



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

ELLEN GLEYCE DA SILVA LIMA

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM FOLHAS DE ANDIROBA
(*Carapa guianensis* Aubl.) SOB TRÊS REGIMES HÍDRICOS E SUSPENSÃO DOS
ESTRESSES**

Belém-PA

2015



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

ELLEN GLEYCE DA SILVA LIMA

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM FOLHAS DE ANDIROBA
(*Carapa guianensis* Aubl.) SOB TRÊS REGIMES HÍDRICOS E SUSPENSÃO DOS
ESTRESSES**

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: Cândido Ferreira de Oliveira Neto

Co-orientador: Roberto Cezar Lobo da Costa

Belém-PA

2015

Lima, Ellen Gleyce da Silva

Respostas ecofisiológicas e bioquímicas em folhas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) sob três regimes hídricos e suspensão dos estresses / Ellen Gleyce da Silva Lima. - Belém, 2015.

59 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2015.

1. *Carapa guianensis* Aubl. – estresse hídrico 2. *Carapa guianensis* Aubl. – respostas bioquímicas 3. *Carapa guianensis* Aubl. – aspectos ecofisiológicos I. Título.

CDD – 634.987



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

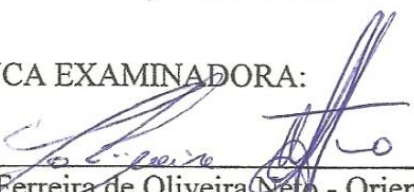
ELLEN GLEYCE DA SILVA LIMA

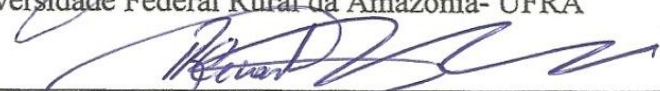
RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM FOLHAS DE
ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) SOB TRÊS REGIMES HÍDRICOS E
SUSPENSÃO DOS ESTRESSES

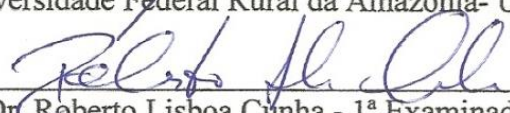
Dissertação apresentada a Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Ciências Florestais, para obtenção do título de **Mestre**.


Aprovada em 20 de janeiro de 2015

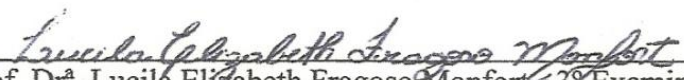
BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto - Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA


Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa – Co- Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA


Dr. Roberto Lisboa Cunha - 1ª Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia-EMBRAPA


Prof. Dr. Heráclito Eugenio Oliveira da Conceição - 2º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA Capitão Poço


Prof. Dr. Lucila Elizabeth Fragoso Monfort - 3ª Examinadora
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA Capitão Poço

Dedicatória

“Imagine a vida como um jogo no qual você tem que equilibrar cinco bolas ao mesmo tempo: o trabalho, a família, a saúde, os amigos e a vida espiritual. Você não pode deixar nenhuma delas cair. Logo você perceberá que o trabalho é uma bola de borracha, se ela cair, depois volta e dá para pegar novamente. Porém as outras quatro bolas – a família, a saúde, os amigos e a vida espiritual – São feitas de vidro. Se uma delas cair no chão, ficará irremediavelmente arranhada, marcada, prejudicada, ou mesmo quebrada. Nunca mais será a mesma. É preciso compreender isso e se esforça para dar equilíbrio a vida, caso contrário, de nada valerá a pena.”

Brian Dyson

DEDICO

Primeiramente a Deus pelo dom da vida e por todas as bênçãos recebidas. À minha mãe Maria do Socorro da Silva, pelo amor que me mostrou a direção correta e me ensinou a ter fé na vida. À meu amado filho Kayke Lorrán da Silva Almeida, À minha família: Raimundo Nonato Martins, Kellen Joçana da Silva Lima, Gleydson Patrik da Silva Lima, Leonardo da Silva Martins, ao sobrinho que está vindo, pelo apoio, confiança e motivação incondicional. Que sempre me impulsiona em direção às vitórias dos meus desafios.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por mais esta vitória, por sempre guiar o meu caminho, pela saúde, força e por todas as bênçãos derramadas sobre mim e minha família.

A Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pela oportunidade e incentivo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao curso, aos coordenadores e aos professores do programa Mestrado em Ciências Florestais.

Ao Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto muito obrigada pela ajuda, ensinamentos, orientações e contribuições. Por me receber em seu laboratório de portas abertas e sempre estar à disposição, respondendo minhas dúvidas e me incentivando a acreditar que tudo daria certo. Realmente, deu certo, e você é parte essencial desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa, pela co-orientação, pela sabedoria repassada, pela atenção, críticas e sugestões valiosas a este trabalho, e pela amizade e paciência, meu muito obrigada.

Aos Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição e Dr^a. Lucila Elizabeth Fragoso Monfort, e ao Dr. Roberto Lisboa Cunha, pelas contribuições, críticas e sugestões valiosas ao trabalho.

Ao meu namorado Bruno Maltarolo, que sempre me apoiou com dedicação, carinho, pelos incentivos, pela força nos momentos de fraqueza, pela paciência e ajuda a cada momento, a cada dia dessa caminhada. Por acreditar que tudo daria certo no final, mesmo quando a esperança era quase nula. Pelo ouvido que escutou tantas reclamações e pelas risadas que amenizavam o stress diário.

Ao meu filho querido Kayke Lorrán, pela compreensão da ausência e pelo amor que me acolhia sempre.

A minha família pelo apoio e compreensão nas horas em que mais precisei, muito obrigada.

Aos “Bonitos de Corpo” do laboratório de Fisiologia Vegetal (EBPS), apelido que carinhosamente aceitaram, Kerolém Cardoso, Thays Costa, Jéssica Martins, Vitor Rezende, Vitor Batista, Dielle Teixeira, Wander Ataíde, Karollyne Silva, Luciana Sousa, muito obrigada pelas conversas, risadas, ajuda e companheirismo.

Aos amigos que passaram pelo laboratório, Susana Conceição e Lucas Gatti, pelo carinho, amizade e os bons momentos compartilhados.

Em especial aos amigos da equipe “miojo com sardinha” sem vocês as horas de sufoco seriam bem piores, obrigada pela amizade que me ajuda a dividir os problemas e a somar alegrias.

Ao amigos Glauco Nogueira e Tamires Borges, pela amizade doce e prestativa, pelo companheirismo nessa caminhada, vocês foram fundamentais nesse último ano de trabalho, desde os pequenos até os grandes problemas, obrigada por nunca me negar ajuda.

Aos estagiários do laboratório de fisiologia vegetal da UFRA- Capitão Poço, pela ajuda nas análises bioquímicas.

Aos funcionários da UFRA.

As amigas de longa data Natália Mafra e Mayara Martins, pela ajuda, pelos conselhos e pela força dada durante todos esses anos, desde a graduação até os dias de hoje, amigas para todos os momentos, muito obrigada.

Aos amigos e colegas de turma, pelo companheirismo e amizade.

À Milena, secretária do programa Mestrado e Doutorado em Ciências Florestais, por todo apoio e atenção dada.

E a todos aqueles que me auxiliaram direta e indiretamente para a concretização desta dissertação.

Sumário	
RESUMO GERAL.....	10
ABSTRACT.....	11
CONTEXTUALIZAÇÃO.....	8
REFERENCIAS.....	14
Capítulo 1.....	18
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÕES.....	30
FIGURAS.....	32
FIGURA 1: Potencial Hídrico Antemanhã (A), Teores de ácido Abscísico (B), Condutância estomática (C) e Transpiração (D) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas mostram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. E a seta indica o momento da suspensão do estresse.....	32
FIGURA 2: Teores de Amido (A), teores de sacarose (B) e teores de carboidratos solúveis totais (C) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas mostram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. E a seta indica o momento da suspensão do estresse.....	33
REFERENCIAS.....	34
Capítulo 2.....	36
RESUMO.....	36
INTRODUÇÃO.....	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
MATERIAL E MÉTODOS.....	43
CONCLUSÕES.....	47
REFERENCIAS.....	48
FIGURAS.....	52
Figura 1. Potencial hídrico de antemanhã (A), teores de nitrato (B), atividade da redutase do nitrato (C) e teores de amônio livre (D) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidades, onde as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas ou minúsculas não diferem entre si, as barras representam os desvios padrões das médias.....	52

Figura 2. Teores de aminoácidos solúveis totais (A), teores de prolina (B) e teores de glicina betaina (C) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidades, onde as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas ou minúsculas não diferem entre si, as barras representam os desvios padrões das médias. 53

ANEXOS54

Anexo 1. Normas para submissão de artigo, revista Scientia Forestalis. 54

Anexo 2. Normas para submissão de artigo, revista Australian Journal of crop science. 56

RESUMO GERAL

A andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) é uma espécie arbórea que apresenta variações em seus processos fisiológicos a partir de condições edafoclimáticas induzidas, como falta ou excesso de água. Assim, o objetivo desse trabalho foi determinar alguns mecanismos ecofisiológicos e bioquímicos de tolerância ao estresse hídrico por deficiência hídrica e alagamento, principalmente no que concerne à assimilação de carbono e nitrogênio, concentrações de compostos orgânicos, e enzimas, envolvidas nesses processos e a capacidade de recuperação com a suspensão dos estresses hídricos. O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia, campus de Capitão Poço, PA. Plantas jovens de andiroba provenientes de sementes foram fornecidas pela AIMEX com quatro meses de idade e foram acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 20L. O substrato utilizado foi latossolo amarelo distrófico e esterco bovino curtido na proporção de 3:1, respectivamente. O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x5 (três condições hídricas: controle, déficit hídrico e alagamento; e 5 períodos de avaliação: 0, 10, 20, 30 e suspensão do estresse hídrico após 72h) com 5 repetições, totalizando 75 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foram observadas diminuições significativas no potencial hídrico, na condutância estomática, transpiração e teores de amido, concentração de nitrato e a atividade da enzima redutase do nitrato aRN. O estresse hídrico induziu um acréscimo expressivo nas concentrações de ABA, carboidratos solúveis totais, sacarose, teores de amônio, teores de aminoácidos, prolina e glicina betaina esses resultados foram mais expressivos nas plantas sob deficiência hídrica, com valores expressivos no 30º dia do experimento, as plantas sob alagamento apresentaram resultados semelhantes às submetidas a deficiência hídrica. A suspensão da irrigação, bem como, o alagamento durante 30 dias, foi suficiente para alterar e provocar um decréscimo nas rotas metabólicas bem como no metabolismo do nitrogênio das plantas jovens de andiroba. O tempo de suspensão do estresse hídrico não foi o suficiente para a espécie retomar os valores iniciais de algumas variáveis analisadas, contudo, as variáveis teores de sacarose, teores de amônio livre e aminoácidos solúveis totais, o período de suspensão do estresse foi o suficiente para que houvesse a retomada dos seus valores iniciais A andiroba é satisfatoriamente tolerante ao estresse hídrico nesse tratamento, porém não apresenta uma rápida recuperação após a suspensão do estresse hídrico, apresentando maior sensibilidade à deficiência hídrica.

Palavras chaves: Estresse hídrico, espécie florestal, respostas bioquímicas, aspectos ecofisiológicos.

ABSTRACT

Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) Is an arboreal species with variations in their physiological processes from induced climate conditions, such as lack or excess water. The objective of this study was to determine some ecophysiological and biochemical mechanisms of tolerance to water stress by water stress and flooding, especially with regard to the assimilation of carbon and nitrogen concentrations of organic compounds and enzymes involved in this process and the ability to recovery with the suspension of water stress. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia, Capitão Poço, PA. The Andiroba young plants from seeds were provided by AIMEX four months old and were placed in plastic pots with a capacity of 20L. The substrate used was oxisol yellow dystrophic, cattle manure in the ratio of 3: 1, respectively. The experimental design was completely randomized in a factorial 3x5 (three water conditions: control, water and flooding deficit and 5 periods reviewed. 0, 10, 20, 30 and suspension of water stress after 72h) totaling 75 experimental units, in which each experimental unit consisted of a plant / pot. Significant decreases were observed in water potential, stomatal conductance, transpiration and starch content, nitrate concentration and reductase activity of the enzyme aRN nitrate. Water stress induced a significant increase in ABA concentrations, total soluble carbohydrates, sucrose, ammonium levels, amino acid contents, proline and glycine betaine these results were more expressive in plants under water stress, with significant values on the 30th day of the experiment, plants under flooding showed similar results to submitted to water deficit. The suspension of irrigation, as well as the flooding for 30 days was enough to change and cause a decrease in metabolic pathways as well as on nitrogen metabolism of young plants of andiroba. And the sleep time was not enough for the species to resume the initial values of the variables. Andiroba is satisfactorily tolerant to water stress in this treatment, but does not show a rapid recovery after the suspension of water stress, with higher sensitivity to water stress.

Keywords: Water stress, forest species, biochemical responses, ecophysiological aspects.

CONTEXTUALIZAÇÃO

Carapa guianensis Aubl. espécie pertencente à família Meliaceae, foi inicialmente coletada na Guiana Francesa e descrita, pela primeira vez, pelo botânico Jean-Baptist Christopher Fuseé Aublet, em 1775 (Homma; Menezes, 2005).

