



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

**WANDER LUIZ DA SILVA ATAIDE**

**MECANISMOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS, ANTIOXIDANTES E  
CRESCIMENTO EM MUDAS DE *Tachigali vulgaris* L.G. Silva & H.C. Lima  
SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA.**

**Belém – PA  
2015**



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

**WANDER LUIZ DA SILVA ATAIDE**

**MECANISMOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS, ANTIOXIDANTES E  
CRESCIMENTO EM MUDAS DE *Tachigali vulgaris* L.G. Silva & H.C. Lima  
SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA.**

**Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em  
Ciências Florestais da Universidade Federal Rural da  
Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado  
em Ciências Florestais: área de concentração: Ciências  
Florestais, para obtenção do título de Mestre.**

**Orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto**

**Co orientador: Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa**

**Belém – PA  
2015**



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

**WANDER LUIZ DA SILVA ATAIDE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Florestais: área de concentração em Ciências Florestais, para obtenção do título de **Mestre**.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto  
Orientador**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - Belém**

---

**Dr. Roberto Lisboa Cunha – 1º Examinador  
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL**

---

**Prof . Dr. Raimundo Thiago Lima da Silva – 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – Capitão Poço**

---

**Prof . Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição – 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – Capitão Poço**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus**, por todos os feitos em minha vida até o dia de hoje.

Aos **meus pais**, os maiores incentivadores para que eu pudesse chegar até aqui, meus orgulhos.

À Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais pela oportunidade de desenvolver a pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos orientadores RExPA, Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Roberto Cezar Lobo da Costa pelos ensinamentos e contribuições científicas ao longo desses anos.

A todos que fizeram e ainda fazem parte do grupo de pesquisa EBPS – Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores, que participaram da construção desta pesquisa: Ana Ecídia, Bruno Maltarolo, Ellen Gleyce, Thays Correa, Vitor Rezende, Dielle França, Jéssica Martins, Tamires Borges, Karollyne Silva, Silviane Castilho, Susana Conceição, Liliane Machado, Andresa Soares, Kérolem Prícila, Josi Mescouto e a Glauco André, pela correria que foi em conseguir o IRGA, aqui fica o meu muito obrigado.

A Lenilson Palheta e Pedro Simões pela ajuda no manuseio do IRGA e nas análises bioquímicas realizadas.

À minha noiva, **Elayne Braga** pelas vezes que tentou entender que era necessário passar uma, duas e até três dias diretos no laboratório buscando ajudar também no experimento de outros amigos. Afinal, a UFRA é a nossa segunda casa, às vezes invertendo, morando na UFRA e de passagem em casa.

E a todos que de forma direta ou indiretamente colaboraram para construção deste estudo.

## *Dedicatória*

Primeiramente a Deus por mais etapa almejada na vida acadêmica, por me conceder o dom da vida e saúde para chegar até aqui. Em segundo lugar dedico esta vitória às pessoas que mais acreditaram no meu potencial, aos melhores pais que Deus me concedeu **Luiz Edinei Medeiros Ataide** e **Otilia do Socorro da Silva Oliveira**, pois só eles sabem do esforço que foi chegar até este dia, dos cinco anos de graduação e mais dois de pós-graduação, aos meus irmãos **Larissa Gabriele de Oliveira Ataide** e **Rangel da Silva Ataide**. E em especial à minha companheira **Elayne Oliveira Braga** pelos momentos de alegria vividos, e das lições tiradas para a vida. Amo vocês!

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

**Figura 1.** Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....36

**Figura 2.** Taxa de assimilação líquida em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....37

**Figura 3.** Condutância estomática (gs) em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....38

**Figura 4.** Transpiração (E) em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.  
.....39

**Figura 5.** Variáveis de crescimento (A) altura, (B) DAC e (C) número de folhas em mudas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem

estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....40

**Figura 6.** Massa seca da parte aérea (A), raiz (B) e razão raiz/parte aérea (C) em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....41

## Capítulo II

**Figura 1.** Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....60

**Figura 2.** Concentrações de Nitrato (A), Redutase do Nitrato (B), Amônio (C) e Aminoácidos (D) plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....62

