deficiência hídrica ao longo do experimento e a resistência estomática teve o comportamento inverso (figura 4A). Inicialmente a transpiração foi de  $4,22 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e ao 21º dia foi de  $1,24 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  nas plantas sob estresse. A resistência estomática no tempo 0 foi de  $5,14 \text{ s.cm}^{-1}$  no tempo 3 de  $18,2 \text{ s.cm}^{-1}$

(figura 4B). Com o aumento da resistência estomática é de se esperar a queda da transpiração, bem como a queda da condutância estomática que estão correlacionado inversamente proporcional. Segundo Nogueira, 2015 a diminuição da condutância estomática está relacionado a diminuição do potencial hídrico. Nesse presente trabalho não foi mensurado o potencial hídrico, mas tudo leva a crer pela falta de água no solo o potencial hídrico da muda de cumaru também diminuiu desencadeando o mecanismo de fechamento dos estômatos. O fechamento dos estômatos evita a transpiração e consequentemente a perda de água (ALVES et al., 2012).



**Figura 4:** Transpiração (A) e resistência estomática (B) em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

O Cumaru não foi eficiente em reter água no sistema por apresentar acentuada redução no teor relativo de água quando submetido a suspensão hídrica.

Entre as variáveis analisadas a altura, a biomassa caulinar e da raiz não apresentaram resposta ao período de estresse mantendo médias de 36 cm, 4,8g e 3,5g, respectivamente.

A deficiência hídrica provocou redução do crescimento em diâmetro, biomassa foliar, transpiração e aumento da resistência estomática.

O mecanismo de fechamento estomático garantiu a diminuição da transpiração para a planta perde menos água, entretanto esse mecanismo afetou também o crescimento da planta.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G. A. R.; SANTOS, F. B. G. dos.; LOBATO A. K. da S.; YUEN T. D. K; OLIVEIRA NETO, C. F. de; COSTA, R. C. L. da, ÁVILA, F. W.; MARQUES, D. J; GALATE, R. S. dos. Water relations, nitrogen compounds and enzyme activities in leaf and root of young Yellow Lapacho (*Tabebuia serratifolia*) plants subjected to flooding. *Plant Omics Journal*, v. 5, n. 3, p. 216-222, 2012.

CALVACHE, A. M.; REICHARDT, K; MALAVOLTA, E.; BACHI, O.O. S. Efeito da deficiência hídrica e da adubação nitrogenada na produtividade e na eficiência do uso de água em uma cultura do feijão. *Scientia Agrícola*, 54: 232-40, 1997.

CARVALHO, P. E. R. Cumaru-Ferro *Dipteryx odorata*. Comunicado técnico Colombo- PR, p.225, julho, 2009.

DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A. Tolerância à inundação: aspectos da anatomia ecológica e do desenvolvimento da *Sesbania virgata* (CAV.) Pers. (Fabaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 41 n. 4, p. 475-482. 1998.

DÍAZ-LOPEZ, L.; Gimeno, V.; Simón, I.; Martínez, V.; Rodríguez-Ortega, W.M. ; García-Sánchez, F. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. *Agricultural Water Management*, v. 105, p. 48-56, 2012.

EMBRAPA, Considerações sobre o manejo da estrutura diamétrica do cumarú-ferro (*Dipteryx odorata*), em empresa no estado do Acre. Colombo- PR, p.298, julho, 2012.

GONZÁLEZ, R. M.; RICARDI, M. M.; IUSEM, N. D. Epigenetic marks in na adaptive water stress-responsive gene in tomato roots under normal and drought conditions, *Epigenetics* 8: 864-872, 2013.

GUEDES, R. S. et al. germinação e vigor de sementes de *Apeiba tibourbou* submetidas ao estresse hídrico e diferentes temperaturas. *Ciência Florestal*, v. 23, n. 1, p. 45-53, 2013.

HOAGLAND, D.R. e ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Csp. Stn. Univ. Calif. Berkeley Cir.* p. 137:147, 1950.

KERBAUY G.B. *Plant Physiology*. Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2004.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531p.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Ed. Rima, 2006, p. 531.

LOBATO, A. K. S. *et al.* Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. Sambaíba) plants under water deficit. Australian Journal of Crop Science, Austrália, v.2, n.1, p.25-32, 2008.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e cultivos de plantas arbóreas do Brasil. 2ª Ed. São Paulo: Nova Odessa. 2002.

MAR, C. da C.; CONCEIÇÃO, H. E. O. da; SANTOS, A. B. R. dos; VIÉGAS, I de J. M.; SILVA, F. S. N. da; produção de massa seca e área foliar do açaizeiro sob déficit hídrico. Revista Agroecossistemas, v. 5, n. 2, p. 14-23, 2013.

MATOS, F. S.; ROSA, V. R.; BORGES, L. F. O.; RIBEIRO, R. P.; CRUVINEL, C. K. L.; DIAS, L. A. S. Response of *Jatropha curcas* Plants to Changes in the Availability of Nitrogen and Phosphorus in Oxissol. Journal of Academic Journals, Lagos, v.9, p.3581-3586, 2014.

MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; COLLI, S.; Muller, C. Estudos sobre a tolerância ao alagamento em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi. In: Medri, M. E.; Bianchini, E.; Shibatta, O. A.; Pimenta, J. A. (Ed.). A bacia do Rio Tibagi. Londrina: Edição dos editores, p. 133-172, 2002.

NOGUEIRA, G. A. dos S. Respostas ecofisiológicas e bioquímicas de plantas jovens de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam) Urb. Submetidas à deficiência hídrica e alagamento. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2015.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C. Comportamento estomático em plantas jovens de *Schinopsis brasiliensis* Engl. Cultivadas sob estresse hídrico. Iheringia, Ser. Boat., Porto Alegre, v. 57. N. 1, p. 31-38, junho 2002.

PEIXOTO, C. P.; CERQUEIRA, E. C.; SOARES FILHO, W. S.; CASTRO NETO, M. T.; LEDO, C. A. S.; MATOS, F.S.; OLIVEIRA, J.G. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 439-442, 2006.

SALISBURY, F.B.; Ross, C.W. Fisiologia das plantas. 4ª Edição, Cengage Learning, 858 p., 2012.

SILVA, F. A. S. Assistat Versão 7.7 beta - Homepage <http://www.assistat.com> DEAGCTRNUFCG, 2013.

SILVA, R. T. L.; OLIVEIRA NETO, C. F.; BARBOSA, R. R. N.; COSTA, R. C. L.; CONCEIÇÃO, H. E. O. Respostas fisiológicas de plantas de mamoeiro submetido ao déficit hídrico. Nucleus Animalium (Online), v. 9, p. 1-9, 2012.

SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. Springer Verlag, p. 449, 1979.



## CAPITULO 2

### **PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS, METABOLISMO DO NITROGENIO E ATIVIDADES DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE CUMARU (*Dipteryx Odorata* (AUBL.) WILLD) (FABACEAE) EM DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS.**

#### **RESUMO**

Cumarú (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.) espécie utilizada por populações tradicionais e indústrias por meio de produtos florestais madeireiros e não madeireiros. Objetivou analisar o teores de clorofila A, B e total, teores de amônio, nitrato, prolina, vazamento de eletrólitos e atividades das enzimas oxidativas em avaliação a tolerância de plantas de cumarú submetidas a deficiência hídrica durante 21 dias de estresse. O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém-Pará, período de março a julho de 2015. As mudas de cumarú (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.), foram fornecidas pela AIMEX com quatro meses de idade. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (quatro tempos de avaliação e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais. Foi aplicada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, a análises estatísticas realizadas pelo programa Assistat Versão 7.7 beta. Os resultados mostraram que houve um decréscimo significativo no teor relativo de água de 50,8 % e de 55 % clorofila B, 45 % clorofila total e acréscimo na prolina para as plantas sob deficiência hídrica. Não houve diferença significativa para clorofila A, amônio e nitrato. Ocorrendo um incremento no vazamento de eletrólitos com 22,74 % para as raízes e 39,55 % para folhas. A enzima catalase (CAT) apresentaram incremento significativo a partir do 14º dias de experimento, enquanto a superóxido dismutase (SOD) e a ascorbato peroxidase (APX) a partir do 7º dia de experimento. Plantas de cumarú não são tolerantes a mais de 21 dias de estresse hídrico, assim como as plantas jovens de cumarú responde negativamente às condições de baixa disponibilidade de água no solo.