No Brasil diversas denominações populares são empregadas para *Carapa guianensis* Aubl. A andiroba é uma das espécies florestais com grande potencial de exploração madeireira e não madeireira na Amazônia, sendo o seu nome comum (andiroba) atribuído a duas espécies *Carapa guianensis* e *Carapa procera* (Tonini et al.; 2009). O óleo da andiroba, extraído das sementes, tem demanda internacional e é utilizado para iluminação, confecção de sabão e velas, na indústria de cosméticos e na medicina popular, apresentando funções cicatrizantes, antiinflamatórias, antihelmínticas e inseticida nas diversas comunidades do interior da Amazônia. O chá da casca e das folhas é utilizado no tratamento de infecções e de doenças da pele (Shanley; Medina, 2005). São consideradas espécies promissoras para enriquecerem capoeiras, florestas, sistemas agroflorestais e recuperação de áreas úmidas degradadas (Ferraz et al., 2002).

A andiroba possui potencial promissor para se aclimatar às mudanças ambientais previstas em futuro próximo para a maior parte da região amazônica (Camargo; Marengo, 2012). Apresenta maiores densidades em áreas ocasionalmente alagadas (Klimas, 2006). A espécie é bastante plástica o que lhe confere diferenças morfológicas e aptidão para ocupar diferentes nichos, vivendo desde o nível do mar, em áreas permanentemente inundadas (igapó) ou periodicamente inundadas (várzeas), até as matas altas não sujeitas à inundação (350 – 1400 m de altitude). Isso confirma as diferenças morfológicas segundo seu habitat (Bouffleuer, 2004).

Acarretando em uma maior distribuição de espécies com boa adaptabilidade e diferenças morfológicas, como é o caso da *Carapa guianenses* Aubl. É necessário ainda, considerar a diversidade e as peculiaridades das tipologias florestais, os padrões de ocorrência e de distribuição intrínsecos às espécies (Pitman et al., 2001), os efeitos da estrutura espacial sobre a variabilidade genética e o fato de os fatores demográficos e ambientais serem os condicionantes mais importantes da sobrevivência em longo prazo (Widen; Andersson, 1993).

Dentre essas peculiaridades, a água é um dos principais fatores que regula o crescimento e a sobrevivência de plântulas (Tobe et al., 2005). No qual o crescimento é o processo mais importante para se entender as respostas das plantas em relação às mudanças no ambiente, promovendo o alongamento celular, síntese e hidratação de proteínas, e a entrada de nutrientes solúveis do solo (Lambers et al., 1998). A quantidade deste recurso necessário para o

crescimento vai variar de acordo com a espécie, desempenhando um papel importante no padrão de distribuição das espécies (Schütz et al., 2002).

A água é o meio básico de vida e de energia para os seres vivos, muitos nutrientes inorgânicos necessários para muitos organismos, como as plantas, estão dissolvidos na água. O solo é o principal armazenador e fornecedor de água para as plantas, as raízes absorvem água que se aglutina às partículas do solo. Mais próximo à superfície das partículas do solo, existe uma força de atração chamada de potencial de água do solo, que adere mais fortemente a água as partículas do solo (Ricklefs, 2012). A falta de água disponível pode levar a situação em que o vegetal pode sofrer modificações em seu metabolismo e passar por um período de estresse.

Segundo Larcher (2006), estresse é um desvio das condições ótimas de desenvolvimento do vegetal, no qual podem ocorrer mudanças e respostas em parte do organismo ou nele como um todo. No início, essas alterações podem ser reversíveis, mas, dependendo da duração e da situação de estresse, podem ser irreversíveis, levando a danos permanentes ou até à morte. Lichtenthaler (1998) foi mais além e dividiu as respostas ao estresse, criando duas classes distintas: “Eu-stress” e “dis-stress”. O “eu-stress” é o que estimula e ativa elementos positivos no vegetal, melhorando seu desenvolvimento, enquanto que o “dis-stress” é aquele que causa problemas e afeta negativamente o vegetal, causando danos ou levando à morte.

De acordo com as previsões ambientais para as próximas décadas, haverá mudanças drásticas, com a falta ou o excesso de água, pois possivelmente haverá aquecimento global, ocasionando secas, alagamento por derretimento de geleiras, e conseqüentemente irá prejudicar a produção mundial de muitos vegetais que tanto economicamente como ecologicamente contribuem para o equilíbrio ambiental. Diante desta possibilidade, desde já, vêm se desenvolvendo pesquisas de espécies tolerantes ao estresse hídrico para superarem as condições adversas durante os períodos prolongados de estresse, produzindo quantidades de produtos suficientes para suprir as necessidades da população e amenizando os impactos (Nepomuceno et al., 2001; Juvenal; Mattos, 2002).

Devido ao aumento da conscientização ambiental, e do interesse em pesquisas com espécies arbóreas nativas, tem-se dado mais importância à recuperação de áreas degradadas e/ou reflorestamento (José, 2003). Porém, o custo dessas pesquisas torna-se elevado diante da necessidade de replantio decorrente dos altos índices de mortalidade das mudas. Na maioria dos casos, esse problema ocorre devido à falta de conhecimento dos aspectos ecofisiológicos das espécies e dos regimes hídricos, sujeitando-as a áreas propensas a estresses ambientais aos quais não estão adaptadas (Carvalho Filho et al., 2003).

Essas pesquisas visam determinar, caracterizar e criar formas de proteção e manutenção das florestas. Além disso, as plantas possuem mecanismos que podem resistir a esses estresses hídricos como: redução da perda de água através de controle estomático e alterações morfológicas; aumento na extração de água do solo e; aumento da capacidade de tolerar baixo potencial hídrico (Nilsen; Orcutt, 1996) onde o fechamento estomático é devido diretamente à baixa pressão de turgor nas células guardas (Maroco et al., 1997), resultante da produção de ácido abscísico (ABA) pela raiz (Fort et al., 1997) em resposta a deficiência hídrica, ou pode ser influenciado também pela radiação solar, concentração de CO₂ na atmosfera e a temperatura do ar (Machado et al., 2002), restringindo a entrada de CO₂ nas folhas que resulta na inibição ou diminuição da atividade fotossintética (Chaves et al., 2002).

Condições temporárias ou permanentes de alagamento (formação de lâmina de água) ou encharcamento (saturação com água) do solo são problemas globais que podem trazer sérios prejuízos para o desenvolvimento silvicultural. Embora em diversas regiões, sejam eventos raros, em outras podem ser um problema crônico, constantemente enfrentado pelos produtores (Dias-filho, 1998).

No decorrer do processo evolutivo, espécies tolerantes desenvolveram uma variedade de estratégias que as capacitaram a ocupar áreas sujeitas ao alagamento do solo. Dentre estas estratégias, ocorrem alterações morfoanatômicas que auxiliam a aeração interna da planta (Medri et al., 1998), e alterações metabólicas, com diminuição no consumo de energia, ativação de rotas anaeróbias e menor investimento no crescimento (Medri et al., 1998). Na maioria das espécies, a estratégia de sucesso combina respostas morfológicas, anatômicas e fisiológicas (Joly, 1991).

Algumas respostas das plantas ao alagamento podem incluir senescência foliar, redução no crescimento de caules e raízes, desenvolvimento de raízes adventícias, formação de aerênquima e hipertrofia de lenticelas (Kozlowski, 1997). O fechamento estomático, danos no fotossistema II e a diminuição na fotossíntese também são respostas comuns à deficiência de oxigênio no solo causada pelo alagamento (Pezeshki, 1993). Limitações estomáticas e não estomáticas são responsáveis pelo decréscimo na fotossíntese (Kozlowski, 1997).

Dentre as respostas fisiológicas, a redução na condutância estomática (gs) é a estratégia mais eficiente para restringir ou reduzir as perdas de água pelas folhas via transpiração. Quando o grau de abertura estomática diminui, o movimento (ou perda) de vapor d'água pela planta através da transpiração é reduzido ou limitado. Dentre os fatores que governam o mecanismo de abertura e fechamento estomático, faz-se referência àqueles intrínsecos à planta, como os

efeitos do ácido abscísico, ou àqueles relacionados ao ambiente circundante, como os efeitos do potencial hídrico do solo (Kozlowski; Pallardy, 1997).

Bem como, as condições de deficiência hídrica a resposta da planta à seca é caracterizada por mudanças fundamentais na relação da célula com a água, nos seus processos fisiológicos, na estrutura de membranas e de organelas, além das mudanças morfológicas e fenológicas da planta, alterando, com isso, a relação do seu dossel com o ambiente. Na planta, o efeito do estresse é geralmente percebido como um decréscimo na fotossíntese líquida e crescimento e está associado com alterações no metabolismo do carbono e nitrogênio (Yordanov et al., 2000).

A aclimação a deficiência hídrica ocorre devido ao acúmulo de compostos osmoticamente compatíveis (por exemplo, betaínas, prolina), através de osmorregulação (Larcher et al. 2006). A falta de água do solo, a transpiração excessiva gera um déficit hídrico nas folhas estimulando o fechamento dos estômatos, que reduz a transpiração (Larcher 2006). Com relação às alterações morfológicas decorrentes da seca, a paralisação do crescimento da parte aérea é uma resposta primária, de forma que novas folhas deixam de ser emitidas ou uma maior abscisão foliar é observada. Essas estratégias colaboram na economia hídrica por diminuir a superfície de transpiração e aumentar a eficiência do uso da água (Kozlowski; Pallardy, 1997; Damatta et al., 2003).

As respostas bioquímicas de plantas ao déficit hídrico ressalta-se a capacidade de síntese e/ou acúmulo de determinados compostos com propriedades osmóticas ativas como, por exemplo, a prolina (Carvalho, 2005; Silva et al., 2004), a glicina-betaína (Ashraf; Foolad, 2007), os aminoácidos solúveis (Carvalho, 2005), os carboidratos solúveis e a sacarose (Chaves filho; Stacciarini-seraphin, 2001), dentre outros. O acúmulo desses solutos, que ocorre preferencialmente no citoplasma, diminui o potencial osmótico das células das folhas e, por conseguinte, seu potencial hídrico. Como resultado, um incremento no gradiente de potencial hídrico entre parte aérea – raízes – solo é observado e isto favorece a absorção e transporte de água do solo para a parte aérea, corroborando para a manutenção do turgor celular. Este processo é denominado de ajuste ou ajustamento osmótico (Kozlowski; Pallardy, 1997).

Partindo do princípio da multidisciplinaridade, estudos em Fisiologia Vegetal têm contribuído bastante no processo evolutivo da Silvicultura, tornando-se uma ferramenta imprescindível para a compreensão dos processos fisiológicos das espécies arbóreas, bem como das interações das plantas com o ambiente. Dessa forma, esta área de estudo pode contribuir, na seleção de espécies promissoras com maior capacidade produtiva, através da elaboração de

fichas de descritores fisiológicos que as classifiquem como tolerantes e adaptadas aos diversos fatores de estresses ambientais (Nascimento, 2013).

Embora seja notório o aumento de pesquisas abordando a fisiologia de espécies arbóreas nativas, estudos avaliando a tolerância desses vegetais a estresses abióticos ainda são escassos, o que dificulta a compreensão da caracterização de tolerância ou sensibilidade aos estresses existentes em ambientes naturais, por exemplo, o desenvolvimento de mecanismos de tolerância à seca, ao alagamento, salinidade, deficiência nutricional, etc. (Nascimento, 2009).

Todavia, o custo com pesquisas que venham minimizar essa necessidade tem-se tornado elevado pois há um grande número de replantio decorrente dos altos índices de mortalidade das mudas. Na maioria dos casos, esse problema ocorre devido à falta de conhecimento dos aspectos ecofisiológicos das espécies e dos regimes hídricos, sujeitando-as a áreas propensas a estresses ambientais aos quais não estão adaptadas (Carvalho filho et al., 2003). Por outro lado, embora sejam poucas as informações, há trabalhos nessa área com plantas cultivadas sob condições hídricas normais.

Objetivo Geral:

Avaliar as alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica, alagamento e a recuperação com a suspensão do estresse.

Objetivos Específicos:

- a. Verificar a influência do estresse hídrico sob as trocas gasosas e metabolismo do carbono.
- b. Analisar os efeitos do estresse hídrico sobre o metabolismo do nitrogênio.

Hipóteses testadas foram:

H0: O estresse hídrico promoverá alterações nas trocas gasosas e no metabolismo do carbono em plantas jovens de andiroba.

H0: O estresse hídrico causará alterações no metabolismo nitrogenado em plantas jovens de andiroba.

H0: As plantas jovens de andiroba são tolerantes ao alagamento e a deficiência hídrica, e sofrerão igualmente com o estresse.

REFERENCIAS

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, v. 59, p. 206-216, 2007.

BOUFLEUER, N.T. Aspectos ecológicos da andiroba (*Carapa guianensis* Aublet. Meliaceae) subsidios para o manejo. 2004. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais) –Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2004.

CAMARGO, M. A. B.; MARENCO, R. A. Growth, leaf and stomatal traits of crabwood (*Carapa guianensis* Aubl.) in central Amazonia. *Revista Árvore*, v.36, n.1, p.07-16, 2012.

CARVALHO FILHO, J. L. S.; ARRIGONI, M. F.; FITZGERALD; A.; ALVES, M. S. Produção de mudas de jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. *CERNE*, v.9, n.1, p. 109-118, 2003.

CARVALHO, C.J.R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. *Revista Árvore*, v. 29, p. 907-914, 2005. 1, p.10.

CHAVES FILHO, J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

CHAVES, M.M., PEREIRA, J.S.; MAROCO, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSORIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botanic, London*, v. 89, p.907-916, 2002.

DAMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; PINHEIRO, H.A.; DUCATTI, C.; LOUREIRO, M.E. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, v. 164, p. 111-117, 2003.

FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. Sementes e Plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera* D.C.): Aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. *Acta Amazônica*, 32(4): 647-661, 2002.

FORT, C.; FAUVEAU, M. L.; MULLER, F.; LABEL, P.; GRANIER, A.; DREYER, E. Stomatal conductance, growth and root signalling in young oak seedlings subjected to partial soil drying. *Tree Physiol*, 17:281–289, 1997.