**Figura 3.** Concentrações de Amido (A), carboidratos (B), Sacarose (C) e Prolina (D) em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....64

### Capítulo III

**Figura 1.** Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....88

**Figura 2.** Vazamento de Eletrólitos em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....89

**Figura 3.** Teores de Pigmentos: Clorofila *a* (A), Clorofila *b* (B), Clorofila *total* (C) e *Carotenóides* (D) em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função do manejo de água, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....90

**Figura 4.** Atividade das enzimas SOD em tecidos da folha e raiz de plantas jovens de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....91

**Figura 5.** Atividade das enzimas CAT em tecidos da folha e raiz de plantas jovens de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao



longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....92

**Figura 6.** Atividade das enzimas APX em tecidos da folha e raiz de plantas jovens de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.....93

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABA – Ácido Abscísico

AIMEX – Associação das indústrias Exportadoras de madeiras do estado do Pará

APG – Grupo de Filogenia para as Angiospermas

APX – Ascorbato Peroxidase

AsA – Ascorbato

ATP – Adenosina trifosfato

CAT – Catalase

CRA – Conteúdo Relativo de Água

CST – Carboidratos Solúveis Totais

DAC – Diâmetro à Altura do Colo

DHA - Deidroascorbato

DHAR – desidroascorbato redutase

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

DPV – Déficit de Pressão de Vapor

EBPS – Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores

ERO's – Espécies Reativas de Oxigênio

FBN - Fixação Biológica de Nitrogênio

GPX – Glutathione Peroxidase

GR – Glutathione Redutase

GSH – Glutathione na forma reduzida

GSSG - Glutathione oxidada

IPCC – Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas

IRGA – Analisador de Gás Infra Vermelho

MDA - Monodeidroascorbato

MDAR - Monodeidroascorbato redutase

MDHA – monodesidroascorbato redutase

MF – Massa Fresca

MS – Massa Seca

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

P5CS – Pirrolina-5-carboxilato sintase

PAR – Radiação Fotossinteticamente Ativa

PDH – Prolina desidrogenase

POX – Peroxidase

PS - Fotossistema

SOD - Superóxido dismutase

Tar – Temperatura do ar

Tfol – Temperatura da folha

UFRA- Universidade Federal Rural da Amazônia

UR – Umidade Relativa

VE – Vazamento de Eletrólitos

## SUMÁRIO

CONTEXTUALIZAÇÃO .....	18
Objetivo Geral .....	24
Objetivos Específicos .....	24
Hipóteses .....	24
REFERÊNCIAS .....	25
Crescimento e trocas gasosas em plantas jovens de <i>Tachigali vulgaris</i> submetidas à deficiência hídrica.....	29
RESUMO .....	29
ABSTRACT .....	29
2.1 INTRODUÇÃO.....	30
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
Local e Condução do experimento .....	31
Variáveis Ambientais.....	33
Variáveis Fisiológicas.....	33
- Conteúdo Relativo de Água .....	33
- Fotossíntese, Condutância estomática e Transpiração.....	34
Variáveis Biométricas.....	34
2.3 RESULTADOS .....	35
Variáveis Ambientais.....	35
Variáveis Fisiológicas.....	35
- Conteúdo Relativo de Água .....	35
- Fotossíntese.....	36
- Condutância estomática .....	37
- Transpiração.....	38
Variáveis Biométricas.....	39
2.4 DISCUSSÃO .....	41

Variáveis Fisiológicas .....	41
Variáveis biométricas .....	45
CONCLUSÃO .....	47
REFERÊNCIAS .....	48
Metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas jovens de <i>Tachigali vulgaris</i> submetidas à deficiência hídrica.....	52
RESUMO .....	52
ABSTRACT .....	52
3.1 INTRODUÇÃO.....	53
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
Condução do experimento .....	55
Delineamento experimental e análise estatística.....	55
Conteúdo Relativo de Água.....	55
Variáveis Bioquímicas .....	56
- Concentrações de nitrato.....	56
- Atividade da Redutase do Nitrato (EC 1.6.6.1) .....	56
- Concentrações de Amônio Livre .....	57
-Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais .....	57
- Concentrações de Amido .....	58
-Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais.....	58
-Concentrações de Sacarose .....	59
-Concentrações de Prolina.....	59
3.3 RESULTADOS .....	59
Conteúdo relativo de Água .....	59
Concentrações de nitrato.....	61
Atividade da Redutase do Nitrato .....	61
Concentrações de Amônio Livre .....	61

Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais .....	61
Concentrações de Amido .....	62
Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais.....	62
Concentrações de Sacarose .....	63
Concentrações Prolina .....	63
3.4 DISCUSSÃO .....	64
Conteúdo Relativo de Água .....	64
Concentrações de Nitrato.....	65
Atividade da Redutase do nitrato .....	66
Concentrações de Amônio Livre .....	66
Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais .....	67
Concentrações de Amido .....	68
Concentrações de Carboidratos solúveis totais.....	68
Concentrações de Sacarose .....	69
Concentrações de Prolina.....	70
3.5 CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS .....	72
Sistema antioxidante enzimático e não enzimático em plantas jovens de <i>Tachigali vulgaris</i> submetidas à deficiência hídrica.....	79
RESUMO .....	79
ABSTRACT .....	79
4.1 INTRODUÇÃO.....	80
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	83
Local e Condução do experimento .....	83
Delineamento experimental e análise estatística.....	83
- C.R.A (conteúdo relativo de água) .....	84
- Vazamento de Eletrólitos .....	84

- Pigmentos fotossinteticamente ativos.....	85
- Obtenção dos extratos enzimáticos.....	86
- Superóxido dismutase (EC 1.15.1.1).....	86
- Catalase (EC 1.11.1.6).....	86
- Ascobarto Peroxidase (EC 1.11.1.11).....	87
4.3 RESULTADOS .....	87
Conteúdo Relativo de Água.....	87
Vazamento de Eletrólitos.....	88
Pigmentos Fotossintéticos.....	89
SOD .....	90
CAT .....	91
APX .....	92
4.4 DISCUSSÃO .....	93
Conteúdo Relativo de Água.....	93
Vazamento de Eletrólitos.....	94
Pigmentos Fotossintéticos.....	94
SOD .....	95
CAT .....	96
APX .....	97
4.5 CONCLUSÃO.....	99
REFERÊNCIAS .....	100
CONCLUSÕES GERAIS .....	104

## **RESUMO GERAL**

É muito provável que as ondas de calor irão ocorrer com mais frequência e durar mais tempo, eventos de precipitação se tornem mais intensos e frequentes e que em certas regiões da Amazônia ocorreram diminuição na disponibilidade hídrica, que por sua vez afetarão diretamente a duração e intensidade do alagamento e da estação de seca. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do laboratório de Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores EBPS/UFRA, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida (três tempos: zero, cinco e dez dias de suspensão hídrica, e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais (uma planta/vaso). Sendo aplicada a ANOVA nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste *t* adotando-se o nível de 5 % de probabilidade através do pacote estatístico (Assistat 7.7 beta, 2015). O CRA, as trocas gasosas e as variáveis de crescimento foram fortemente afetados pelos fatores relacionados à disponibilidade hídrica do solo principalmente quando as condições de deficiência avançaram. Refletindo no metabolismo do carbono e do nitrogênio, com redução nas concentrações de nitrato, amido e redutase do nitrato; aumento nas concentrações de amônio, prolina, sacarose, aminoácidos e carboidratos. Bem como também comprometeu a atividade antioxidante das plantas, visto que estas foram capazes de acionar rapidamente o sistema de defesa, tanto enzimático (SOD, APX e CAT), quanto não enzimático (carotenoides), sendo que este último não apresentou incremento na sua atividade. No entanto, não conseguindo reduzir os danos oxidativos acarretando na morte das mesmas.