**Palavras chaves:** Deficiência hídrica, Estresse oxidativos, Pigmentos, Tolerância, Leguminosa.

## **ABSTRAT**

Cumarú (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.) Species used for traditional populations and industries using forest products timber and non-timber. Aimed to analyze the levels of chlorophyll A, B and total ammonia levels, nitrate, proline, electrolyte leakage and activity of oxidative enzymes in evaluation tolerance of tonka bean plants subjected to water stress for 21 days of stress. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia (UFRA), Belém, Pará, from March to July 2015. The seedlings Cumarú (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.), Were provided by AIMEX with four months of age. The experimental design was completely randomized in split plot in time (four times evaluation and two water conditions: control and drought stress), with 5 repetitions, totaling 40 experimental units. Analysis of variance was applied and the means were compared by Tukey test at 5% significance level. the standard deviations were calculated for each treatment, the statistical analyzes performed by Assistat Version 7.7 beta program. The results showed a significant decrease in the relative water 50.8% and 55% B chlorophyll content 45% increase in the total chlorophyll and proline to plants under water stress. There was no significant difference to chlorophyll A, and ammonium nitrate. Experiencing an increase in electrolyte leakage with 22.74% for roots and 39.55% for leaves. The enzyme catalase (CAT) showed a significant increase in the left of the 14th day of the experiment, while the superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) from the 7th day of the experiment. tonka bean plants are not tolerant of over 21 days of water stress as well as young plants tonka responds negatively to conditions of low water availability in the soil.

**Keywords:** Water stress, oxidative stress, Pigments, tolerance, Clover.

## INTRODUÇÃO

Cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.) espécie utilizada por populações tradicionais e indústrias por meio de produtos florestais madeireiros e não madeireiros como óleos com propriedades medicinais e cosméticas, assim como também com o reflorestamento de áreas alteradas, que além dos benefícios ecológicos, aumentam a oferta de madeira proveniente de reflorestamento na região, aumentando a renda na propriedade rural e diminuindo a pressão sobre as florestas naturais remanescentes dependentes dos recursos hídricos (SHIMIZU, 1998). À medida que os recursos hídricos tornam-se escassos, a exploração comercial de plantas tolerantes a seca passa a ser prioridade para obtenção de altas produtividades (MATOS et al., 2014).

O impacto da seca nas atividades florestais e agrônômicas é uma importante consequência socioeconômica que afeta milhões de pessoas ao redor do mundo (ELLIOTT et al., 2013). Entre os vários fatores limitantes da produção vegetal, o déficit hídrico ocupa posição de destaque, pois além de afetar as relações hídricas nas plantas alterando seu metabolismo, é fenômeno que ocorre em grandes extensões de áreas cultiváveis (NOGUEIRA et al.; 2001).

Dentre as inúmeras implicações da seca sobre o desenvolvimento de plantas, a restrição na aquisição de nutrientes e água é comumente reconhecida (MANIVANNAN et al., 2008). Evidências sugerem que a seca provoca estresse oxidativo em várias plantas, em que espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), são produzidos (JALEEL et al., 2007). Para minimizar os efeitos citotóxicos dos ROS, as plantas desencatam um complexo sistema antioxidativo onde enzimas específicas atuam neutralizando a ação desses radicais, iniciando com a superóxido dismutase (SOD), que desmuta o radical  $O_2^{\bullet-}$  para  $H_2O_2$ ; este, por sua vez, sofre ação de várias enzimas como: a catalase (CAT), responsável pela conversão do  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e  $O_2$ , e as peroxidases, ascorbato peroxidase (APX) que reduzem o  $H_2O_2$  a  $H_2O$  (APEL; HIRT, 2004). Além do que, em condições de restrição hídrica, as plantas devem ser capazes de lidar com EROs para evitar danos oxidativos particularmente aos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos; se houver incapacidade de lidar com EROs adequadamente, danos oxidantes podem resultar na morte da célula (DEMIDCHIK, 2015).

Diversos métodos são adotados por pesquisadores para identificação de espécies tolerantes ao estresse hídrico, sendo mais comum a seleção por meio de descritores ecológicos associados a descritores fisiológicos e bioquímicos. Segundo Pincelli (2010) a deficiência hídrica é um dos estresses ambientais responsáveis pela diminuição de pigmentos nas folhas, fazendo com que

o ciclo de vida da planta seja alterado. Dentre esses últimos, os relacionados ao sistema antioxidativo e ajustamento osmótico têm corroborado substancialmente na identificação de espécies promissoras, e conseqüentemente, no progresso dos trabalhos de melhoramento da cultura para resistência à seca (AZEVEDO NETO et al., 2009).

A atividade das enzimas antioxidantes normalmente é incrementada para promover melhor eliminação das ERO e promover uma maior proteção celular contra danos oxidativos (JALEEL et al., 2009). Considerando então, que a colaboração entre enzimas antioxidantes devem prover melhor proteção contra os efeitos deletérios das ERO, minimizando os danos oxidativos (BLOKHINA et al., 2003).

Diante do exposto, o trabalho teve por objetivo analisar o teor de clorofila A e B, amônio, nitrato e prolina assim como a atividade das enzimas oxidativas em avaliação a tolerância de plantas de cumaru submetidas a deficiência hídrica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e condução experimental**

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA), localizado em Belém-Pará, no período de março a julho de 2015. As mudas de cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.), provenientes de sementes foram fornecidas pela AIMEX (Associação das Indústrias Exportadoras de Madeira do Estado do Pará) com quatro meses de idade, foram acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 3,6 L. O substrato usado foi constituído por latossolo amarelo distrófico (EMBRAPA, 2013). Antes do início dos tratamentos, foram irrigadas todas as mudas diariamente durante os três meses, correspondendo ao tempo de aclimação. Adicionando-se 5 mL de solução com macro e micronutrientes em todas amostras no início da aclimação, na forma de solução nutritiva (HOAGLAND; ARNON, 1950), modificada no laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), UFRA.

As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: irrigado (controle) e deficiência hídrica, no qual a imposição da deficiência hídrica foi obtida pela suspensão da irrigação no período de 21 dias, sendo o tempo 0 (zero dias de deficiência hídrica), o tempo 1 (7 dias de deficiência hídrica), o tempo 2 (14 dias de deficiência hídrica) e o tempo 3 (21 dias de deficiência hídrica). Durante o período das análises, as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. Fez-se também o controle de plantas daninhas

manualmente. Não foi detectado ocorrência de sintoma de deficiência nutricional, bem como o ataque de pragas e patógenos.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (quatro tempos de avaliação e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Além disso, foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa Assistat Versão 7.7 beta.

### **Teor relativo de água (TRA)**

O TRA foi determinado 06:00h em cada coleta. As plantas (ainda no vaso) foram levadas para o laboratório, onde foram retirados os discos para a determinação imediata do TRA. O método utilizado foi o descrito por Slavick (1979), foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de um vazador de aço-inoxidável, determinando imediatamente a massa dos mesmos (MF1) em balança analítica. Em seguida os discos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo 35 mL de água destilada e deixados na bancada (25° C) por um período de 12 horas. Posteriormente os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70° C) por 24 h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula abaixo:

$$\text{TRA} = (\text{MF1} - \text{MS}) / (\text{MF2} - \text{MS}) \times 100 (\%)$$

Em que:

MF1= Massa fresca 1;

MF2= Massa fresca 2 com saturação;

MS= Massa seca;

### **Determinação dos teores amônio**

Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das folhas em pó, e colocados em tubos de ensaio de 15 mL, adicionando-se 5 mL de água destilada e levados ao banho-maria por 30 min a 100 °C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada a 1000 rpm e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram acrescentados 400 µL de extrato total + 2,5 mL da solução A (5 g de fenol + 0,025 g de nitroprussiato de sódio/ 500 mL de água destilada) e homogeneizado em vortex, acrescentando 2,5 mL da solução B (2,5 g de NaOH + 12,6 mL de hipoclorito de sódio/ 500 mL de água destilada) e foram agitados novamente em vortex, levando-os ao banho-maria por 20 min a 37 °C. Após esse período foram removidos do “banho-maria” e deixados em repouso por 40 min, em seguida, levados para fazer a leitura no espectrofotômetro a 625 nm e usando-se água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes como branco. As concentrações de amônio livre foram estimadas a partir da curva-padrão construída com  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  p.a., os resultados foram expressos em mmol de  $\text{NH}_4^+$ / kg de MS. Para isso utilizou-se o método descrito por (WEATHERBURN, 1967).