JOLY, C. A. Flooding tolerance in tropical trees. In: JACKSON, M. B.; DAVIES, D. D.; LAMBERS, H. (Ed.). *Plant life under oxygen deprivation: ecology, physiology and biochemistry*. The Hague: SBP Academic Publishing, p. 23-34, 1991.

JOSÉ, A. C. Utilização de mudas de espécies florestais produzidas em tubetes e sacos plásticos para revegetação de áreas degradadas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 101f, 2003.

JUVENAL, T. L.; MATTOS, R. L.G. O setor florestal no Brasil e a importância do reflorestamento. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 16, p. 3-30, 2002.

HOMMA, A. H. O.; MENEZES, A. J. E. A. O histórico do sistema extrativo e a extração de óleo de andiroba cultivado no município de Tomé-Açu, Estado do Pará. In: XLIII CONGRESSO DA SOBER “Instituições, Eficiência, Gestão e Contratos no Sistema agroindustrial”, Ribeirão Preto, 2005.

KLIMAS, C. A.; AZEVEDO, V. R.; CORREIA, M. F.; WADT, L. H. O. ; KAINER, K. A. Estrutura populacional e dinâmica da regeneração de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) em dois tipos de ambiente, em Rio Branco, Acre. In: Anais/10 Seminário do projeto Kamukaia manejo sustentável de produtos não-madeireiros na Amazônia. Rio Branco-AC: EMBRAPA Acre, 182 p., 2008.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. Physiology of Woody Plants. Academic Press, San Diego, p. 411, 1997.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos, Rima, 2006.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S.; PONS, T.L. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, Berlin. 540p, 1998.

LICHTENTHALER, H. K. The stress concept in plants: An introduction. Annals of New York Academy of Sciences, v. 851, p. 187-198. 1998 B.

MACHADO, C. E.; MEDINA, C.L.; GOMES, M.M.A. et. Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranjeira Valência. Scientia Agricola, v.59, n.1, p.53-58, 2002.

MAROCO, J. P., PEREIRA, J. S., M. M. CHAVES. Stomatal responses of leaf-to-air vapour pressure deficit in *Sahelian* species. Australian Journal of Plant Physiology., 24, 381–387, 1997.

MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; DELGADO, M. T.; CORREA, G. T. Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de *Peltophorum dubium* (Spr.) Taub. submetida ao alagamento e aplicação de ethrel. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 261-267, 1998.

NASCIMENTO, H. H. C. Caracterização Ecofisiológica de Mudanças de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas a déficit hídrico. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2009.

NASCIMENTO, H. H. C. do; Mecanismos fisiológicos e bioquímicos em mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), sob condições adversas. Tese (Doutorado em Ciências Florestais), Universidade Federal Rural de Pernambuco Recife, 2013.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância a seca em plantas - Mecanismos fisiológicos e moleculares. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. n. 23, p.12-18, 2001.

NILSEN, E.; ORCUTT, D. The physiology of plants under stress. New York: John Wiley & Sons, p.704,1996.

PEZESHKI, S. R. Differences in patterns of photosynthetic responses to hypoxia in flood tolerant and flood-sensitive tree species. Photosynthetica, Olomouc, v. 28, n. 3, p. 423-430, 1993.

PITMAN, N.C.A.; TERBORGH, J.W.; SILMAN, M.R.; NÚÑEZ, P.V.; NEILL, D.A.; CERÓN, C.E.; PALACIOS, W.A.; AULESTIA, M. Dominance and distribution of tree species in upper Amazonian terra firme forests. Ecology, Washington, v.82, p.2101–2117, 2001.

RICKLEFS, R. E. A economia da natureza. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 546p. 2012.

SILVA, E.C.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; AZEVEDO NETO A.D.; BRITO J.Z.; CABRAL E.L. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. Iheringia, v. 59, p. 201-205, 2004.

SCHÜTZ, W.; MILBERG, P.; LAMONT, B.B. Germination responses and seedling responses to water availability and soil type in four eucalypt species. Acta oecologica, 23: 23-30, 2002.

SHANLEY, P. Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.). In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. Belém: Cifor, p. 41-50, 2005.

WIDEN, B.; ANDERSSON, S. Quantitative genetics of life-history and morphology in a rare plant, *Senecio integrifolius*. Heredity, London, v.70, p.503-514, 1993.

TOBE, K.; ZHANG, L.; OMASA, K. Annals of Botany, 95: 649-659, 2005.

TONINI, H.; PAULO P. C.; KAMISKI, E. Estrutura, distribuição espacial e produção de sementes de andiroba (*Carapa guianensis* aubl.) no Sul do estado de Roraima *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 19, n. 3, p. 247-255, jul.-set., 2009.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthetica*, v. 38, n. 1, p. 171-186. 2000.

Capítulo 1

Respostas Ecofisiológicas e Bioquímicas em Folhas de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.).
Sob Três Regimes Hídricos e Suspensão dos Estresses.

Manuscrito formatado para Scientia Forestalis.

Trocas gasosas e metabolismo do carbono em folhas de andiroba (*Carapa guianensis* aubl.) Sob três regimes hídricos e suspensão dos estresses.

**Exchange of gases and metabolism in leaves of carbon andiroba (*Carapa guianensis* aubl.)
In three mechanisms and suspension of water stress.**

RESUMO

A andiroba é uma espécie arbórea que apresenta variações em seus processos fisiológicos a partir de condições edafoclimáticas induzidas, como falta ou excesso de água. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do déficit hídrico e alagamento nas trocas gasosas, ácido abscísico, teores de amido, teores de carboidratos solúveis totais, sacarose em folhas de andiroba com sete meses de idade e a capacidade de recuperação dessas plantas jovens após a suspensão dos estresses. O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão Poço, PA. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x5 (três condições hídricas: controle, déficit hídrico e alagamento; e 5 períodos de avaliação: 0, 10, 20, 30 e suspensão do estresse hídrico após 72h.) com 5 repetições, totalizando 75 unidades amostrais. Foram observadas diminuições significativas no potencial hídrico, na condutância estomática, transpiração e teor de amido, e aumento significativo nos teores de ABA, carboidratos solúveis totais e sacarose, com valores expressivos no 30º dia do experimento. Após a suspensão do estresse, as plantas não conseguiram recuperar os valores iniciais de todas as variáveis analisadas. A andiroba é satisfatoriamente tolerante aos estresses hídricos impostos nesse experimento, porém não

apresenta uma rápida recuperação após a suspensão do estresse hídrico, apresentando maior sensibilidade à deficiência hídrica.

Palavras-chave: Alagamento, déficit hídrico, osmorreguladores.

ABSTRACT

Andiroba is a tree species with variations in their physiological processes from soil and climatic conditions induced, such as lack or excess water. The objective of this study was to evaluate the effects of drought and flooding in gas exchange, abscisic acid, starch, total soluble carbohydrates, sucrose in Andiroba leaves with seven months of age and resilience of these young plants after cessation of stress. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia, Capitão Poço, PA. The experimental design was completely randomized in a factorial 3x5 (three water conditions: control, water and flooding deficit and 5 periods reviewed. 0, 10, 20, 30 and suspension of water stress after 72h) with 5 repetitions, totaling 75 sample units. Significant decreases were observed in water potential, stomatal conductance, transpiration and starch content, and significant increase in ABA content, total soluble carbohydrates and sucrose, with significant values on the 30th day of the experiment. After the water stress, the plants failed to recover the initial values of all variables, recovering only the sucrose levels. Andiroba is satisfactorily tolerant to water stress imposed in this experiment, but does not show a rapid recovery after the suspension of water stress, with higher sensitivity to water stress.

Keywords: flooding, drought, osmoregulators.

INTRODUÇÃO

Carapa guianensis Aubl. é uma das espécies com grande potencial de exploração madeireira e não madeireira na Amazônia, sendo o seu nome comum andiroba (Tonini et al., 2009). Além disso, a andiroba possui potencial promissor para se aclimatar às mudanças ambientais previstas em futuro próximo para a maior parte da região amazônica (Camargo; Marengo, 2012).

A seleção de espécies tolerantes ao estresse hídrico é de fundamental importância para o sucesso da atividade florestal, em áreas sob condição hídrica acentuada, uma vez que o crescimento e o desenvolvimento das plantas são afetados por fatores bióticos e abióticos, dentre eles a temperatura e o conteúdo de água no solo (Streck, 2002).

Em regiões com diferentes características de clima e solo, vem sendo utilizadas medições de trocas gasosas em plantios florestais para avaliar as respostas primárias de produtividade dessas espécies diante as variações diurnas e sazonais (Waring; Landsberg, 2011). O principal mecanismo de controle das trocas gasosas é o movimento estomático nas plantas superiores. Para a maioria das espécies, o fechamento estomático ocorre após reduções da disponibilidade hídrica do solo (Taiz; Zeiger, 2013).

Quando submetidas ao alagamento, promovem a redução das taxas transpiratórias, diminuem seu rendimento energético e produzem sinais metabólicos de diferentes tipos, em resposta ao decréscimo dos níveis de oxigênio, alterando seu crescimento e anatomia, visando sua sobrevivência (Bailey-Serres; Voesenek 2008).

Como mecanismo de defesa, dos estresses hídricos, as plantas geralmente promovem o aumento dos carboidratos solúveis totais para a manutenção do crescimento, além de serem também osmorreguladores, ou seja, mantêm a água por mais tempo dentro do tecido vegetal (Freitas, 2014).

A andiroba é uma espécie arbórea que apresenta variações em seus processos fisiológicos a partir de condições edafoclimáticas induzidas, como falta ou excesso de água. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do déficit hídrico e alagamento nas trocas gasosas e metabolismo do carbono em folhas de andiroba e recuperação após o período de estresse.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Campus de Capitão Poço - PA. Plantas jovens de andiroba 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 20L. O substrato usado foi constituído por latossolo amarelo distrófico, esterco bovino curtido na proporção de 3:1, respectivamente. Antes do início dos tratamentos, todas as plantas foram colocadas sob sombrite 50 %, irrigadas diariamente durante um mês para mantê-las na capacidade de campo e aclimação (Fernandes; Sykes, 1968). Adicionando-se 200 mL de macro e micronutrientes a cada 15 dias até o início do experimento, na forma de solução nutritiva (Hoagland; Arnon, 1950), modificada no laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), UFRA.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 x 5 (três condições hídricas: controle, deficiência hídrica e alagamento, e cinco tempos de avaliação 0, 10, 20, 30 dias e suspensão do estresse hídrico após 72h), com 5 repetições, totalizando 75 unidades experimentais. O potencial hídrico (Ψ_{am}) foi determinado entre 4:30 e 5:30 h, por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co, Albany, USA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2007). Como amostras, folíolos maduros

e completamente expandidos foram selecionados do segundo ou terceiro par de folhas maduras a partir do ápice, destacados com auxílio de uma lâmina de barbear, entre 9:00 e 11:00 h, armazenados em sacos de polietileno umedecidos e transportados sob gelo até o laboratório para as análises, em um tempo máximo de 60 minutos, e imediatamente congeladas (aproximadamente -20 °C) para posteriores análises bioquímicas. Após a coleta das amostras, todas as plantas foram irrigadas ao final da tarde e, na antemã seguinte, 12 h após a retomada da irrigação, o Ψ_{am} foi novamente determinado, as trocas gasosas avaliadas e as amostras foliares coletadas, conforme descrito anteriormente, a fim de verificar a capacidade de recuperação das plantas após cessado o estresse.

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 (SAS- institute, 1996).

ANALISES BIOQUIMICAS

Determinação de ácido abscísico

Extração e Purificação

Descrito por Ross et al. (2004), com algumas modificações. 50 mg de tecidos de folhas secas em estufa de circulação de ar forçado foram macerados em N líquido com 100 % de Polivinil Polipirrolidona (PVPP). Em seguida, foi colocado em 1,5 mL de solvente de extração (acetona/H₂O/ácido acético: 80/19/1). O extrato foi transferido para outro tubo. O almofariz foi lavado com 500 μ L do solvente de extração (acetona/H₂O/ácido acético: 80/19/1) e transferido para o mesmo tubo, adicionando-se 40 mg de (-) -5,8',8',8' -d₄-ABA deuterado. O sobrenadante foi, em seguida, transferido para via injetora.

As análises foram feitas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa no modo de ionização electrospray negativo (HPLC/MS/ESI-). A detecção e quantificação de ABA nas amostras foram feitas mediante o monitoramento de reações múltiplas (MRM) via seleção de transição de massa específica da molécula de interesse (para o ABA, 263 → 153 e, para o ABA d4, 267 → 156).

Determinação das concentrações de amido

O método utilizado para a obtenção das concentrações de amido foi segundo Dubois et al. (1956). Foram feitas duas extrações etanólica de 50 mg da massa seca das folhas em 5,0 mL de etanol 80 %, por 30 min a 80 °C, e com 5,0 mL de HClO₄ 30 % por 30 minutos a 25 °C. Após as extrações centrifugou-se a 2000 rpm por 10 minutos e coletaram-se os sobrenadantes. Sendo estes últimos unidos e aferidos ao volume para 10 mL com água destilada para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram colocados 100 mL do sobrenadante + 400 mL de H₂O destilada e agitando-se em vortex, adicionando-se 0,5 mL de fenol 5 % e agitando no vortex, logo depois foi adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo, com pipeta graduada, 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado e novamente agitado os tubos em vortex e levado após 20 minutos de repouso ao espectrofotômetro a 490 nm.