**Palavras chave:** Tachi branco. Metabolismo. Antioxidantes. Ajustamento

## **ABSTRACT**

It is very likely that heat waves will occur more frequently and last longer, precipitation events will become more intense and frequent and in some regions of the Amazon occurred decrease in water availability, which in turn will directly affect the duration and intensity flooding and drought station. The experiment was conducted in a greenhouse Studies Laboratory of Biodiversidade of Higher Plants EBPS / UFRA, the experimental design was completely randomized in a factorial 3 x 2 (three times: zero, five and ten days of water suspension, and two water conditions: control and drought stress), with four repetitions, totaling 24 experimental units (one plant / pot). It is applied to the ANOVA results and when significant difference, the means were compared using the t test adopting the 5% level of probability through the statistical package (7.7 beta Assistat, 2015). The CRA, gas exchange and growth variables were strongly affected by factors related to soil water availability especially when the conditions deficiency advanced. Reflected in carbon metabolism and nitrogen, with reduction in nitrate concentrations, starch and nitrate reductase; increase in ammonium



concentration, proline, sucrose, amino acids and carbohydrates. And also committed the antioxidant activity of plants, since they were able to quickly launch the defense system, both enzymatic (SOD, APX and CAT), the non-enzymatic (carotenoids), the latter showed no increase in activity . However, failing to reduce oxidative damage resulting in the death of them.

**Keywords:** Tachi white. Metabolism. Antioxidants. Adjustment

## CONTEXTUALIZAÇÃO

Muito se tem falado nos últimos anos sobre mudanças climáticas e seus impactos para a vida no planeta como um todo, e neste contexto se tem abordado a cerca das flutuações ambientais no meio, onde as principais são: temperatura, umidade e concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Tais alterações são oriundas na sua grande maioria pelas atividades antrópicas, como mineração, pecuária, agricultura, dentre outras que por sua vez vem causando grandes modificações de paisagens por meio da degradação de grandes áreas-chave, bem como nas funções exercida pelo ecossistema.

É muito provável que as ondas de calor irão ocorrer com mais frequência e durar mais tempo, e que os eventos de precipitação se tornem mais intensos e frequentes em muitas regiões (IPCC, 2014). O CO<sub>2</sub> é um dos principais gases responsáveis pelo efeito estufa, este aumento vem sendo associado a elevações na temperatura da superfície terrestre. Em certas regiões da Amazônia ocorrerão diminuição na disponibilidade de água, ressaltando ainda que serão grandes as mudanças nos padrões de aquecimento, vento e precipitação, acarretando eventos extremos do clima, que por sua vez afetarão diretamente a duração e intensidade do alagamento e da estação de seca (NOBRE *et al.* 2007). Tudo isto associado aos eventos meteorológicos como o El Niño e La Niña. Tratando-se, portanto de agravamento dos fenômenos naturais, que segundo Rolim et al (2014) causam mudanças sobre a agricultura em escala global.

Massad et al, (2007) afirmam que temperaturas acima de 35°C provocam reduções na taxa de fotossíntese das plantas, sendo uma relação diretamente proporcional até determinados limites. Deste modo tem-se a necessidade do desenvolvimento de diversos estudos para as plantas submetidas a condições de estresses abióticos, como o estresse hídrico. Em especial, estudo sobre plantas pertencentes à família Leguminosae, muito utilizadas em plantios para recuperação de áreas degradadas.

A família Leguminosae ou Fabaceae (Sensu APG III) é a terceira maior família de angiospermas, ficando atrás apenas de Orchidaceae e Asteraceae (DOYLE; LUCKOW, 2003). Lewis et al, (2005), estimaram a biodiversidade global das Leguminosae em 727 gêneros e 19.325 espécies. Estima-se que 15% destas espécies são encontradas nos ecossistemas brasileiros (SOUZA & AGUIAR, 2009). Em termos

primitivos, a subfamília Caesalpinioideae originou as demais subfamílias e, considera-se, atualmente, que os representantes das Papilionoideae formam um grupamento mais evoluído, e também, numericamente predominante dentro da família, com 441 gêneros e cerca de 12.300 espécies distribuídas em todo o mundo (CORBY, 1981). Na Amazônia, há registros da ocorrência 48 gêneros, 475 espécies, 22 subespécies e 175 variedades para a subfamília Caesalpinioideae (SOUZA, 2010).