### **Determinação do nitrato**

Foram pesados 50 mg das folhas previamente liofilizadas, e adicionadas em tubos de ensaio contendo 5,0 mL de água destilada, e estes incubados em banho-maria por 30 minutos a 100°C. Em seguida, este quantitativo foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos e retirado o sobrenadante. A reação foi preparada em tubo de ensaio contendo 100 µL do extrato + 200 µL de solução de ácido salicílico 5 % (p/v), em ácido sulfúrico concentrado. Após vigorosa agitação em agitador do tipo vortex, adicionaram-se lentamente 4700 µL de NaOH a 2N. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso até atingirem a temperatura ambiente por cerca de 20 minutos. Após este processo, foram feitas leituras em espectrofotômetro na absorvância de 410 nm. O branco foi feito usando no ensaio água deionizada em substituição ao extrato. A concentração de nitrato foi obtida a partir de uma curva padrão com concentrações crescentes de  $\text{NO}_3^-$  (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 µmol mL<sup>-1</sup>). Os resultados foram expressos em mmol de  $\text{NO}_3^-$ . kg<sup>-1</sup> MS de tecido. O método utilizado foi o de (CATALDO et al., 1975).

### **Determinação dos teores prolina**

Os teores de prolina, a extração foi realizada a quente (em banho-maria a 100 °C, por 30 min), homogeneizando-se as amostras em 5 mL de água destilada. Após centrifugação a 700 g, por

20 min, o sobrenadante foi coletado e deste utilizado uma alíquota de 1 mL para a quantificação de prolina, iniciada pela adição de 1 mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial 99,5 %. A mistura foi agitada e incubada a 100 °C por 1 h. As amostras foram resfriadas em banho de gelo e a elas adicionadas 2 mL de tolueno para a separação das fases. A fração contendo grupo cromóforo foi coletada e a absorvância (ABS) determinada a 520 nm em espectrofotômetro UV-Visível. A concentração de prolina foi determinada por meio de uma curva de calibração de prolina e o resultado expresso em mmol prolina g<sup>-1</sup> de matéria seca (MS). Foram determinados de acordo com Bates et al. (1973).

### **Determinação dos pigmentos fotossintéticos**

A determinação dos pigmentos fotossintéticos foi realizado segundo Lichthenthaler (1987), sendo colocados 100 mg de tecido foliar e homogeneizado a amostra em uma almofariz, com 5 ml de acetona 80% em abrigo de luz. Vertendo o extrato em um tudo de centrifuga de mesa, sendo lavado (quantitativamente) o almofariz por duas vezes com 5 ml de acetona 80%. O tubo foi envolvido com papel alumínio, depois o tubo foi centrifugado por 10 minutos a 10°C e 6000 rpm. Verteu-se o sobrenadante cuidadosamente em um balão volumétrico de 25 ml, enrolado também com papel alumínio e o volume completado com acetona 80%. Foi tomada uma alíquota e realizada leitura com absorvância a 644 e 662 nm. O extrato foi abrigado da exposição de luz durante as leituras. As concentrações de clorofilas A, B e total (mg. L<sup>-1</sup>) foram calculadas através de formulas:

$$\text{Clorofila A} = 12,25 \times L_{(662)} - 2,79 \times L_{(644)} \qquad \text{Clorofila B} = 21,5 \times L_{(644)} - 5,1 \times L_{(662)}$$

$$\text{Clorofila total} = 7,15 \times L_{(662)} + 18,71 \times L_{(644)}$$

### **Integridade das membranas (Vazamento de Eletrólitos)**

O grau de integridade das membranas foi estimado pelo vazamento de eletrólitos de acordo com Blum e Ebercon (1981), com pequenas modificações sendo essa uma medida indireta para determinação do grau de danos de membrana. Foram aferidos, separadamente, 100 mg de parte aérea, e raízes e após tripla lavagem com água deionizada, o material vegetal foi transferido para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 10 mL de água desionizada. Os frascos foram deixados em repouso sob temperatura ambiente (25°C) durante 6 h, sob agitação a cada uma hora, Após esse período, o sobrenadante foi transferido para novos tubos de ensaio e, com o auxílio de um condutivímetro, foi mensurada a condutividade elétrica (C<sub>1</sub>) da solução dos tubos de ensaio. Após isso, os tubos foram novamente fechados e aquecidos em banho maria a 100

°C, por 1 h. Após resfriamento dos tubos de ensaio a temperatura ambiente, a condutividade elétrica do extrato ( $C_2$ ) foi novamente medida. O vazamento de eletrólitos foi estimado através da seguinte equação abaixo:

$$VE (\%) = (C_1/C_2) \times 100$$

### **Atividade enzimática**

#### **Superóxido dismutase (SOD)**

A atividade da SOD foi determinada pela inibição da fotorredução do cloreto de azul de nitrotetrazólio (NBT), conforme Giannopolitis e Ries (1977). A mistura de reação (1,5 mL) foi composta por tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 1  $\mu$ M, L-metionina a 13 mM e NBT a 75  $\mu$ M e 50  $\mu$ l do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de riboflavina a 2  $\mu$ M, seguida da iluminação do meio de reação com duas lâmpadas fluorescentes de 20 W em caixa fechada. Após 15 min, a reação foi interrompida pelo desligamento das luzes e as leituras foram realizadas a 560 nm. Uma unidade de atividade (UA) foi considerada como a quantidade de enzima requerida para inibir 50% da fotorredução do NBT por 15 min em comparação com o meio de reação sem o extrato proteico. Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo a atividade da SOD expressa em UA  $\text{mg}^{-1}$  de proteína.

#### **Catalase (CAT)**

A atividade da CAT foi determinada pelo método de Beers Jr. e Sizer (1952), com modificações. A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de solução tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1  $\mu$ M,  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 20 mM e 150  $\mu$ L do extrato. A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu$ L do extrato enzimático ao meio de reação; e a atividade enzimática foi determinada pelo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sendo a redução monitorada por leituras de absorbância em 240 nm, por 5 min em que cada extrato foi dosado em duplicata. O coeficiente de extinção molar do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foi usado para determinar a atividade da CAT que foi expressa em  $\mu\text{mol de } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

#### **Ascobarto Peroxidase (APX)**

A atividade da APX foi determinada pelo método de Nakano e Asada (1981). A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de 50  $\mu$ L de tampão fosfato de potássio (pH 6,0), EDTA a 0,1  $\mu$ M, ascorbato a 0,5 mM,  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 1 mM e 300  $\mu$ L do extrato, convenientemente diluído com tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de 300  $\mu$ L do extrato enzimático, e a



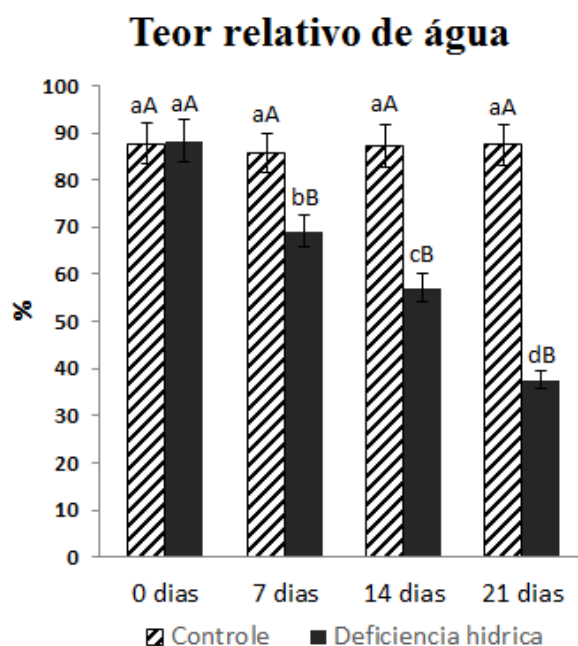
atividade da APX foi determinada pela oxidação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  dependente do ascorbato, sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 290 nm durante 1 min. O coeficiente de extinção molar do ascorbato ( $2,8 \text{ mM cm}^{-1}$ ) foi usado para quantificar a atividade enzimática levando-se em consideração que dois moles de ascorbato são necessários para redução de 1,0 mol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (MCKERSIE; LESHEM, 1994). Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo a atividade da APX expressa em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Teor relativo de água (TRA)**

Os teores relativos de água presente nas folhas de cumaru sob estresse hídrico decresceram com o passar das semanas, em médias as plantas controles apresentaram percentagem de água entre 87,7% e 85,5%, as plantas sob deficiência entre 88,3 % e 37,5%, representando um decréscimo de 50,8 %.