Determinação de carboidratos solúveis totais (CST)

Carboidratos solúveis totais (CST) foi determinado segundo o método colorimétrico descrito por Dubois et al. (1956), modificado como se segue: Amostras vegetais foram homogeneizadas em 5 mL de água destilada e o homogeneizado resultante incubado a 100 °C, por 30 minutos. Após centrifugação a 700 g, por 10 minutos, o sobrenadante foi coletado e o procedimento de extração repetido por duas vezes. Os sobrenadantes foram combinados e homogeneizados e, do extrato final resultante, uma alíquota de 20 µL foi amostrada para as demais etapas. A cada alíquota foi adicionado 480 µL de água deionizada e, após agitação por

15 minutos, foram adicionados 500 µL de fenol 5 % e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada amostra. Após vigorosa agitação durante 20 minutos, a leitura foi realizada por um espectrofotômetro (Genesys™10 series, Thermo Electron Co, Wisconsin, USA) a 490 nm.

Determinação de sacarose

Para determinação de sacarose o método de Van Handel (1968), sofreu algumas modificações. As amostras foram maceradas em 1,5 ml de MCW (metanol: clorofórmio: água 12: 5: 3, v/v/v) e agitadas por 20 minutos. O homogeneizado foi centrifugado a 500 g, por 30 minutos, à temperatura ambiente. Após a coleta do sobrenadante, foi repetido o processo de extração por duas vezes consecutivas e os sobrenadantes reunidos e seu volume final determinado. Após agitação, aquecimento a 100 °C por 10 minutos e resfriamento em banho de gelo, um volume de 3,0 ml de solução de antrona 0,2 % (em ácido sulfúrico) foi adicionado a cada tubo. A mistura foi agitada e aquecida novamente a 40 °C por 20 minutos e, após resfriamento, a leitura foi realizada a 620 nm por meio de um espectrofotômetro (Genesys™10 series, Thermo Electron Co, Wisconsin, USA).

TROCAS GASOSAS

A condutância estomática ao vapor d'água (gs), 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. Como amostras, folíolos maduros e completamente expandidos foram selecionados a partir de folhas do segundo ou terceiro par contados a partir do ápice.

Após as trocas gasosas, amostras foliares foram coletadas e imediatamente levadas à estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até a secagem para o preparo da farinha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) das plantas mantidas sob deficiência hídrica e alagamento foram reduzidos significativamente com o aumento do número de dias, porém, após suspensão do estresse hídrico a planta não conseguiu se recuperar de imediato (Figura 1A). Os valores para as plantas sob deficiência foram -0,48; -0,89; -1,94, -3,46 e -0,95 MPa, para as plantas sob alagamento os valores são de -0,47, -0,68, -1,07, -2,85 e -0,77 MPa nos tempos de avaliação 0, 10, 20, 30 e suspensão do estresse hídrico após 72 horas, respectivamente. Esses resultados sugerem que a diminuição do Ψ_{am} nas plantas sob deficiência hídrica está relacionada com o tempo em que as plantas jovens ficaram sem receber água.

As plantas com deficiência hídrica apresentaram uma maior redução do potencial hídrico em relação às plantas alagadas, apresentando um menor declínio no 30º dia do experimento implantado, essa diminuição do potencial hídrico é possivelmente devido ao aumento da tensão nos vasos xilemáticos, quanto mais negativo o Ψ_w maior está sendo a força necessária para que a planta absorva do solo a água a ser transportada a parte aérea. Esse transporte pode ser prejudicado dependendo do grau de severidade da deficiência hídrica, na *C. guianensis* Aubl. o transporte após o estresse foi parcialmente prejudicado, pois quando reidratadas as espécies não recuperaram seu potencial inicial que se encontrava entre -0,48 MPa, obtendo uma recuperação de 82,29 %.

Nas plantas sujeitas ao alagamento, a diminuição do potencial hídrico deve estar relacionada com a baixa concentração de O_2 , apesar das raízes estarem submersa totalmente em água, as plantas mostraram uma deficiência de água no tecido foliar. Entretanto, essa diminuição deve ter promovido uma mudança e comportamento do metabolismo da planta, tais como, a fosforilação oxidativa para a fosforilação do ADP para ATP em reações que ocorrem exclusivamente na glicólise e na fermentação, fazendo com que a capacidade de síntese também

mude de 36 ATP, quando da respiração aeróbica, para apenas 2 ATP com a fermentação (Oliveira Neto, 2010). As plantas submetidas ao alagamento demonstraram uma recuperação de 85,24 %, quando comparado com as plantas controle, decorrido apenas 72h após a suspensão do estresse hídrico.

Os teores de ácido abscísico (ABA) nas folhas de andiroba aumentaram, significativamente, com o tempo de estresse hídrico, em comparação as plantas controle (Figura 1B). Os valores de ABA nas plantas irrigadas foram de 48 a 50,14 ng.g⁻¹ MS. As plantas sob déficit hídrico apresentaram valores de 51,89 a 221 ng.g⁻¹ MS e as plantas sob alagamento com 52,16 a 193,16 ng.g⁻¹ MS nos pontos de avaliação 0 a 30 dias. A recuperação para ambos os tratamentos não foi eficaz, pois para as plantas submetidas a deficiência hídrica as plantas jovens apresentaram uma recuperação de 80,35 % e as plantas sob alagamento a recuperação foi de 51,04 %, quando comparadas com as plantas controle.

Segundo Kim e Lieth (2003), um aspecto muito importante nos estudos de estresse e recuperação do “status” hídrico foliar é a velocidade de imposição da deficiência hídrica e a duração da mesma, os quais podem implicar diferentes respostas em variedades da mesma espécie. A indução lenta da deficiência hídrica, com baixos valores de potencial hídrico foliar, atingido antes da reidratação, pode possibilitar uma maior produção e acúmulo de ácido abscísico nas folhas, permitindo a conservação do turgor celular por meio da manutenção de baixos valores de condutância estomática. Espécies com maior capacidade de manutenção da turgescência, sob condições de deficiência hídrica moderada, são mais aptas a suportar períodos de deficiência hídrica (Nascimento, 2009). De acordo com Pimentel (2004), uma deficiência hídrica moderada ocorre uma redução na abertura estomática, e conseqüentemente na transpiração, havendo também redução da atividade fotossintética, pela diminuição da disponibilidade de CO₂. Outra resposta para o aumento do ácido abscísico nas folhas, em condições de baixa disponibilidade hídrica do solo ocorre em um aumento marcante da razão

raiz/parte aérea, o qual, juntamente com o efeito do ABA no fechamento dos estômatos, auxilia a planta a enfrentar o estresse hídrico (Souza, 2012), diminuindo a capacidade fotossintética, o que se traduz em menor acúmulo de amido, podendo sinalizar a necessidade do aumento dos teores de sacarose e carboidratos.

Resultados próximos a este trabalho foi encontrado por Nascimento et al. (2011), quando avaliando a recuperação fotossintética em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. sob deficiência hídrica e posterior reirrigação, verificaram que, após 11 dias de suspensão da irrigação, houve o fechamento estomático, afetando significativamente todas as variáveis estudadas. Dentre essas, as relações hídricas foram as que melhor expressaram as injúrias promovidas pela seca, destacando-se o potencial hídrico, que apresentou reduções consideráveis. O mesmo ocorreu em relação às trocas gasosas, transpiração e condutância estomática. A reirrigação das plantas promoveu a reabertura dos estômatos, após cinco dias, recuperando todas as variáveis (Nascimento et al., 2011).

Outra variável que também reduziu significativamente foi a condutância estomática (gs) com valores de 1050 a 1028; 1109 a 495; 1110 a 229 mmol.m⁻².s⁻¹ plantas controle, deficiência hídrica e alagadas, respectivamente (Figura 1C). A suspensão do estresse atribuído em 72 h, não foi o suficiente para que as plantas, pudessem recuperar sua condutância estomática inicial, quando comparadas com as plantas controle, alcançando uma recuperação de 42,66 % para as plantas sob deficiência hídrica e de 13,03 % para as plantas sob alagamento.

Essa redução da gs nas plantas alagadas e sob a deficiência hídrica pode estar relacionada à diminuição do potencial hídrico foliar e ao aumento dos teores de ácido abscísico nas folhas (Oliveira neto, 2010). A diminuição da gs é uma das primeiras respostas ao estresse ambiental, contudo se esta condição continuar por um longo período, os mecanismos

envolvidos são mais complicados do que simplesmente a redução de g_s , implicando em limitações bioquímicas da taxa de fotossíntese e do crescimento da planta (Centrito, 2003).

Albuquerque et al. (2013), estudando plantas de mogno- africano, também observaram uma redução na condutância estomática nas plantas sob condições de déficit hídrico e reidratação.

A redução da g_s provocou também uma diminuição na taxa de transpiração, apresentando valores de 18,21 a 16,4; 17,83 a 6,88; 16,64 a 6,0 $mmol.m^{-2}.s^{-1}$ para as plantas controle, deficiência hídrica e alagadas respectivamente (Figura 1 D). Os valores mais representativos foram no 30º dia do experimento, tanto em plantas sob deficiência hídrica quanto sob alagamento. Essa redução aliada ao baixo potencial hídrico as tornou impossibilitadas de recuperar sua atividade de transpiração inicial quando suspenso os estresses impostos. A recuperação para ambos os tratamentos foi lenta, pois para as plantas sob deficiência hídrica atingiram uma recuperação de 24,11 %, e para as plantas sob alagamento a recuperação foi de 4,24 %.

A redução da transpiração possivelmente ocorre devido ao fechamento estomático, que é promovido pelo aumento da biossíntese ou da redistribuição do ABA, hormônio regulador do fechamento estomático em plantas sob estresse.

Resultados semelhantes foram encontrados por Fu et al. (2010), quando estudaram plantas de choupo ou álamo (*P. euphratica* e *P. Russkii*) que é uma árvore da família Salicaceae, os resultados refletiram ao fechamento estomático e a baixa transpiração foliar.

Os teores de amido tiveram uma diminuição quando submetidas ao estresse hídrico, embora o tempo de 10 dias não tenha diferido estatisticamente entre as plantas sob alagamento das irrigadas diariamente. As concentrações mais baixas ocorreram nas plantas com deficiência hídrica no 30º dia, com 0,324 mmol de GLU/ g de resíduo, nas plantas mantidas alagadas o

menor valor foi no 30º dia, com 0,597 mmol de GLU/ g de resíduo (Figura 2A). Após a suspensão do estresse hídrico, o porcentual de recuperação foi de 31,74 % para as plantas sob deficiência hídrica e de 23,93 % para as plantas alagadas, não recuperando sua concentração inicial.

Esta redução provavelmente está ligada à degradação do amido através das enzimas α e β -amilase, favorecendo a formação de novos açúcares, como a sacarose. Esses resultados corroboram com o trabalho de Paula et al. (2013), envolvendo plantas de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em dois períodos de amostragem, seco e chuvoso, onde houve redução de 30% na média dos teores de amido nas folhas analisadas durante o período seco em comparação as analisadas no período chuvoso.

Referindo-se aos teores de carboidratos solúveis totais, os resultados revelaram um aumento significativo para as plantas, promovendo acréscimo significativo no conteúdo dessa substância em relação aos regimes hídricos, e tempos de estresse, como mostra a Figura 2C. Os valores obtidos para as plantas controle no tempo de 0, 10, 20 e 30 dias respectivamente, foram de 105; 111; 110; 115 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS, plantas sob deficiência hídrica 108; 118; 153; 184 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS e plantas alagadas 106; 109; 143; 147 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS havendo diferença estatística após 20 dias de estresse. Após a suspensão do estresse hídrico, os valores extremos alcançados no momento máximo do estresse, declinaram atingindo uma taxa de recuperação de 29,11 % plantas com deficiência hídrica e 23,81 % plantas alagadas, não retomando sua concentração inicial (E0), após três dias de suspensão do estresse.

Este aumento possivelmente está relacionado ao mecanismo de síntese de sacarose no citoplasma da folha, este açúcar será então, transportado para as raízes (processo respiratório) (Oliveira Neto, 2010). Esses resultados também podem ser explicados pelo fato do estresse

hídrico afetar a utilização de carboidratos, por alterar, basicamente, a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o desenvolvimento de partes novas na planta.

A concentração de sacarose aumentou com o avanço do tempo de estresse hídrico, valores expressivos foram apresentados no 30º dia de estresse (Figuras 2B). Com 13,01 a 13,45 (plantas controle), 13,9 a 16,6 (plantas sob deficiência hídrica) e 13,21 a 15,61 (plantas sob alagamento) $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS. Diferindo estatisticamente após 10 dias de experimento. Esse aumento para ambos os estresses pode estar relacionado provavelmente com o aumento de atividades de enzimas que agem no processo de quebra do teor de amido, onde os açúcares formados e transportados podem ser na forma de sacarose. Os níveis dessa substância também sofreram alterações no decorrer do tempo experimental, evidenciados pelo incremento diferenciado no 30º dia de estresse hídrico, voltando a decrescer somente com três dias de suspensão do estresse hídrico, com taxa percentual de recuperação de 57,96 % e 49,51 % para plantas sob deficiência hídrica e alagadas respectivamente, sem, entretanto atingirem os níveis de controle. Corroborando com os dados encontrados por Pereira (2013), que mostraram um aumento na concentração de sacarose em folhas de plantas de fava-atanã (*Parkia gigantea* carpa Ducke) sob deficiência hídrica no solo.

CONCLUSÕES

A suspensão da irrigação, bem como, o alagamento durante 30 dias, foi suficiente para alterar e provocar um decréscimo nas rotas metabólicas das plantas jovens de andiroba, reduzindo potencial hídrico, transpiração, condutância estomática e amido, porém aumentando os teores de carboidratos solúveis totais, sacarose e ABA. O tempo de suspensão do estresse hídrico não foi o suficiente para a retomada dos valores iniciais de todas as variáveis analisadas.

A andiroba é satisfatoriamente tolerante aos estresses hídricos impostos nesse experimento, apresentando uma rápida recuperação parcial após a suspensão do estresse hídrico, apresentando maior sensibilidade à deficiência hídrica.