A recuperação de áreas degradadas pode ser realizada com sucesso a partir da utilização de espécies de leguminosas arbóreas capazes de formar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e com fungos micorrízicos, pelo fato de ser uma técnica de baixo custo e bons resultados. Onde a preferência pelo uso das espécies leguminosas se deve à característica especial que elas possuem em relação às outras plantas, que transforma o nitrogênio molecular em compostos nitrogenados assimiláveis pelos vegetais, podendo tornar a planta parcial ou totalmente independente do aporte externo desse nutriente (NOGUEIRA, 2012).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo bioquímico, natural e essencial, realizado por bactérias que possuem a enzima nitrogenase. Estas bactérias possuem um papel ecológico importante, atuando na conversão do nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) não utilizável, em amônio ( $NH_4^+$ ) utilizável pelas plantas. A relevância deste serviço reside no fato de que o nitrogênio é o quarto elemento químico mais abundante na matéria viva, e um elemento essencial na constituição de aminoácidos e proteínas, ácidos nucleicos, entre outros componentes vitais a célula (SOUZA, 2011).

Esta técnica pode ser considerada de baixo custo e com bons resultados. Pois as leguminosas utilizam a própria vegetação para proteger o solo da erosão, produção de matéria orgânica que, através de sua incorporação, estimula diversos processos químicos e biológicos melhorando sua fertilidade, além de exibirem um sistema radicular profundo e ramificado aprofundando nas camadas do solo de acordo com Bertoni e Lombardi Neto (2008). E neste contexto a espécie em estudo seria uma boa alternativa para este tipo de conservação, tendo por base o estudo aqui desenvolvido.

Entre os gêneros da família leguminosa, o gênero *Tachigali* destaca-se pela elevada riqueza de espécies e pela abundância em ambientes de margens de rios e em formações florestais em regeneração (SILVA, 2007).

Atualmente o gênero *Tachigali* passou a incorporar o gênero *Sclerolobium* devido a grande semelhança. E de acordo com Lewis (2005) estudos investigando a anatomia do lenho, a morfologia dos grãos de pólen e caracteres macromoleculares apoiou a proposição de alguns autores em considerá-los sinônimos. Oliveira Filho (2006) transferiu *S. paniculatum* var. *subvelutinum* e *S. paniculatum* var. *rubiginosum* para o gênero *Tachigali*, considerando-as como espécies. Silva e Lima (2007) propuseram o nome *T. vulgaris* para substituir *S. paniculatum*, devido à existência de *T. paniculata* Aubl. Neste contexto, foi aceita a expansão do conceito genérico de *Tachigali* para incluir espécies com hipanto cupular com estípites aderido ao fundo.

*Tachigali vulgaris* é uma espécie pioneira, colonizadora de terrenos marginais e margens de estradas, que frequentemente inicia a sucessão secundária em áreas abertas pela germinação intensa de suas sementes no solo. Tem se destacado pelo rápido crescimento e sua madeira é amplamente utilizada por comunidades rurais do Centro-Oeste e Nordeste, na confecção mourões, esteios, embalagens e caibros, na construção civil, além de fonte para a produção de lenha e carvão vegetal, sendo inclusive indicada para plantios energéticos (FRANKE, 1999). É uma espécie endêmica do Brasil, onde é registrada para as regiões Nordeste (Maranhão, Piauí, Ceará e Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso do Sul) e Norte (Pará, Amazonas e Tocantins), ocorrendo nos domínios fitogeográficos da Caatinga, Cerrado e Amazônia (LIMA, 2012). É perenifólia, com períodos de floração de dezembro a abril e de frutificação de abril a maio. Ocorre tanto em fisionomias savânicas quanto florestais, típica de estágios iniciais de sucessão, possui crescimento rápido e ciclo de vida relativamente curto, inferior a 20 anos (FELFILI et al., 1999).