O teor relativo de água presente nas folhas representa a disponibilidade de água no solo assim como a eficiência da planta em captar água em condições adversas e manter água no sistema diminuindo as perdas. As mudas de cumaru apresentam alto teor de água na folha em condições normais, porém teve uma redução acentuada pela falta de água. A redução foi significativa a partir do 7º dia de suspensão hídrica e decrescente ao longo dos 21 dias de estresse, como mostra a figura 1.



**Figura 1:** Teor relativo de água em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Esses resultados diferem dos estudados por Soares et al (2015), quando trabalhando com citros, não se constataram efeitos significativos da deficiência hídrica sobre o teor relativo de água (TRA). Em contribuição Albuquerque et al., (2013) trabalhando com plantas de mogno africano em casa de vegetação, observaram redução de 28% no TRA aos 14 dias de estresse hídrico.

### **Pigmentos fotossintéticos**

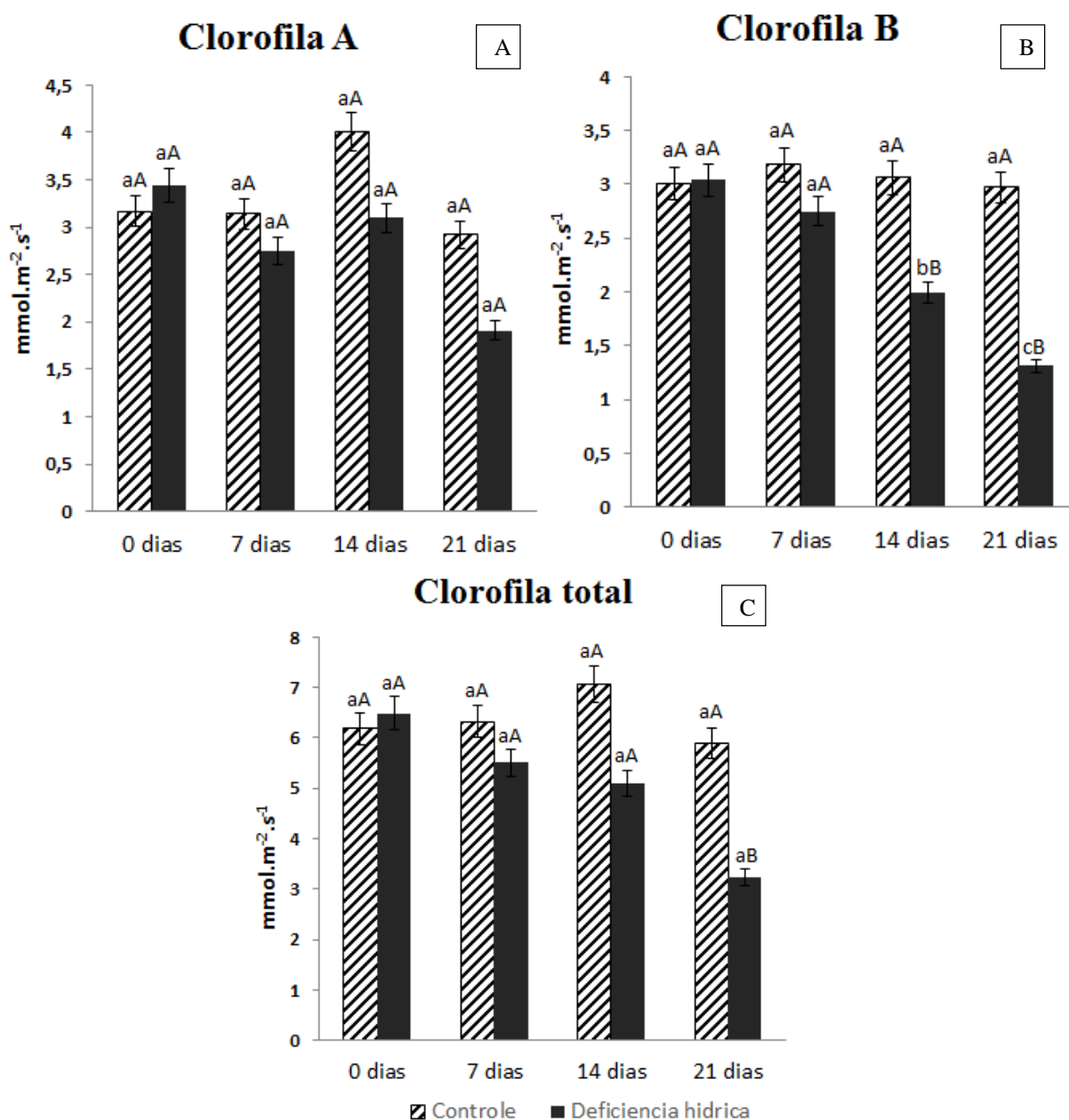
Os teores de clorofila **A** não variou significativamente ao longo do experimento, enquanto a clorofila **B** e totais tiveram redução significativa em plantas sob restrição hídrica quando comparadas com plantas controles. Os valores médios para clorofila A foram de  $3,31 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  para as controle e  $2,8 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  para plantas sob deficiência hídrica. Clorofila B apresentou os valores médios de  $3,05 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e  $2,27 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , enquanto clorofila total  $6,37 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e  $5,08 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  plantas controle e plantas sob deficiência hídrica, respectivamente (Figura 2). Representando um decréscimo de 34 % para clorofila A, 55 % para clorofila B e 45 % para clorofila total quando comparada as duas condições hídricas no 21º dia de experimento.

De acordo com Morais et al. (2007), as clorofilas **A** e **B** são interconvertidas no ciclo da clorofila e formam complexos de clorofila-proteína, que são importantes na regulação e organização do fotossistema. As clorofilas exercem função importante na fotossíntese, sendo responsáveis pela

captação de energia luminosa, destacando-se a clorofila **A** como o principal pigmento dos complexos coletores de luz (LHC) para as reações fotoquímicas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Sob redução da condutância estomática e conseqüente menor influxo de CO<sub>2</sub> procede em redução da taxa de assimilação líquida, afetando diretamente a bioquímica da fotossíntese e, reduz o consumo de energia fotoquímica (CARMO et al, 2014). Nestas situações é constante a produção de espécies reativas de oxigênio e outros agentes de degradação de clorofilas (MATOS et al., 2012). A degradação da clorofila ocorre de acordo com o nível de estresse em que as plantas são submetidas e a implicação é a senescência foliar, ocorrência verificada neste trabalho (CARMO et al, 2014).

Neste trabalho a clorofila **A** não apresentou diferença significativa, fato este que pode estar de acordo com a afirmação de Dinakar et al. (2012), em que os cloroplastos são particularmente sensíveis a danos oxidativos e quando se trata de tolerância à períodos de seca, além de produção de antioxidantes, o conteúdo de clorofila é mantido após a dessecação, para evitar a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's).



**Figura 2:** Teor de clorofila A (A), clorofila B (B) e clorofila total (C) em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados encontrados por Lima (2015) corroboram com este trabalho, pois houve uma redução significativa nos teores de clorofila totais quando as plantas foram submetidas a deficiência hídrica. Outro resultado semelhante com o presente trabalho foi encontrado por Silva et al. (2014), quando plantas de cana-de-açúcar foram submetidas a deficiência hídrica, não encontraram alterações significativas nos níveis de clorofila **A** e decréscimo nos níveis de clorofila **B** e totais.

Diferindo dos resultados, Moro et al (2015), não encontrou diferenças significativas quando submeteu variedades de *Oryza* a deficiência hídrica e Bertolli et al. (2015) trabalhando com a espécie pata-de-elefante também não houve diferença significativa nos teores de clorofila, quando as plantas ficaram em condições de deficiência hídrica.