FIGURAS

FIGURA 1: Potencial Hídrico Antemanhã (A), Teores de ácido Abscísico (B), Condutância estomática (C) e Transpiração (D) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas mostram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. E a seta indica o momento da suspensão do estresse.

FIGURE 1: Predawn water potential (A), Content of abscisic acid (B), Stomatal conductance (C) and Transpiration (D) in young plants of crabwood subjected to water deficit and flooding. Capital letters show statistical differences between the treatments and the lowercase letters show differences between the collection days of the same treatment compared by Tukey's test at 5% of probability. Bars represent the standard deviation of the means. The arrow indicates the suspension time of the stress.

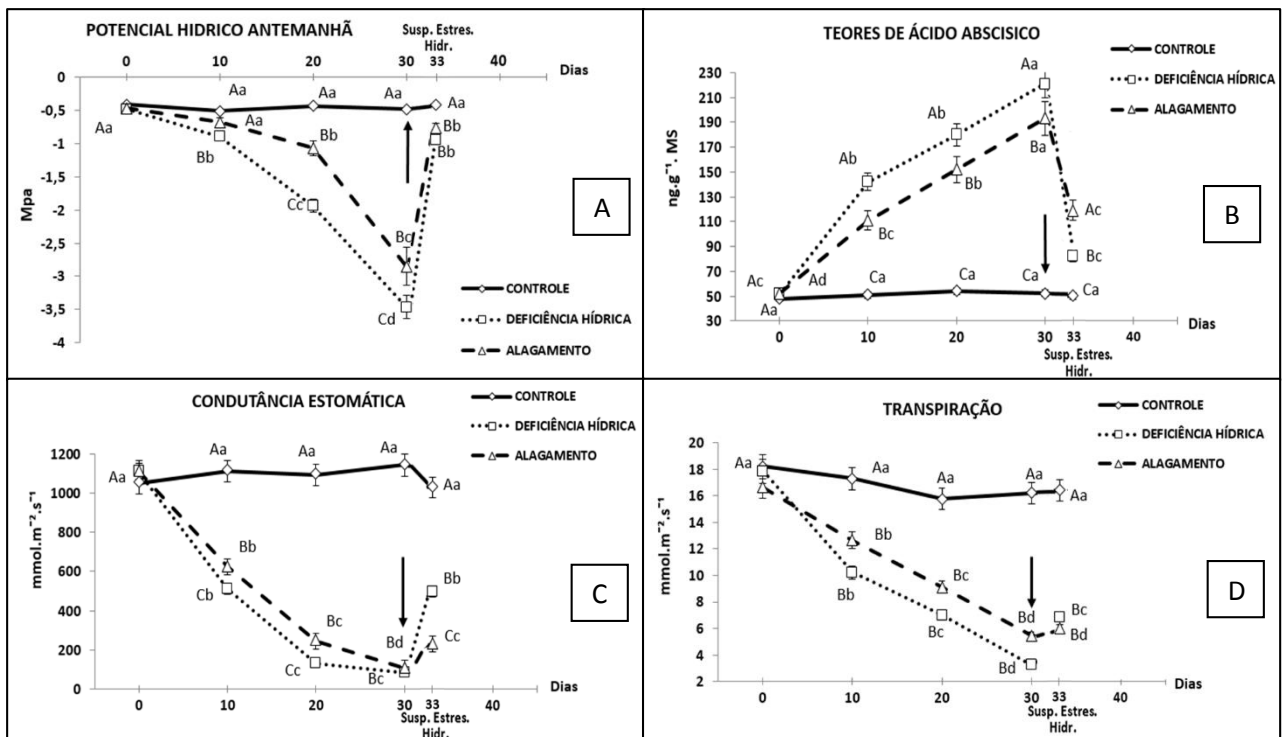
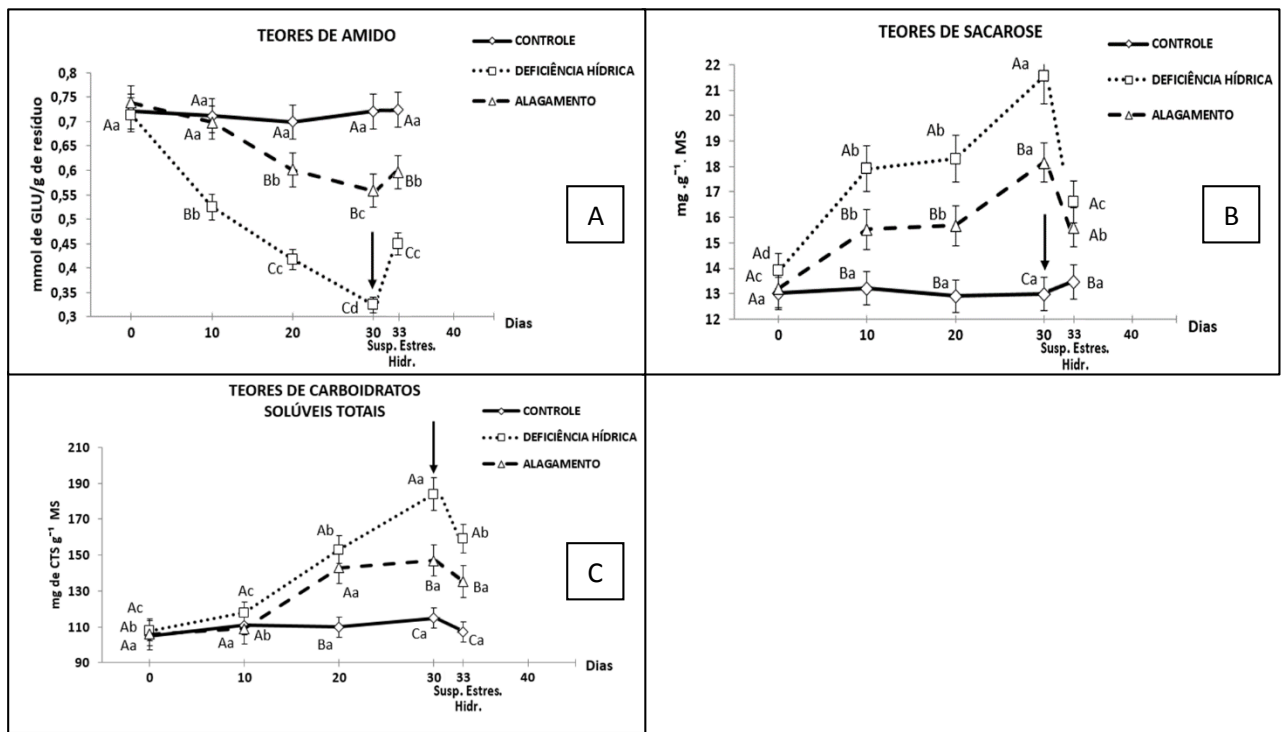


FIGURA 2: Teores de Amido (A), teores de sacarose (B) e teores de carboidratos solúveis totais (C) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas mostram diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias. E a seta indica o momento da suspensão do estresse.

FIGURE 2: Starch contents (A), Sucrose contents (B) and Contents of total soluble carbohydrates (C) in young plants of crabwood subjected to water deficit and flooding. Capital letters show statistical differences between the treatments and the lowercase letters show statistical differences between the collection days of a same treatment, compared by Tukey's test at 5% of probability. Bars represent the standard deviation of the means. The arrow indicates the suspension time of the stress.



REFERENCIAS

Albuquerque MPF, Moraes FKC, Santos RIN, Castro GLS, Ramos EMLS, Pinheiro HA (2013) Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.48, n.1, p.9-16.

Bailey-serres J, Voesenek LACJ (2008) Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annual Review Plant Biology*. 9:313-339.

Camargo MAB, Marengo RA (2012) Growth, leaf and stomatal traits of crabwood (*Carapa guianensis* Aubl.) in central Amazonia. *Revista Árvore*, v.36, n.1, p.07-16.

Centrito M, Loreto F, Chartzoulakis K (2003) The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt stressed olive saplings. *Plant cell and environment*. P.585-594.

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. V.28, n.3, p.350-356.

Fernandes B, Sykes DJ (1968) Capacidade de campo e retenção de água em três solos de Minas Gerais. *R. Ceres*, v. 15, p. 1-39.

Freitas JMN (2014) Comportamento ecofisiológico e bioquímico de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas à deficiência hídrica. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

Fu AH, Chen YN, Li WH (2010) Analysis on the change of water potential of *Populus euphratica* Oliv. and *P. Russkii* Jabl under different irrigation volumes in temperate desert zone. *Chinese Sci Bull* 55: 965–972.

Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station, Circular, 347.

Kim SH, Lieth JH (2003) A coupled model of photosynthesis, stomatal conductance and transpiration for a rose leaf (*Rosa hybrida* L.). *Annals of Botany*. v. 91, p. 771-781.

Landsberg JJ (1986) *Physiological ecology of forest production*. London: Academic Press, 198p.

Nascimento HHC (2009) Caracterização Ecofisiológica de Mudanças de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas a déficit hídrico. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife.

Nascimento HHC, Nogueira RJMC, Silva EC, Silva MA (2011) Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. Viçosa, Maio/junho. *Revista árvore*, vol. 35, n.3.

Oliveira Neto CF (2010) Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento. Tese (Doutorado em ciências agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém.

Paula MT, Santos Filho BG, Cordeiro YEM, Conde RA, Neves PAPP (2013) Ecofisiologia do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em sistemas agroflorestais no município de Santa Bárbara-PA. Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p.

Pereira ACC (2013) *Parkia gigantocarpa* Ducke (Fabaceae Mimosoideae) sob deficiência hídrica no solo: respostas fisiológicas, bioquímicas e de crescimento. Dissertação (Museu Paraense Emílio Goeldi – UFRA) Belém, Pará.

Pimentel CA (2004) relação da planta com a água. EDUR, Seropédica, p.191.

Pinheiro HÁ, Silva JV, Endres L, Ferreira VM, Câmara CA, Cabral FF, Oliveira JF, Carvalho LWT, Santos JM, Santos Filho BG (2007) Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. Industrial Crops and Products, v. 27, 385-392.

Ross ARS, Ambrose SJ, Cutler AJ, Feurtado JA, Kermode AR, Nelson K, Zhou R, Abrams SR (2004) Determination of endogenous and supplied deuterated abscisic acid in plant tissues by high performance liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry with multiple reaction monitoring. Anal. Biochem.;329:324-333.

Sas institute. SAS/STAT (1996) User's Guid: version 6.12, SAS Institute, Cary, NC.

Souza TC (2012) Aplicação de ácido abscísico (ABA) e caracterização fisiológica e anatômica em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca. Tese – Universidade Federal de Lavras, 133 p.

Streck NAA (2002) generalized nonlinear air temperature response function for node appearance rate in muskmelon (*Cucumis melo* L.) Revista Brasileira de Agrometeorologia, v. 10, n. 1, p. 105–111.

Taiz L, Zeiger E (2013) Fisiologia Vegetal. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 918 p.

Tonini H, Paulo PC, Kamiski, E (2009) Estrutura, distribuição espacial e produção de sementes de andiroba (*Carapa guianensis* aubl.) no Sul do estado de Roraima Ciência Florestal, Santa Maria, v. 19, n. 3, p. 247-255, jul.-set.

Van Handel E (1968) Direct microdetermination of sucrose. Anal Biochem., V. 22: 280-283.

Waring RH, Landsberg JJ (2011) Generalizing plant–water relations to landscapes. Journal of Plant Ecology. v 4, n 1–2, p.101–113.

Capítulo 2

Resposta Ecofisiológicas e Bioquímicas em Folhas de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.).
Sob Três Regimes Hídricos e Suspensão dos Estresses.

Manuscrito formatado para Australian journal of crop science.

ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO E TEORES DE COMPOSTOS NITROGENADOS EM FOLHAS DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) SOB TRÊS REGIMES HÍDRICOS E SUSPENSÃO DOS ESTRESSES

RESUMO

A andiroba possui alta plasticidade fenotípica, pois se adapta a diferentes ambientes. O objetivo do trabalho foi avaliar os teores de nitrato, teores de amônio livre, a atividade da enzima redutase do nitrato (aRN) e os teores de aminoácidos solúveis totais, prolina, glicina betaina em plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) submetidas a três regimes hídricos e posterior processo de recuperação através da suspensão dos estresses. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão Poço, PA. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), disposto em fatorial 3x5 (três condições hídricas: controle irrigado, deficiência hídrica e alagamento; e cinco tempos de avaliação: 0, 10, 20, 30 e suspensão do estresse hídrico após 72h) com 5 repetições, totalizando 75 unidades amostrais. Os resultados mostraram que o potencial hídrico, concentração de nitrato e a aRN, reduziram significativamente tanto nas plantas sob deficiência hídrica, como nas plantas sob alagamento. Com médias de -3,46 MPa; 0,6 NO³⁻/ kg MS; 0,1294 μmoles de NO²⁻/ g MF/h (potencial hídrico, nitrato e aRN, respectivamente). Os teores de amônio aumentaram nas plantas submetidas ao estresse hídrico, porém o aumento foi mais significante nas sob deficiência hídrica, tendo em média 4,0 de mmol de NH⁴⁺/ kg de MS. Os teores de aminoácidos, prolina e glicina betaina tiveram um acréscimo expressivo nas plantas com estresse hídrico, sobretudo nas plantas sob deficiência hídrica, as plantas submetidas ao alagamento apresentaram resultados menos expressivos. Após a suspensão do estresse hídrico, apenas os teores de amônio livre e teores de aminoácidos solúveis totais, recuperaram seus valores iniciais, as demais variáveis analisadas, o período de suspensão não foi o suficiente para que houvesse recuperação total. As plantas jovens de andiroba submetidas ao estresse hídrico promoveram modificações nas rotas metabólicas do nitrogênio. Essas modificações mostraram uma tolerância maior das plantas ao alagamento.