O fato de pertencerem à família Leguminosae desperta interesse agrônomo e florestal, em face da característica de fixação simbiótica de nitrogênio, para compor sistemas silvipastoris (SOUZA FILHO, 2005). Característica esta que faz com que a mesma seja indicada como potencial para recuperação de áreas degradadas. Apresenta resistência às condições adversas como déficit hídrico e exposição à insolação direta, sendo indicada para plantios em áreas degradadas, além do que a sua capacidade de nodulação e elevada deposição de serrapilheira contribuem para a recuperação de solos expostos (CARVALHO, 2005). Diante da importância que esta espécie tem, faze-se

necessários estudos a cerca da fisiologia e bioquímicas da mesma frente às oscilações ambientais de quais as plantas estão submetidas, dentre elas o estresse hídrico.

O estresse é considerado um fator externo, que exerce influência desvantajosa sobre a planta e induz respostas em todos os níveis funcionais do organismo. Em condições naturais e agricultáveis, as plantas estão frequentemente expostas aos estresses ambientais, os quais limitam o desenvolvimento e as chances de sobrevivência (ALEXIEVA et al., 2003). E segundo Souza (2008) é um fator externo desvantajoso podendo ser causado por fatores bióticos e abióticos, como temperaturas altas e baixas, salinidade, poluição, excesso ou falta de nutrientes e déficit hídrico. As formas de impacto das mudanças climáticas sobre as plantas na Amazônia poderiam ser decompostas como: (1) efeitos do aumento no CO<sub>2</sub> atmosférico; (2) efeitos do aumento na temperatura e (3) efeitos do aumento ou diminuição na disponibilidade de água (GRANDIS, 2010).

A água é o meio básico da vida e de energia para os seres vivos, muitos nutrientes inorgânicos necessários para os 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 aos colóides 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 às partículas do solo (RICKLEFS, 2012).

As plantas cultivadas em ambientes naturais estão sujeitas a vários fatores abióticos, os quais podem causar algum estresse às mesmas (LARCHER, 2006), dentre os fatores abióticos, a deficiência hídrica é uma das principais limitações ambientais que afeta a produção das culturas no mundo (CHAVES e OLIVEIRA, 2004). O estudo da deficiência hídrica tem merecido especial atenção por parte dos fisiologistas e agrônomos, devido a sua importância no crescimento e produção das plantas superiores (PAULUS et al., 2010), sobretudo para recuperação de áreas onde há problemas com estresse hídrico por razões climáticas ou condições do tipo de solo (SANTOS et al., 2011).

A deficiência hídrica afeta boa parte das áreas cultivadas no mundo, principalmente as situadas em regiões semiáridas, reduzindo a produção vegetal e

provocando prejuízos socioeconômicos (MUNNS, 2002). O déficit hídrico pode afetar as espécies com reflexos na redução na altura da planta, taxa de crescimento relativo, no índice de área foliar e na taxa fotossintética (CATUCHI et al., 2012).

A adaptação bioquímica comum na planta durante a seca é a regulação osmótica, que é o resultado de determinados metabólitos sintetizado. O acúmulo de metabólitos ou solutos orgânicos, também chamados de substâncias osmoticamente ativas ou osmoprotetoras, pode ser importante na resistência da planta aos ambientes estressantes. Dentre as alterações metabólicas sob deficiência hídrica destacam-se os estudos de diferentes culturas para o acúmulo de solutos orgânicos como a glicina betaína, prolina, aminoácidos solúveis e açúcares solúveis (FARHAD et al., 2011).

A deficiência hídrica favorece o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, como os radicais superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radicais hidroxila ( $OH^-$ ), que danificam as plantas pela oxidação dos pigmentos fotossintéticos e destruição dos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (REDDY et al., 2004).