### **Teores de amônio, nitrato e prolina.**

Os teores de amônio e nitrato não tiveram alterações significativas ao longo do experimento nas plantas sob restrição hídrica e nas plantas controles. Já a prolina teve um incremento significativo a partir do 14º dia nas folhas e no 21º nas raízes. Os valores para amônia no último dia de coleta foram de 11,2 e 11,5 mmol de  $\text{NH}_4^+ \cdot \text{Kg}^{-1}$  MS nas raízes e 7,2 e 6,4 mmol de  $\text{NH}_4^+ \cdot \text{Kg}^{-1}$  MS nas folhas, controle e deficiência hídrica, respectivamente (figura 3A). Nitrato foi de 0,07 e 0,08 mmol de  $\text{NO}_3^- \cdot \text{Kg}^{-1}$  MS nas raízes e 0,06 e 0,06 mmol de  $\text{NO}_3^- \cdot \text{Kg}^{-1}$  MS nas folhas, controle e deficiência hídrica, respectivamente (figura 3B). Prolina foi de 3,8 e 20,8 mmol de  $\text{Pro} \cdot \text{g}^{-1}$  MS nas raízes e 2,3 e 29,8 mmol de  $\text{Pro} \cdot \text{g}^{-1}$  MS nas folhas, controle e deficiência hídrica, respectivamente (Figura 3C).

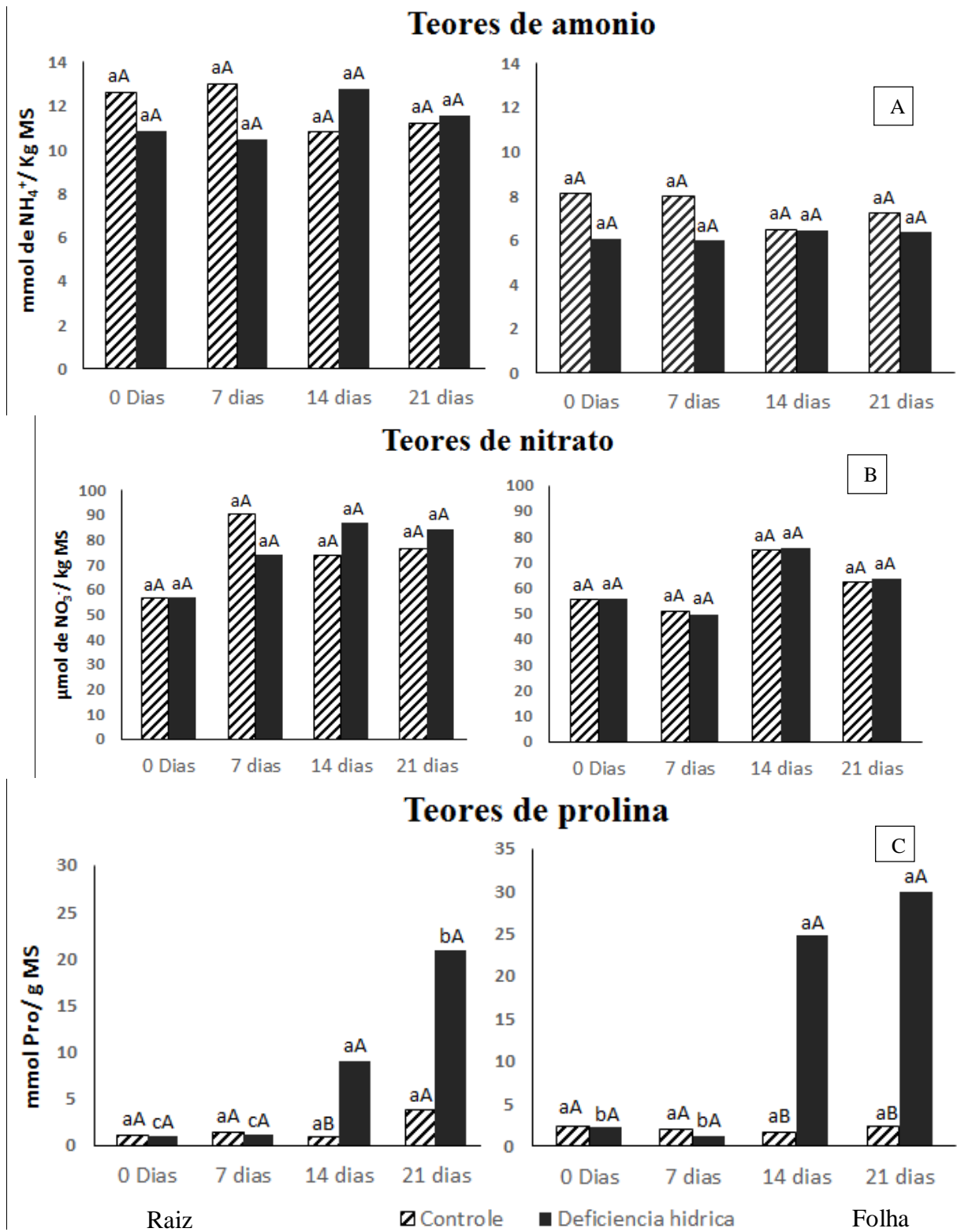
A maioria das plantas tem preferência pelo íon nitrato como fonte de nitrogênio, por isso é comum seus teores serem inferiores aos teores de amônio encontrados (MARTINELLI, 2003; ARAÚJO et al., 2004), corroborando com estes resultados.

O Amônio e o nitrato são as principais formas de nitrogênio disponíveis para as plantas, Os processos de redução e assimilação de nitrogênio podem ser absorvidos tanto nas folhas quanto nas raízes de maneira simultânea ou entre esses órgãos se tornando um processo essencial para a planta, pois é através do mesmo que será controlado o crescimento e desenvolvimento da planta. (SHAN et al., 2012).

Com isso, as diversas formas de N, disponíveis no substrato podem afetar as características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das plantas, possivelmente no crescimento de raízes, taxas fotossintéticas, bem como atividade catalítica de diversas enzimas (LI et al., 2013). Em estudos comparando a nutrição com nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ou amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) mostram que essas fontes nitrogenadas podem induzir respostas metabólicas distintas (PATTERSON et al., 2010).

O acúmulo de solutos solúveis nas células do vegetal estabelece um tipo de resposta ao déficit hídrico, chamado de ajustamento osmótico, no qual permite um potencial hídrico mais negativo nas folhas, ajudando assim a manter o movimento de água para as folhas (SILVA et al., 2014). A prolina tem se destacado como sendo um soluto compatível que ocorre em plantas em resposta a estresses ambientais este soluto se acumula variedade de espécies vegetais em

resposta a estresses como seca, metais pesados, temperaturas extremas, salinidades e radiação ultravioleta (SIRIPORNADULSIL et al., 2002).



**Figura 3:** Teores de amônio (A), nitrato (B) e prolina (C) em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

É possível notar um aumento de prolina bem mais expressivo nos tecidos foliares do que radiculares, esse fato pode se dar pela necessidade da planta em ter um potencial mais negativo nas folhas para que a água possa chegar até as partes mais altas da planta. Os teores de prolina só teve aumento a partir do 14º dia mesmo já havendo uma redução significativa do TRA no 7º dia, isso pode ocorrer porque a prolina pode ser um soluto compatível (composto orgânico osmoprotetor e osmorregulador) com função mais secundária na espécie Cumaru como foi o caso em estudo com Pinhão-manso (SOUSA et al., 2012), que destacou a glicina-betaina como principal osmorregulador e osmoprotetor.