Palavras-chave: alagamento, metabolismo, déficit hídrico.

INTRODUÇÃO

A andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) é uma das espécies com grande potencial de exploração madeireira e não madeireira na Amazônia (Tonini et al., 2009). É considerada espécie promissora para enriquecer capoeiras, florestas, sistemas agroflorestais e recuperação de áreas úmidas degradadas (Ferraz et al., 2002).

Por conseguinte, a andiroba possui potencial promissor para se aclimatar às mudanças ambientais previstas em futuro próximo para a maior parte da região amazônica (Camargo; Marengo, 2012). A espécie é bastante plástica o que lhe confere diferenças morfológicas e aptidão para ocupar diferentes nichos, vivendo desde o nível do mar, em áreas permanentemente inundadas (igapó) ou periodicamente inundadas (várzeas), até as matas altas não sujeitas à inundações (350 – 1400 m de altitude). Isso confirma as diferenças morfológicas segundo seu habitat (Leite, 1997; Boufleuer, 2004).

O estresse é um desvio das condições ótimas de desenvolvimento do vegetal, no qual podem ocorrer mudanças e respostas em parte do organismo ou nele como um todo. No início, essas alterações podem ser reversíveis, mas, dependendo da duração e da situação de estresse, podem ser irreversíveis, levando a danos permanentes ou até a morte (Pimentel, 2004).

Dentre as respostas das plantas ao estresse por alagamento, o fechamento dos estômatos, parcial ou total, é uma das primeiras respostas da parte aérea (Kolzowski; Pallardy, 2002). Estudos comprovam que os solutos orgânicos protegem as plantas dos estresses através de diferentes mecanismos, incluindo ajustamento osmótico, remoção das espécies ativas de oxigênio, “proteção da integridade das membranas celulares” e “estabilização de proteínas e enzimas” (Pompelli, 2010; Turkan, 2011).

Geralmente metabólitos de baixo peso molecular como a prolina (Perez-perez et al., 2009) e glicina betaína (Bajji et al., 2001) são comumente observados como respostas metabólicas de plantas superiores ao déficit hídrico. E pode ocorrer em consenso com as mudanças no conteúdo de açúcares e aminoácidos (Perez-perez et al., 2009).

Estudos dos efeitos de estresses abióticos no desenvolvimento dos vegetais servem como subsídios para pesquisas agrícolas e florestais, além de tornarem-se potenciais indicadores dos mecanismos de tolerância das plantas às condições adversas (Silva, 2013). O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações do metabolismo do nitrogênio em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento e posterior recuperação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) das plantas mantidas sob deficiência hídrica e alagamento foram reduzidos significativamente com o aumento do número de dias de estresse hídrico, porém, após suspensão do estresse hídrico a planta não conseguiu se recuperar (Figura 1A). Os valores para as plantas sob deficiência foram -0,48; -0,89; -1,94, -3,46 e -0,95 MPa, para as plantas sob alagamento os valores são de -0,47, -0,68, -1,07, -2,85 e -0,77 MPa nos tempos de avaliação 0, 10, 20, 30 e suspensão do estresse hídrico após 72 horas, respectivamente. Esses resultados sugerem que a diminuição do Ψ_{am} nas plantas sob deficiência hídrica está relacionada com o tempo em que as plantas jovens ficaram sem receber água.

As plantas com deficiência hídrica apresentaram uma maior redução do potencial hídrico em relação às plantas alagadas, apresentando um menor declínio no 30º dia do experimento implantado, essa diminuição do potencial hídrico é possivelmente devido ao aumento da tensão nos vasos xilemáticos, quanto mais negativo o Ψ_w maior está sendo a força necessária para que a planta absorva do solo a água a ser transportada a parte aérea. Esse transporte pode ser prejudicado dependendo do grau de severidade da deficiência hídrica, na *C. guianensis* Aubl. o transporte após o estresse foi parcialmente prejudicado, pois quando reidratadas as espécies não recuperaram seu potencial inicial que se encontrava entre -0,48 MPa, obtendo uma recuperação de 82,29 %.

Nas plantas sujeitas ao alagamento, a diminuição do potencial hídrico deve estar relacionada com a baixa concentração de O_2 , apesar das raízes estarem submersa totalmente em água, as plantas mostraram uma deficiência de água no tecido foliar. Entretanto, essa diminuição deve ter promovido uma mudança do comportamento do metabolismo da planta, tais como, a fosforilação oxidativa para a fosforilação do ADP para ATP em reações que ocorrem exclusivamente na glicólise e na fermentação, fazendo com que a capacidade de síntese também mude de 36 ATP, quando da respiração aeróbica, para apenas 2 ATP com a fermentação (Oliveira Neto, 2010). As plantas submetidas ao alagamento demonstraram uma recuperação de 85,24 %, quando comparado com as plantas controle, decorrido apenas 72 h após a suspensão do estresse hídrico. Estudo realizado por Gonçalves et al., (2009), com plantas jovens de *Carapa guianensis* Aubl. confirmam que as plantas jovens de andiroba, toleraram satisfatoriamente períodos de 15 a 30 dias de deficiência hídrica. O mesmo autor observou que

esses períodos de deficiência hídrica diminuíram o potencial hídrico foliar para valores entre - 2,0 e - 3,0 MPa, resultados próximos aos obtidos neste estudo.

Os resultados mostram que os teores de nitrato diminuíram consideravelmente nas folhas de andiroba em ambos os tratamentos com resultados mais acentuados no 30º dia de estresse hídrico, porém, a mais afetada foram as plantas sob deficiência hídrica que apresentaram valores de 0,88 a 0,40 $\mu\text{moles de NO}_3^- / \text{kg MS}$ enquanto as plantas sob alagamento apresentaram valores de 0,86 a 0,67 $\mu\text{moles de NO}_3^- / \text{kg MS}$ quando comparadas com as plantas controle que apresentaram valores de 0,91 a 0,90 $\mu\text{moles de NO}_3^- / \text{kg MS}$.

Os resultados encontrados podem ser elucidados pelo envolvimento das rotas metabólicas para explicar o consumo do nitrato e o transporte de nitrato à parte aérea da planta. Para as plantas com deficiência hídrica, a diminuição gradativa de água no solo pode ter promovido a redução da absorção de nitrato do solo pelas raízes o que possivelmente causaria diminuição do transporte deste para as folhas através da corrente transpiratória (xilema), diminuindo também a atividade da enzima redutase do nitrato que é altamente dependente do seu substrato que é o NO_3^- contribuindo para a redução significativa para as plantas sob deficiência hídrica (Shaner; Boyer, 1976). Após a suspensão do estresse hídrico, as plantas sob deficiência apresentaram uma recuperação de 5,88 %, quando comparadas com as plantas controles, não recuperando seu valor inicial.

Para as plantas alagadas as reduções nas concentrações de nitrato correspondem a uma redução de energia das raízes (respiração) e com isso, o processo de absorção ativa de nitrato pelas raízes e, assim, o fluxo do mesmo diminui também para as folhas. Além disso, a atividade da enzima redutase do nitrato, mesmo baixa (Figura 1C), utilizou as concentrações de nitrato do tecido vegetal da planta, reduzindo os teores de nitrato para as folhas (Figura 1B). Após a suspensão do estresse hídrico, as plantas obtiveram um percentual de recuperação de 3,76 %, não recuperando os teores de nitrato iniciais em 72 h de suspensão do estresse hídrico.

Resultados encontrados por Freitas (2014), quando trabalhou com plantas jovens de acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.) confirmam a diminuição nos teores de nitrato nas folhas das plantas submetidas ao estresse hídrico.

A atividade da Redutase do Nitrato (aRN) também foi afetada em ambos os tratamentos, porém as plantas sob deficiência hídrica foram as que mais declinaram em 30 dias de estresse hídrico. Os valores foram de 0,253 a 0,248; 0,26 a 0,024; 0,251 a 0,051 $\text{NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para plantas controle, sob deficiência hídrica e alagadas, respectivamente. Nesse período, a plantas jovens de *C. guianensis* submetida a deficiência hídrica reduziu a aRN a mais da metade da

atividade inicial. Enquanto que as plantas jovens submetidas ao alagamento, tiveram uma redução inferior as plantas sob deficiência hídrica (Figura 1C). A recuperação após a suspensão do estresse hídrico não foi satisfatória, apresentando valores de 43,23 % e 31,68 % para plantas sob deficiência hídrica e plantas sob alagamento, respectivamente. Contudo, o decréscimo da atividade dessa enzima para os tratamentos impostos, deficiência hídrica e alagamento, pode ser provavelmente devido à presença constante do nitrato (NO_3^-) vindo da reserva do vacúolo e que por isso, sua atividade foi mantida baixa ou ainda poderia ser devido a sua síntese *de novo* (Andrade Netto, 2005). Assim, a redutase do nitrato, principal enzima responsável por assimilação de nitrogênio pelas plantas, pode ter sua atividade influenciada pela disponibilidade de água (Sharma; Dubey, 2005), podendo ser utilizada como parâmetro indicativo aos estresses ambientais (Carelli et al., 1991; Oliveira et al., 2005).

Em contra partida, as concentrações de amônio livre apresentaram um aumento significativo nas plantas submetidas ao estresse hídrico (Figura 1D). Os valores encontrados foram de 13,02 a 17,96 mmol de NH_4^+ / kg de MS para plantas com deficiência hídrica, e 13,28 a 15,02 mmol de NH_4^+ / kg de MS plantas alagadas, as plantas controle apresentaram valores contínuos de 12,98 a 12,92 mmol de NH_4^+ / kg de MS durante os 30 dias de tratamento. Para as plantas sob deficiência hídrica e alagamento, a suspensão não obteve sucesso, uma vez que as plantas sob deficiência hídrica demonstraram uma recuperação de 40,16 % e as plantas sob alagamento apresentaram uma recuperação mais expressiva, pois os valores da taxa de recuperação chegaram a 61,27 %. Isso quando comparadas as plantas controle.

Esse aumento, para as plantas sob estresse hídrico pode estar ligado às outras rotas para formação do mesmo, promovendo um acúmulo de amônio através de um descompasso entre sua desaminação, fotorrespiração, catabolismo de aminoácidos, Ferreira et al., (2002), aponta a fotorrespiração como uma das rotas da formação do NH_4^+ . Para Oliveira Neto (2010), a elevação na concentração de amônio também ocorre devido a possível redução da fotossíntese, visto que esta mantém o metabolismo do nitrogênio através do fornecimento de energia (ATP) e pela formação de poderes redutores (NADPH, FADH e NADH).

O aumento significativo dos teores de aminoácidos foi expressivo em plantas sob deficiência hídrica com valores de 143,02 a 278,05 μmol de AA/g MS, enquanto que as plantas alagadas os valores foram de 149,58 a 192,52 μmol de AA/g MS, quando comparadas com as plantas controle que apresentaram valores de 140,54 a 159,54 μmol de AA/g MS (Figura 2A). Após suspensão do estresse hídrico as plantas sob deficiência hídrica, não obtiveram seus valores iniciais, não recuperando, apresentando valores de 34,87 %, e as plantas alagadas

apresentaram valores significantes de 76,53 %, porém, ambas as plantas submetidas ao estresse hídrico, não atingiram uma concentração relevante quando comparadas com as plantas controle, não restabelecendo seus valores iniciais com a suspensão do estresse.

Após a instauração do estresse hídrico (semi-moderado ou moderado) é notório o incremento de aminoácidos livres (Silva et al., 2010). Dentre os vários aminoácidos encontrados no vegetal, a prolina é apontada como indicadora de sensibilidade ao estresse hídrico e é considerada uma variável fisiológica confiável para se avaliar os níveis de tolerância a seca de uma planta. Além do papel na regulação osmótica, atua na proteção das membranas e proteínas contra os efeitos nocivos das temperaturas extremas e elevadas concentrações íons inorgânicos (Turkan, 2011).

O aumento da taxa dos teores de prolina foi evidente desde os 10 dias de estresse, se acentuando no 30º dia em ambos os tratamentos de estresse hídrico (Figura 2B). Os valores foram de 2,3 a 7,2 mmol.g⁻¹.MS para plantas sob deficiência hídrica, e de 2,41 a 5,5 mmol.g⁻¹.MS para as plantas alagadas. As plantas controle mantiveram valores contínuos de 2,34 a 2,46 mmol.g⁻¹.MS. O período de suspensão do estresse não foi o suficiente para total recuperação da espécie, recuperando um percentual de 59,67 % e de 41,14 % para as plantas sob deficiência hídrica e alagadas, simultaneamente.

O acúmulo de prolina sob tensão em muitas espécies de planta foi correlacionada com tolerância à deficiência hídrica, e sua concentração normalmente é mais alta em plantas tolerantes que em plantas sensíveis ao estresse (Ashraf; Foolad, 2007).

Nas plantas sob deficiência hídrica, o aumento dos teores de prolina pode estar relacionado possivelmente com o aumento da atividade das enzimas proteolíticas promovendo uma disponibilidade maior de aminoácidos livres (Figura 2A), no sentido de proteger os tecidos vegetais contra esse estresse por servirem como reserva de nitrogênio, já nas plantas sob alagamento, apesar do aumento dos teores no 30º dias, não ocorreu a diminuição dos aminoácidos livres, mas provavelmente o aumento do catabolismo dos mesmos. Após suspensão do estresse, a espécie tenta se reestabelecer, chegando a valores em média de 4,1 mmol.g⁻¹ MS, porém não consegue voltar ao seu valor inicial, possivelmente a espécie precisaria de um tempo maior para se recuperar totalmente.