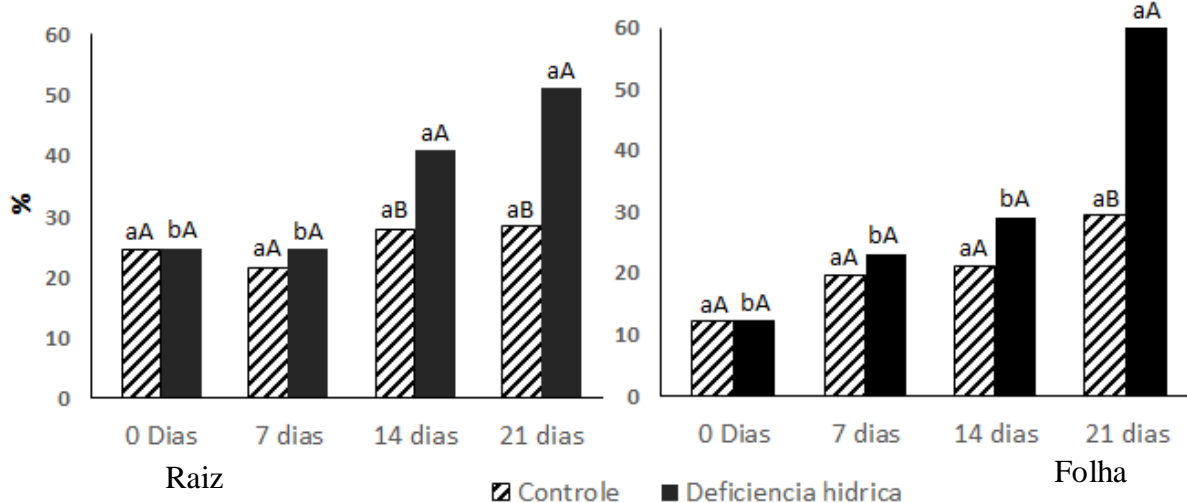
Estudos com déficit hídrico em *Carapa guianensis* (SILVA, 2009), mogno-africano (ALBUQUERQUE et al., 2013) obtiveram resultados similares para prolina constatando aumentos tanto para folhas quanto raízes.

### **Vazamento de Eletrólitos**

Resultados mostram que houve um incremento significativo tanto para as folhas como para as raízes que estavam sob deficiência hídrica apresentando valores de 12,2% a 29,58% e 12,2% a 60,73% para as folhas (plantas controle e deficiência hídrica), respectivamente. Assim como, 24,56% a 28,55% e 24,6% a 51,29% para as raízes (plantas controle e deficiência hídrica), respectivamente (Figura 4) com um percentual de incremento de 39,55% para as folhas e de 22,74% para raízes no 21º dia de experimento.

A falta de água causa diminuições na fotossíntese líquida e neste caso a redução acentuada de água nas plantas de cumaru provavelmente provocou essa diminuição na taxa fotossintética líquida passando a produzir mais  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  nos cloroplastos (BLOKHINA et al., 2003; REDDY et al., 2004). O aumento do extravasamento celular nas plantas sob deficiência hídrica está fortemente ligado aos danos causados pelos radicais livres de  $O_2^-$  que ataca várias partes da planta como lipídios e proteínas de membrana, ácidos nucleicos entre outros causando a morte celular.

## Vazamento de eletrólitos



**Figura 4:** Vazamento de eletrólitos em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em contribuição Lima (2015), também encontrou um aumento significativo, que atingiram quantidade cerca de duas vezes maior no estresse hídrico severo, em comparação à condição normal de suprimento de água em plantas de *Capsicum annuum* L. Carvalho (2005) trabalhando com restrição hídrica em espécie *Ricinus communis* notou se também uma tendência de aumento no extravasamento de eletrólitos na medida que a restrição hídrica aumenta.

### Atividade enzimática

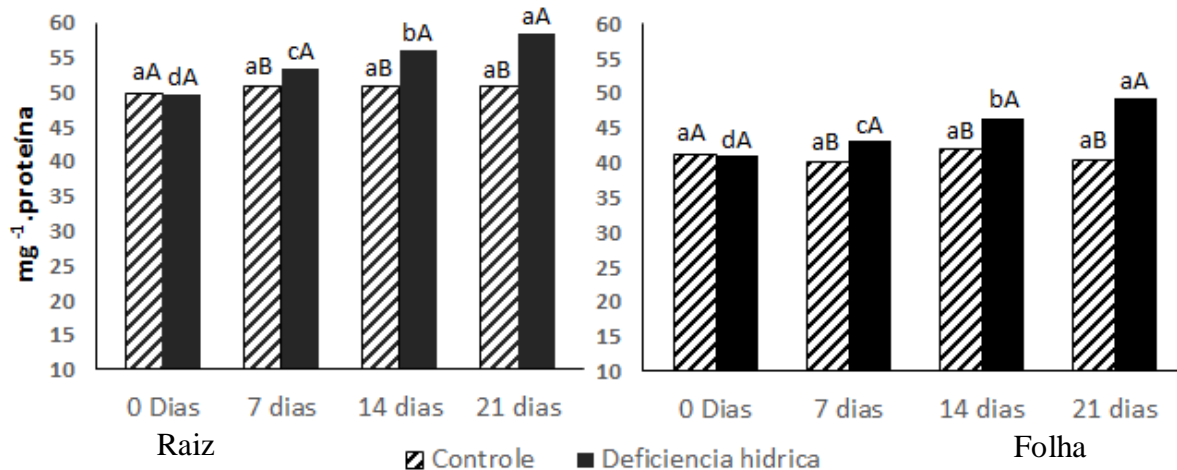
#### Superóxido dismutase (SOD)

As plantas submetidas a deficiência hídrica apresentaram um incremento significativo quando comparadas com as plantas controle ao longo dos 21 dias de experimento (Figura 5). Os valores para as raízes foram de 49,86 a 50,85  $\text{mg}^{-1} \cdot \text{proteína}$ , e de 49,79 a 58,59  $\text{mg}^{-1} \cdot \text{proteína}$  (plantas controle e sob deficiência hídrica), respectivamente. Para as folhas os resultados foram semelhantes com valores de 41,06 a 40,35  $\text{mg}^{-1} \cdot \text{proteína}$  e de 40,91 a 49,2  $\text{mg}^{-1} \cdot \text{proteína}$  (plantas controle e sob deficiência hídrica), respectivamente. Plantas possuem sistemas enzimáticos de defesa contra espécies reativas de oxigênio, incluindo SOD, CAT, APX. A ativação de genes que codificam essas enzimas em resposta a estresse oxidativo foi observada, por exemplos, em tabaco (BOWLER et al., 1991), soja (LEE et al., 1999) e amendoim (SANKAR et al., 2007). Assim, o aumento da atividade dessas enzimas está diretamente ligado com a expressão diferencial desses genes pertencentes ao sistema antioxidante, tendo como uma de suas funções



impedir o acúmulo de  $H_2O_2$  nas células (EYIDOGAN; OZ, 2007; VAIDYANATHAN et al., 2003).

### Atividade da enzima superóxido dismutase



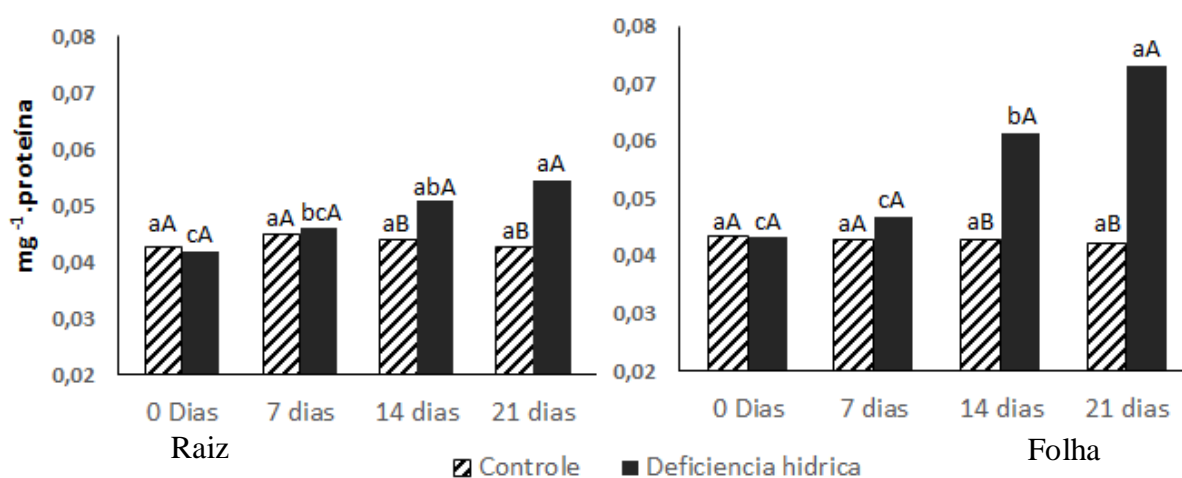
**Figura 5:** Atividade da enzima superóxido dismutase em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### Catalase (CAT)

A enzima catalase apresentou diferença significativa a partir dos 14 dias de experimento (Figura 6), apresentando valores para as raízes de 0,042 mg<sup>-1</sup>.proteína (plantas controle) e de 0,042 a 0,054 mg<sup>-1</sup>.proteína (sob deficiência hídrica), respectivamente. As folhas apresentaram valores de 0,043 a 0,042 mg<sup>-1</sup>.proteína e de 0,043 a 0,073 mg<sup>-1</sup>.proteína (plantas controle e sob deficiência hídrica), respectivamente.

Akçay et al. (2010), que estudaram a atividade da CAT em amendoim rasteiro e ereto, encontraram que a atividade dessa enzima aumentou consideravelmente quando submetido ao mais elevado nível de estresse, corroborando com os resultados deste trabalho. Para esses autores, a CAT é uma das enzimas mais eficazes na defesa de processos oxidativos, uma vez que, na planta resistente, possibilita a integridade da célula mesmo quando o estresse encontra-se em um estágio mais rigoroso. Esses resultados são relatados em estudos anteriores de deficiência hídrica, salinidade e outros tipos de estresses, os quais relataram que existe uma menor produção de EROs em genótipos tolerantes do que em genótipos sensíveis (KARABAL et al, 2003; CHAITANYA et al., 2002; BHOOMIKA et al, 2013).

## Atividade da enzima catalase



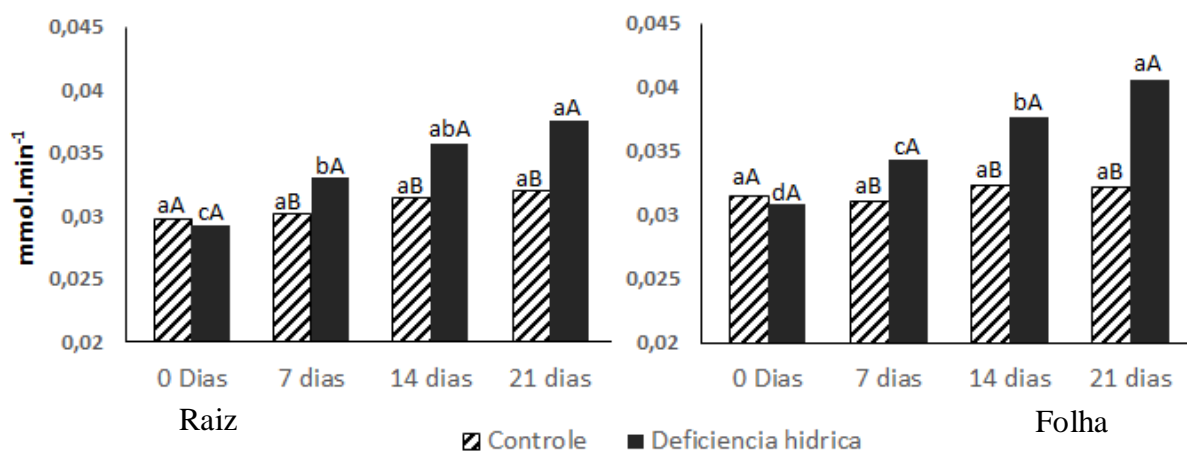
**Figura 6:** Atividade da enzima catalase em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com Sankar et al. (2007), conforme pode ser visto em seu trabalho, onde um incremento médio de até 230% de atividade foi obtido no material mais precoce, quando submetido a 10 dias de supressão hídrica. Carvalho et al. (2013) encontraram um incremento mais elevados da enzima em plantas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) com escassez de água.

### Ascobarto Peroxidase (APX)

Expressivamente os valores da enzima APX apresentaram diferença significativa aos 7 dias de experimento nas plantas que foram submetidas a deficiência hídrica, quando comparadas com plantas controle. O incremento para as raízes foram de 0,0298 a 0,032 mmol.min<sup>-1</sup>, e de 0,0293 a 0,0376 mmol.min<sup>-1</sup> controle e deficiência hídrica, respectivamente. As folhas apresentaram valores de 0,0315 a 0,0322 mmol.min<sup>-1</sup>, e de 0,0309 a 0,0405 mmol.min<sup>-1</sup> controle e deficiência hídrica, respectivamente (Figura 7). Estes resultados realçam que a deficiência aumenta a atividade das enzimas em lidar com o metabolismo de ROS em condições de estresse. EROs são tóxicas quando produzidas em altas concentrações, mas em baixas concentrações, elas agem com um sinal de alerta para dar início às respostas preventivas contra a maioria dos fatores estressantes (ARA et al., 2013). Deste modo, os possíveis danos oxidativos, devido ao déficit hídrico foram adequadamente mitigados pela atividade de APX constitutiva (CRUZ et al., 2013). Possivelmente esse aumento dar-se pelo desencadeamento de múltiplas estratégias antioxidantes (SILVA et al., 2015).

## Atividade da enzima ascorbato peroxidase



**Figura 7:** Atividade da enzima peroxidase em plantas jovens de cumaru submetidas a deficiência hídrica. Letras maiúsculas demonstram diferenças estatísticas entre as condições hídricas e as minúsculas diferenças estatísticas entre os tempos de coletas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Costa et al. (2010), não encontraram diferenças significativas da enzima quando plantas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) foram submetidas a 27 dias sem irrigação. Em colaboração Cruz et al. (2013) também não encontrou diferença significativa no incremento da enzima apenas com a deficiência hídrica.

## CONCLUSÃO

A espécie estudada apresenta mecanismos diferenciados para a superação de períodos de deficiência hídrica, seja pela manutenção de baixos valores de TRA e pigmentos fotossintetizantes, ou pelo aumento das atividades das enzimas oxidativas que são variáveis que podem ser utilizadas como indicadores de sensibilidade ao estresse hídrico.

A deficiência hídrica causou grandes danos nas células do vegetal provocando a morte celular tanto nas folhas quanto nas raízes.

## **CONSIDERAÇÃO GERAL**

Plantas jovens de cumaru não são tolerantes a mais de 21 dias de estresse hídrico, e responde muito negativamente às condições de baixa disponibilidade de água no solo.

A *Dipteryx odorata* mostrou ser muito sensível a baixa disponibilidade de água. Essa condição causou perturbação no metabolismo da planta, diminuição da transpiração, fechamento dos estômatos que acarretou na diminuição do crescimento da planta em diâmetro do caule e biomassa total em geral.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKCAY, U. C. et al. Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*, v. 61, n. 01, p. 21-28, 2010.

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.48, n.1, p.9-16, jan. 2013.

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S de; RAMOS E. M. L. S e PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.48, n.1, p.9-16, jan. 2013.

APEL, K.; Hirt, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARAÚJO, A. R.; CARVALHO, J. L. N.; GUILHERME, L. R. G.; CURI, N.; MARQUES, J. J. Movimentação de nitrato e amônio em colunas de solo. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 28. N. 3. P. 537-541, 2004.

AZEVEDO NETO, A. D. et al. Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water deficit, *Journal of Plant Interactions*, v. 05, n. 01, p. 01-10, 2009.

BEERS JUNIOR, R. F.; SIZER I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, v. 195, p. 133 - 140, 1952. Homepage <http://www.jbc.org/content/195/1/133.long> .

BERTOLLI, S. C.; SOUZA, J. de; SOUZA, G. M. Caracterização Fotossintética da Espécie Isohídrica Pata-de-Elefante em Condições de Deficiência Hídrica. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 28, n. 3, p. 196 – 205, Jul. – set. 2015.

BHOOMIKA, K.; PYNGROPE, S.; DUBEY, R. S. Differential responses of antioxidant enzymes to aluminum toxicity in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars with marked presence and elevated activity of Fe SOD and enhanced activities of Mn SOD and Catalase in aluminum tolerant cultivar. *Plant Growth Regulation*, v. 71, p. 235-252, 2013.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, v. 91, p. 179-194, 2003.

BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*, Madison, v.21, n. 1, p. 43-47, 1981.

BOWLER, C., SLOOTEN, L., VANDENBRANDEN, S., De RYCKE, R., BOTTERMAN, J., SYBESMA, C., VAN MONTAGU, M., & INZÉ, D. Manganese superoxide dismutase can

reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants. *The Embo Journal*, 10, 1723-1732. PMID:2050109, 1991.

CARMO, M. S. do; BORGES, L. P.; TORRES JUNIOR, H. D.; SANTOS, P. G. de F.; MATOS, F. S. efeito da Disponibilidade de Nitrogênio e Déficit Hídrico no Crescimento Inicial de Plantas de Pinhão Manso. *Revista Agrotecnologia*, Anápolis, v. 5, n. 2, p. 33 - 48, 2014.