Nogueira et al. (2005); Lisar et al. (2012) atestam que o acúmulo de prolina não pode ser apontado como um fator de resistência e sim um indicador de tolerância adquirida, uma vez que em diversos experimentos foi verificado o aumento de prolina nas células das plantas classificadas como tolerantes, fato que não aconteceu nas plantas sensíveis.

Os processos de síntese e degradação da prolina são tidos como benéficos às plantas quando submetidas a condições adversas. A biossíntese de prolina é ativada e seu catabolismo é inibido durante a desidratação, enquanto que na reidratação desencadeia a regulação oposta, sua degradação pode fornecer redutores necessários para o suporte de transporte de elétrons mitocondrial e a geração de ATP para a recuperação e reparação dos danos induzidos pelo estresse (Szabados; Savoure, 2010).

Os resultados mostraram um acréscimo nos teores de glicina-betaína (Gb), tanto nas plantas sob alagamento, como sob deficiência hídrica, em comparação com as plantas controle. Para as plantas sob deficiência hídrica, sob alagamento e plantas controle foram encontradas concentrações desse composto de 17,78 a 40,02; 17,02 a 33,35; 16,35 a 15,78 mg.g⁻¹ MS, respectivamente (Figura 2C). Após suspensão do estresse, as plantas estressadas não conseguiram recuperar seus teores iniciais, demonstrando uma taxa de recuperação de 79,55 % nas plantas sob deficiência hídrica e de 83,82 % para as plantas alagadas.

Nas plantas sob deficiência hídrica, esse acúmulo pode ter ocorrido para proteger o metabolismo do vegetal, uma vez que a glicina pode manter o balanço hídrico entre a célula vegetal e o ambiente, contribuindo para uma melhor absorção e transporte de água do solo à parte aérea. Além disso, o aumento do valor de glicina-betaína deve-se à provável formação de aminoácidos através da degradação das proteínas e dos altos teores de amônio vindo, possivelmente, da fotorrespiração e de processos de desaminações (McNEIL et al., 1999).

Imediatamente, com a retomada da irrigação, pode ter existido uma rápida contribuição recuperação de seu status hídrico. A metabolização da prolina pode ocorrer de diferentes formas no citosol, como, por exemplo, conversão em outros aminoácidos, utilização na síntese de proteínas e, principalmente, conversão em intermediários do ciclo de Krebs, com estímulo à respiração que vai à síntese de ATP (Szabados; Savouré, 2010). Nas plantas alagadas o aumento da Gb em folhas parece está também relacionada ao ajustamento osmóticos do hialoplasma de plantas submetidas a situação de estresse (Jaleel et al., 2007), ou seja, o acúmulo da Gb contribuiria para uma possível redução do Ψ_x celular durante os períodos dos estresse osmóticos (Taiz; Zeiger, 2013), favorecendo a absorção e transporte de água do solo a parte aérea da planta, podendo assim proteger os tecidos das plantas e os processos fisiológicos, melhorando a tolerância da planta ao estresse abiótico.

Em concordância, Oliveira Neto (2010), verificou um aumento de 59,37 e 84,88 % de Gb em raízes e folhas de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. submetidas ao alagamento por 30 dias. Entretanto, contrariamente Alves (2010), observou que o alagamento reduziu

drasticamente a concentração de Gb em plantas jovens de *Tabebuia serratifolia*, atingindo 86,2 e 82% nas raízes e folhas, respectivamente. Segundo este autor essa diminuição parece demonstrar que a Gb não funciona somente como osmoprotetor.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Campus de Capitão Poço - PA. As plantas jovens de andiroba provenientes de sementes foram fornecidas pela AIMEX (Associação das Indústrias Exportadoras de Madeira do Estado do Pará) com quatro meses de idade e foram acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 20 L. O substrato usado foi constituído por latossolo amarelo distrófico mais esterco bovino curtido na proporção de 3:1, respectivamente. Antes do início dos tratamentos, todas as plantas foram colocadas sob sombrite 50 %, irrigadas diariamente durante um mês para mantê-las na capacidade de campo e aclimação (Fernandes e Sykes, 1968). Adicionaram-se 200 mL de macro e micronutrientes a cada 15 dias até o início do experimento, na forma de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), modificada no laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), UFRA.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 x 5 (três condições hídricas: controle, deficiência hídrica e alagamento, e cinco tempos de avaliação 0, 10, 20, 30 dias e suspensão do estresse hídrico após 72 h), com 5 repetições, totalizando 75 unidades experimentais. O potencial hídrico (Ψ_{am}) foi determinado entre 4:30 e 5:30 h, por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co, Albany, USA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2007). Como amostras, folíolos maduros e completamente expandidos foram selecionados do segundo ou terceiro par de folhas maduras a partir do ápice, destacados com auxílio de uma lâmina de barbear, entre 9:00 e 11:00 h, armazenados em sacos de polietileno umedecidos e transportados sob gelo até o laboratório para as análises, em um tempo máximo de 60 minutos, e imediatamente congeladas (aproximadamente -20 °C) para posteriores análises bioquímicas. 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 (SAS-institute, 1996).

DETERMINAÇÕES DAS VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS

Determinação das concentrações de 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 2 N. 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 NO₃⁻ (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 µmol mL⁻¹). Os resultados foram expressos em mmol de NO₃⁻. kg⁻¹ MS de tecido. O método utilizado foi o de (Cataldo et al., 1975).

Determinação da atividade da redutase do nitrato

Foram retirados e pesados aproximadamente 200 mg de discos de 0,5 cm de diâmetro das folhas. Logo após as amostras foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH 7,5; contendo isopropanol 1% (v/v), KNO₃ mM) e estes cobertos com papel alumínio (tratamento escuro). Em seguida, os tubos foram evacuados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Por seguinte, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos, na ausência de luz. Em tubos de ensaio tipo pirex, foram adicionados alíquotas de 1 mL de tampão fosfato + 2 mL do extrato diluído + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de N-1-naftiletilenodiamina dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5 mL. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso por 15 minutos. A leitura foi no espectrofotômetro à 540 nm contra o branco (3,0 mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO₂⁻ no meio de reação, sendo expressa em µmoles de NO₂⁻. g.MF⁻¹. h⁻¹, a partir de uma curva-padrão obtida com KNO₂ p.a (Sigma). O método empregado foi o método *in vivo* preconizado por Hageman e Hucklesby (1971).

Concentrações de amônio livre

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 (NH₄)₂SO₄ p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mmol de NH₄⁺/ kg de MS. Para isso utilizou-se o método descrito por (Weatherburn, 1967).

Concentrações de aminoácidos solúveis totais

Foram pesados 50mg das folhas e das raízes, e colocados em tubos de ensaio com 5 mL de água deionizada, fechados hermeticamente e incubados em banho-maria a 100 °C, durante 30 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 6.000 x g, por 10 minutos. Após a extração o sobrenadante foi coletado e desenvolvido a reação para dosagem dos aminoácidos. Alíquotas de 0,1 mL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio e acrescidas de 0,4 mL de água mille-Q. Em seguida 0,250 mL de uma solução tamponada, pH 5,0, contendo 0.2 mol.L⁻¹ de citrato; 0,250 mL do reagente de ninhidrina (KCN 0,1 mmol.L⁻¹ e ninhidrina 5% em methoxy etanol) foi adicionado. Após misturar bem em vortex os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em “banho-maria”, no qual permaneceram pelo tempo de 15 minutos à temperatura de 100° C. Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo, momento em que foram adicionados 1,5 mL de uma solução de etanol 50 % (v/v). Após os tubos permanecerem por 20 minutos em temperatura ambiente e em seguida, efetivadas leituras em espectrofotômetro, a 570 nm, sendo os teores de aminoácidos livres totais, determinado com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de uma mistura padronizada de L – glutamina. A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo método descrito por Peoples et al.(1989).

Determinação dos teores de 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 (mod. Genesys™ 10series, Marca Thermo Electron Corporation, Wisconsin, USA). A concentração de prolina foi determinada por meio de uma curva de calibração de prolina e o resultado expresso em mmol prolina g⁻¹ de matéria seca (MS). Foram determinados de acordo com Bates et al. (1973).

Determinação dos teores de glicina betaína

Foi determinada segundo o método de Grieve e Grattan (1983). As amostras foram maceradas em 2 mL de água destilada sob agitação constante, à temperatura ambiente, por um período de 4 horas, seguindo de centrifugação a 3.500 g por 10 minutos, a 25 °C. O sobrenadante foi coletado e dele retirado uma alíquota de 250 µL para a quantificação de prolina. Para isso, 250 µL de ácido sulfúrico concentrado foram adicionados a cada amostra, seguindo de incubação em banho de gelo por 1 hora. Após esse tempo, 200 µL de iodeto de potássio (a aproximadamente 8 °C) foram adicionados e a mistura incubada por 16 horas a 0 °C. As amostras foram centrifugadas a 3.500 g, por 15 minutos a 0°C, e o resíduo coletado. Este foi lavado por duas vezes em 2 mL de ácido sulfúrico 1 N (a aproximadamente 8 °C), após centrifugação a 3.500 g, por 5 minutos a 0 °C, o precipitado foi dissolvido em 3 mL de 1,2-dicloroetano, por meio de agitação vigorosa. Após 2,5 horas de repouso, a leitura das amostras foi obtida a 365 nm e para os cálculos foi utilizada uma curva padrão de glicina - betaína. Os resultados foram expressos em mg glicina – betaína g⁻¹ MS.

CONCLUSÕES

Plantas jovens de andiroba submetidas ao estresse hídrico promoveram modificações nas rotas metabólicas do nitrogênio. Essas modificações mostraram uma tolerância maior das plantas sob alagamento ao longo do experimento.

O status hídrico das plantas, assim como algumas variáveis envolvidas no metabolismo do nitrogênio não conseguiu recuperar seus valores iniciais após a suspensão do estresse hídrico. Todavia, os teores de amônio livre e aminoácidos solúveis totais, o período de 72h de suspensão foi o suficiente para a retomada dos valores iniciais.

REFERENCIAS

- Andrade Netto JF (2005) Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Ashraf M, Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, v.59, p.206-216.
- Bajji M, Lutts S, Kinet JM (2001) Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*. 160, 669–681.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1976) Rapid determination of free proline for BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* v. 72: 248-254.
- Boufleuer NT (2004) Aspectos ecológicos de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae), visando seu manejo e conservação. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Acre, Rio branco, Acre. 86pp.
- Camargo MAB, Marengo RA (2012) Growth, leaf and stomatal traits of crabwood (*Carapa guianensis* Aubl.) in central Amazonia. *Revista Árvore*, v.36, n.1, p.07-16.
- Carelli MLC, Fahl JI (1991) Distribuição da assimilação do nitrato e da matéria seca em plantas jovens de café cultivadas em diferentes níveis de nitrogênio. *Bragantia*, Campinas, v.50, p.29-37.
- Cataldo DA, Haroon SLE, Youngs VL (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun Soil Science Plant Analyse*, 6: (1):71-80.
- Fernandes B, Sykes DJ (1968) Capacidade de campo e retenção de água em três solos de Minas Gerais. *R. Ceres*, v. 15, p. 1-39.
- Ferraz IDK, Camargo JLC, Sampaio PTB (2012) Sementes e plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera* D.C.): aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. *Acta Amazônia*, Manaus, v. 32, n. 4, p. 647-661.

- Ferreira VM, Magalhães PC, Durães FOM, Oliveira LEM, Purcino AAC (2002) Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. *Ciência Rural*, v. 32, n. 1.
- Freitas JMN (2014) Comportamento ecofisiológico e bioquímico de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas à deficiência hídrica. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.
- Gonçalves JFC, Silva CEM, Guimarães DG (2009) Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.44, n.1, p.8-14.
- Grieve CM, Grattan SR (1983) Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil* 70: 303-307.
- Hageman RHG, Hucklesby DP (1971) Nitrate reductase from higher plants. In: *Methods in enzymology*. 17 A: 491 – 503.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station, Circular*, 347.
- Jaleel CA, Manivannan P, Sankar B, Kishorekumar A, Panneerselvam R (2007) Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. *Comptes Rendus Biologies*. v. 330, n.9, p. 674-83.
- Kozłowski TT e Pallardy SG (2002) Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. *The Botanical Review*, v. 68, n. 2, p. 270- 334.
- Leite AMC (1997) Ecologia de *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae) “andiroba”. Belém – PA. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará. 180 pp.
- Lisar SYS, Motafakkerazad R, Hossain MM, Rahman IMM (2012) Water stress in plants: Causes, effects and responses. In: *Water Stress*, Edited by: Ismail M. M. Rahman and Hiroshi Hasegawa. 1–14 Rijeka, Croatia: In Tech.
- McNeil SD, Nuccio ML, Hanson AD (1999) Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiology*, v.120, p. 945-949.

- Nogueira RJMC, Albuquerque MB, Silva EC (2005) Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, p.22-31.
- Oliveira MAJ, Bovi MLA, Machado EC, Rodrigues JD (2005) Atividade da redutase de nitrato em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes*). Ciência Rural, v. 35, n. 3, p. 515-522.
- Oliveira Neto CF (2010) Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento. Tese (Doutorado em ciências agrárias)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém.
- Peoples MB, Faizah AW, Reakasem BE, Herridge, DF (1989) Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Australian Centre for International Agricultural Research Canberra. 76p.
- Pérez-Pérez, J.G. et al. (2009) Response to drought and salt stress of lemon „Fino 49“ under field conditions: water relations, osmotic adjustment and gas exchange. Sci. Hortic. 122, 83–90.
- Pimentel CA (2004) relação da planta com a água. Seropédica, RJ: Edur, 189 p. 2004.
- Pinheiro, H.A.; Silva, J.V.; Endres, L.; Ferreira, V.M.; Câmara, C.A.; Cabral, F.F.; Oliveira, J.F.; Carvalho, L.W.T.; Santos, J.M.; Santos Filho, B.G. (2007) (Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. Industrial Crops and Products, v. 27, 385-392.
- Pompelli MF (2010) et al. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. Biomass and Bioenergy 34, 1207-1215.
- Sas Institute. SAS/STAT (1996) User's Guid: version 6.12, SAS Institute, Cary, NC.
- Shaner DL (1976) Boyer, J.S. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) leaves. I. Regulation by nitrate flux. Plant Physiology, Maryland, v.58, p.499-504.
- Sharma, P.; Dubey, R. S. (2005) Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. Journal of Plant Physiology, v. 162, n. 8, p.854-864.
- Silva LD (2013) da, Alterações Fisiológicas e Bioquímicas em genótipos de *Jatropha curcas* L. submetidos ao déficit hídrico. Dissertação. Universidade Estadual de Santa Cruz.