CARVALHO, K. da S.; PINHEIRO, H. A.; FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; SILVA JÚNIOR, D. D. da S.; CASTRO, G. L. S. de; CRUZ, F. J. R.; FUJIYAMA, B. S. Diurnal changes in leaflet gas exchange, water status and antioxidant responses in *Carapa guianensis* plants under water-deficit conditions. *Acta Physiol Plant*, 35:13–21, 2013.

CARVALHO, M. Variações morfológicas e eficiência do uso da água em *Ricinus communis* L. submetida ao déficit hídrico regulado. Ilhéus – BA. 2010. 95p, Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade estadual de Santa Catarina.

CHAITANYA, K.; SUNDAR, D.; MASILAMANI, S.; REDDY, A. R. Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars. *Plant Growth Regulation*, v. 36, p. 175-180, 2002.

COSTA, M.A., PINHEIRO, H.A., SHIMIZU, E.S.C. et al.: Lipid peroxidation, chloroplastic pigments and antioxidant strategies in *Carapa guianensis* (Aubl.) subjected to water deficit and short-term rewetting. – *Trees* 24: 275-283, 2010.

CRUZ, F. J. R.; CASTRO, G. L. S.; SILVA JÚNIOR, D.D.; FESTUCCI-BUSELLI, R.A.; PINHEIRO, H.A. Exogenous glycine betaine modulates ascorbate peroxidase and catalase activities and prevent lipid peroxidation in mild water-stressed *Carapa guianensis* Aubl. plants. *Photosynthetica* 51 (1): 102-108, 2013.

DEMIDCHIK V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environ Exp Bot* 109:212–228, 2015.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. *Plant Science*.v.182, p.29-41, 2012.

ELLIOTT, J.; GLOTTER, M.; BEST, N.; BOOTE, K. J.; JONES, J. W.; HATFIELD, J. L.; ROSENZWEIG, C.; SMITH, L.; FOSTER, I. Predicting agricultural impacts of large-scale drought: 2012 and the case for better modeling. Center for Robust Decision Making on Climate & Energy Policy (RDCEP) Working Paper Series, 1-8, 2013.

EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3 ed. rev. ampl. – Brasília, DF, 2013.

EYIDOĞAN, F.; OZ, M. T. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29, 485-493, 2007.

FERNANDES, B.; SYKES, D. J. Capacidade de campo e retenção de água em três solos de Minas Gerais. *Revista Ceres*, v. 15, p. 1-39. 1968.

GIANNOPOLITIS CN, RIES SK. Superoxide dismutases I: occurrence in higher plants. *Plant Physiol* 59:309–314, 1977.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Csp. Stn. Univ. Calif. Berkeley Cir.* p. 137:147, 1950.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 60, 110-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.006>. PMID:17643271, 2007.

JALEEL, C.A.; RIADH, K.; GOPI, R.; MANIVANNAN, P.; INÈS, J.; AL-JUBURI, H.J.; CHANG-XING, Z.; HONG-BO, S.; PANNEERSELVAM, R. (2009) Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologie Plantarum*, v. 31, p. 427-436.

LEE, S. C.; KANG, B. G.; OH, S. E. Induction of ascorbate peroxidase by ethylene and hydrogen peroxide during growth of cultured soybean cells. *Molecules and Cells*, 9, 166-171. PMID: 103404, 1999.

LI, C.; SUN, W. Q. Desiccation sensitivity and activities of free radical scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 209-217, Mar. 1999.

LI, S. X.; WANG, Z. H.; STEWAR, B. A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. *Advances in Agronomy*, San Diego, v. 118, p. 205– 397, 2013.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.*, San Diego, v.148, p. 362-385, 1987.

LIMA, P. C. C. Fisiologia do Estresse em Pimenteiras *Capsicum annuum* L. Ornamentais. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Viçosa Minas Gerais, 2015.

MANIVANNAN, P.; JALEEL, C.A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* L. under triadimefon drenching. *Comptes Rendus Biologies*, v.331, p.418-425, 2008.

MARTINELLE, L. A. Element interactions in Brazilian landscapes as influenced by human interventions. In: MELILLO, J.; FIELD, C. B.; MOLDAN, B. *Scope 60: Interactions of the major biogeochemical cycles: Global change and human impacts.* [S.I.]: Islands Press, P. 193-210. 2003.

MATOS, F.S.; OLIVERIA, L.R.; FREITAS, R.G.; EVARISTO, A.B.; MISSIO, R.F.; CANO, M.A.O. Physiological characterization of leaf senescence of *Jatropha curcas* L. populations. Biomass and Bioenergy, Oxford, v.45, n.10, p.57-64, 2012.

MORAIS, R.R.; GONÇALVES, J.F.C.; SANTOS JÚNIOR, U.M.; DUNISCH, O.; SANTOS, A.L.W. Chloroplastid pigment contents and chlorophyll a fluorescence in amazonian tropical three species. Revista Árvore, v. 31, n. 5, p. 959-966, 2007.

MORO, A. L.; BROETTO, F.; MORO, E. Relação Hídrica e Teor de Clorofila em dois Cultivares de Arroz Submetido à Deficiência Hídrica e Adubação Silicatada. Irriga, Botucatu, v. 20, n. 3, p. 570-586, julho - setembro, 2015.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol 22:867–880, 1981.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V. de; BURITY, H. A.; NETO, E. B. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.13, n.1, p.75-87, 2001.

PATTERSON, K. et al. Distinct signalling pathways and transcriptome response signatures differentiate ammonium- and nitrate-supplied plants. Plant, Cell and Environment, Oxford, v. 33, n. 9, p. 1486-1501, 2010.

PINCELLI, R.P. Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas. 2010. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010. 78p.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, v. 161, p. 1189-1202, 2004.

SANKAR, B.; JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces, 60, 229-235, 2007.

SHAN, A. Y. K. V. et al. Assimilação metabólica de nitrogênio em plântulas de seringueira cultivadas com nitrato ou amônio. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 47, n. 6, p. 754-762, 2012.

SHIMIZU, J. Espécies não tradicionais para plantios com finalidades produtivas e ambientais: Silvicultura e usos. In: Espécies Não Tradicionais para Plantios com Finalidades Produtivas e Ambientais, 1., 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: Embrapa Florestas, 1998. p.64-71.



SILVA, M. de A.; SANTOS, C. M dos; VITORINO, H. dos S. RHEIN A. F. de L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em canade-Açúcar. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 30, n. 1, p.173-181. 2014.

SILVA, F. A. S. Assistat Versão 7.7 beta - Homepage <http://www.assistat.com> DEAGCTRN-UFCG, 2013.

SILVA, J. R. R. Comportamento ecofisiológico de plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) sob dois regimes hídricos. 2009. 40f. Dissertação Mestrado em Agronomia – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

SILVA, M. de A.; SANTOS, C. M. dos; VITORINO, H. dos S.; RHEIN, A. F. de L. Pigmentos fotossintéticos e índice spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. Bioscience J., Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.

SILVA, P. A.; OLIVEIRA, I. V.; RODRIGUES, K. C. B.; COSME, V. S.; BASTOS, A. J. R.; DETMANN, K. S. C.; CUNHA, R. L.; FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A. Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm hybrids. Trees, online, published 18 september 2015.

SIRIPORNADULSIL, S; TRAINA, S; SAYRE, R. T. Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. Plant Cell, Rockville, v.14, p.2837–2847, 2002.

SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. Springer Verlag, p. 449, 1979.

SOARES, L. A. dos A.; BRITO, M. E. B.; FERNANDES, P. D.; LIMA, G. S. de L.; SOARES FILHO, W. dos S.; OLIVEIRA, E. S. de. Crescimento de combinações copa - porta-enxerto de citros sob estresse hídrico em casa de vegetação. Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental, v.19, n.3, p.211–217, 2015.

SOUSA, A. E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; GHEYI, H. R.; NETO, M. C. L.; LACERDA, C. F. de; SOARES, F. A. L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão-mansão irrigado com águas residuária e salina. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.47, n.10, p.1428-1435, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

VAIDYANATHAN, H., SIVAKUMAR, P., CHAKRABARTY, R., & THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) - Differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. Plant Science, 165, 1411-1418, 2003.