- Silva, E. C.; Silva, M. F. A.; Nogueira, R. J. M. C.; Albuquerque, M. B. (2010) Growth evaluation and water relations of *Erythrina velutina* seedlings in response to drought stress. Brazilian Journal of Plant Physiology (Impresso), v. 22, p. 225-233.
- Szabados L, Savoure A (2010) Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science. V.15, n.2, p. 89-97.
- Taiz L, Zeiger E (2013) Fisiologia Vegetal. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 918 p.
- Tonini, H.; Paulo P. C.; Kamiski, E. Estrutura, distribuição espacial e produção de sementes de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) no Sul do estado de Roraima Ciência Florestal, Santa Maria, v. 19, n. 3, p. 247-255, jul.-set., 2009.
- Turkan I (2011) Plant Responses to Drought and Salinity Stress: Developments in Post-Genomic Era. In Advances in Botanical Research. Vol. 57. Elsevier .p 593.
- Weatherburn MW (1967) Phenol hipochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry. V. 39: 971-974.

FIGURAS

Figura 1. Potencial hídrico de antemanhã (A), teores de nitrato (B), atividade da redutase do nitrato (C) e teores de amônio livre (D) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidades, onde as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas ou minúsculas não diferem entre si, as barras representam os desvios padrões das médias.

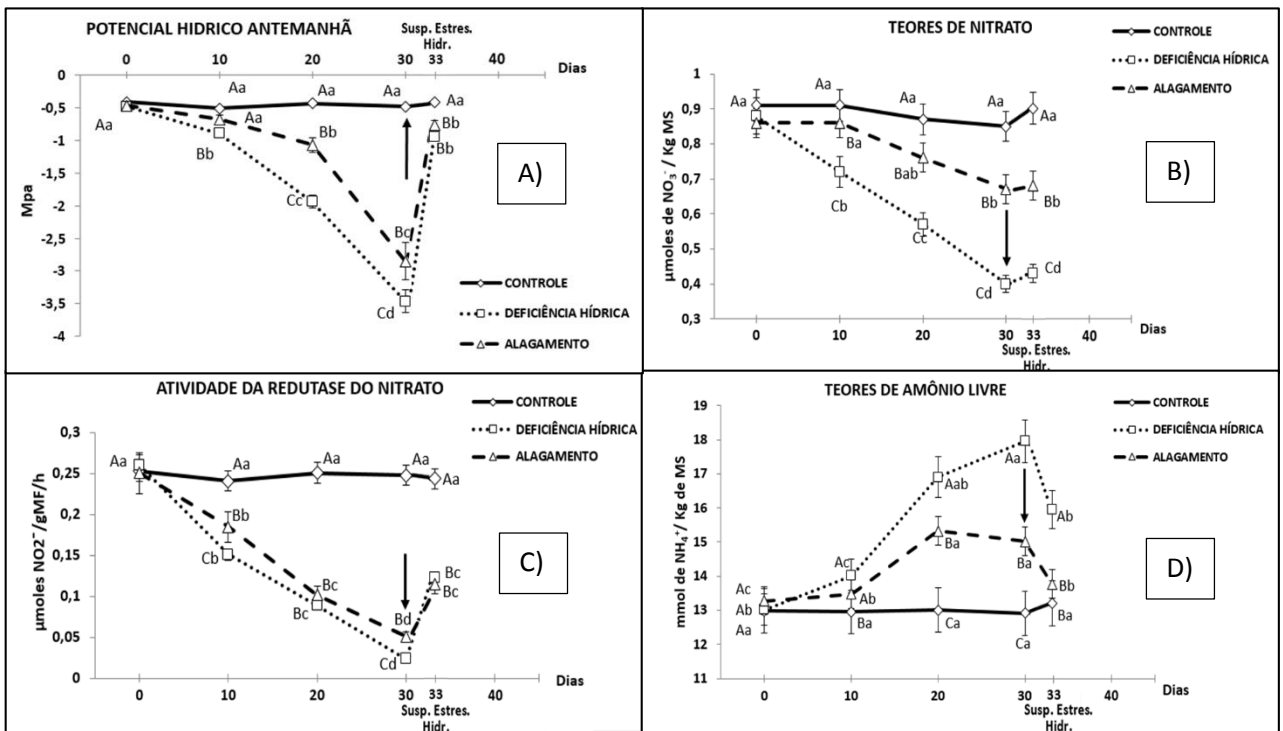
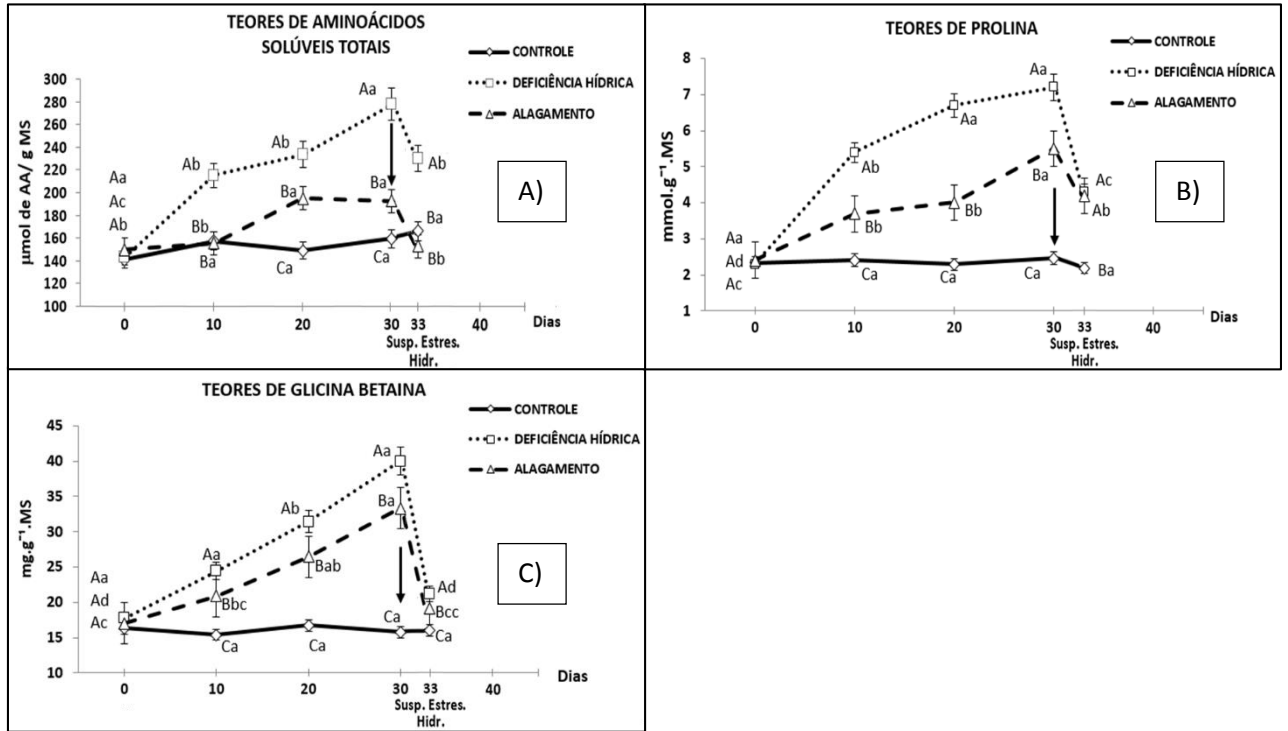


Figura 2. Teores de aminoácidos solúveis totais (A), teores de prolina (B) e teores de glicina betaina (C) em plantas jovens de andiroba submetidas ao déficit hídrico e alagamento. Letras maiúsculas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos e as minúsculas diferenças estatísticas entre os dias de coletas de um mesmo tratamento, comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidades, onde as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas ou minúsculas não diferem entre si, as barras representam os desvios padrões das médias.



ANEXOS

Anexo 1. Normas para submissão de artigo, revista Scientia Forestalis.

Normas para Envio de Manuscritos

A revista Scientia Forestalis publica artigos científicos originais e inéditos relacionados com aspectos biológicos, ecológicos, econômicos e sociais do manejo, produção e uso de florestas e seus recursos naturais.

Os artigos submetidos à publicação devem ser encaminhados eletronicamente à Editora Executiva:scientia.forestalis@ipef.br

Os artigos devem ser apresentados da seguinte forma:

1. Carta de encaminhamento assinada pelos autores, informando que o artigo é inédito e não foi submetido à apreciação de outro periódico;
2. O texto deve conter no máximo 25 páginas numeradas, escritas em espaço duplo com 25 linhas por lauda em papel tamanho carta, utilizando a fonte Arial tamanho 12 pontos;
3. As figuras e tabelas devem ser apresentadas no final do texto, com as legendas em português e inglês e a sua localização aproximada deve ser indicada no texto com uma chamada entre dois parágrafos.
 - a. Exemplo: Entra a Figura 2; Entra a Tabela 4;
4. As fotos devem ser enviadas em formato JPEG com, no mínimo 300 dpi de resolução e no máximo 20 cm de largura;
5. Os gráficos devem ser enviados no Microsoft Excel ou no formato de fotos, conforme comentado no item anterior;
6. A primeira página deve conter: título em português e inglês; nomes completos de todos os autores com sua titulação, vinculação e endereço postal e eletrônico; e agradecimentos;
7. As referências bibliográficas devem estar de acordo com as normas da ABNT;
8. Não são aceitas notas de rodapé

Os artigos devem ser apresentados na seqüência:

1. Título em português e inglês;
2. Resumo em português e inglês: deve informar os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões;
3. Palavras-chave em português e inglês;
4. Introdução, incluindo a revisão de literatura;
5. Material e métodos;
6. Resultados e discussão;

7. Conclusão

8. Referências bibliográficas

Anexo 2. Normas para submissão de artigo, revista Australian Journal of crop science.

Normas para Envio de Manuscritos

Política editorial:

- 1) Todos os manuscritos submetidos serão rigorosamente revisto por 2-5 peritos-avaliadores externos.
- 2) Uma decisão inicial será feita no prazo de 7-10 dias a contar da data de apresentação para ver se o manuscrito deve ser procedido ainda mais para o processo de revisão por pares ou não, depois de verificar a linguagem mínimo Inglês e qualidade científica do conteúdo.
- 3) Depois de receber todos os comentários dos revisores, a decisão final será tomada e notificada aos autores (por edição) exatamente com base em recomendações revisores.
- 4) É inteiramente autores a responsabilidade de verificar os requisitos institucionais (com o departamento de pesquisa) para descobrir se o AJCS coincide com os seus critérios de publicação. Após o envio, AJCS presume que os autores estão plenamente cientes e concordam com esta política editorial e; portanto, não aceita qualquer responsabilidade após a apresentação.
- 5) AJCS não garante a inclusão ou índice de materiais publicados em quaisquer bancos de dados maiores ou menores, de terceiros ou empresas.

- 1) A linguagem do jornal é Inglês.

Inglês Britânico ou Inglês Americano ortografia e terminologia pode ser usado no artigo. Por favor, forneça seu manuscrito em, Times New Roman e da fonte (tamanho 12) alinhamento à esquerda em espaço duplo (ou 1.5), o formato Word. Contribuintes que não são falantes nativos de inglês são fortemente encorajados a garantir que um colega fluente no idioma Inglês, se nenhum dos autores é assim, reviu o seu manuscrito. A revista tem uma opção para facilitar a correção de idioma em manuscritos Se os autores não tem certeza sobre a correção da gramática e ortografia manuscrito.

Idioma Inglês Edição Serviço

Antes da submissão, os autores que acreditam que seus manuscritos se beneficiariam de edição profissional, especialmente de países que não falam Inglês, são incentivados a utilizar um serviço de edição de linguagem. A lista de exemplos de empresas de edição de Inglês pode ser encontrado aqui.

- 2) Estilo de papéis

Trabalhos de pesquisa originais geralmente não devem exceder 12 páginas de texto impresso, excluindo referências, tabelas e figuras lendas (uma página de texto impresso = aprox. 600 palavras). Um manuscrito de um trabalho de pesquisa deve ser organizado na seguinte ordem: título, autor (es), afiliação (s) (se o autor não é a ordem correspondente, isto é indicado) Palavras-chave, abreviações, Resumo, Introdução, Resultados, discussão (resultados e Discussão podem ser combinados), Material e Métodos, Conclusão, agradecimentos, referências. As tabelas e figuras (JPEG/75 DPI ou mesmo superior) devem ser colocadas no final do manuscrito, após a seção de referência, e numeradas consecutivamente (por exemplo, para as figuras, a figura 1., Fig. 2 e para tabelas Tabela 1., Tabela 2. etc.). Por favor coloque tabelas e figuras no final do manuscrito consecutivamente. Por favor, certifique-se de que o tamanho total do seu manuscrito não é mais do que 2-3 MB para fins de revisão.