Para mitigar os danos oxidativos causados pelas EROs, as plantas possuem um complexo sistema antioxidativo de defesa, envolvendo antioxidantes de baixa massa, composto por moléculas hidrofílicas como o ácido ascórbico e a glutathiona reduzida, ou lipofílicas como o  $\alpha$ -tocoferol e os caratenóides, e por enzimas antioxidantes tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathiona peroxidase (GPX), peroxidase não específicas (POX), redutase da glutathiona (GR), monodesidroascorbato redutase (MDHA) e desidroascorbato redutase (DHAR) (GILL; TUTEJA, 2010). Além disso, as enzimas do sistema antioxidante são bastante sensíveis às condições de estresse ambientais servindo como sinalizadores do estresse, como também podem indicar que a planta está mais estressada. Assim, o papel das enzimas antioxidantes em situações de estresse é o de controlar a acumulação de EROs e assim limitar os danos oxidativos (SHARMA et al., 2012).

O sistema celular de defesa antioxidante começa com uma cascata enzimática, mas envolve também componentes não enzimáticos, dentre os quais se destacam o ascorbato (AsA), a glutathiona (GSH), o  $\beta$  caroteno e o  $\alpha$  tocoferol. Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011).

De acordo com Oliveira et al (2013), entender as estratégias pelas quais as plantas se adaptam ao estresse abiótico tem sido alvo de pesquisas de empresas e diferentes grupos de pesquisa no mundo já com foco na prevenção e controle das alterações climáticas que afetam ou afetarão a produção de diferentes cultivares e espécies. Fornecendo informações avançadas sobre algumas estratégias para serem usadas em programas de melhoramento genético para seleção de cultivares tolerantes à seca (SILVA et al., 2012).

As plantas diferem largamente quanto à habilidade de tolerar a deficiência hídrica. Nas sensíveis, os processos fisiológicos são adversamente afetados devido à redução na hidratação dos tecidos; nas mais tolerantes, suas propriedades fisiológicas as capacitam para manter um alto grau de hidratação dos tecidos mesmo sob limitado suprimento hídrico (SOREN et al., 2010). Tais respostas podem ser complexas, e dependem da cultivar e do estágio de desenvolvimento da planta, além da duração e da severidade do estresse (SANTOS, 2013).

Apesar da importância que o setor florestal tem para o país pouco se investe em pesquisa. Embora o entusiasmo do setor, alguns problemas ainda rodeiam a silvicultura no país, dentre os quais estão a derrubada indiscriminada da mata nativa e a introdução indiscriminada de espécies exóticas (por exemplo, o Eucalipto) para a exploração madeireira em áreas indevidas (NASCIMENTO, 2013).

E o estudo empregado em cima de *Tachigali vulgaris* seria mais um critério a favor do uso da mesma em comparação à eucaliptocultura, tendo em vista de ser uma espécie nativa, atividade esta que vem ao longo dos anos sofrendo grandes críticas de cunho social, econômico e, sobretudo ecológico, levando em consideração os impactos gerados no meio. Além do fato de apresentar as características tecnológicas da madeira muito semelhante às do eucalipto, sendo também indicada para uso energético em siderúrgicas.

Pois de acordo com Leite (2009) as espécies nativas possuem papel importante no equilíbrio ecológico dos habitat e nas comunidades florestais, sendo muitas vezes indicadas a fazer parte de programas de recuperação de áreas degradadas ou sujeitas à degradação. Os estudos em fisiologia 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. Contribuindo na seleção de espécies promissoras com maior capacidade produtiva, através de descritores fisiológicos que as classifiquem como tolerantes e adaptadas aos diversos fatores de estresses ambientais (NASCIMENTO, 2013).

**Objetivo Geral:**

Avaliar as alterações fisiológicas, bioquímicas e crescimento em plantas jovens de Tachi branco submetidas à deficiência hídrica.

**Objetivos Específicos:**

Verificar os efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e trocas gasosas nas plantas expostas ao período de estresse.

Verificar os efeitos da deficiência hídrica sobre o metabolismo do carbono e nitrogênio nas plantas expostas ao período de estresse.

Verificar os efeitos da deficiência hídrica sobre a atividade enzimática antioxidante.

**Hipóteses**

**H0:** A deficiência hídrica causará alterações no metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas jovens de Tachi branco.

**H0:** As plantas jovens de Tachi branco serão tolerantes à deficiência hídrica durante o período de 10 dias de estresse.



## REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V.; IVANOV, S.; SERGIEV, I.; KARANOV, E. Interaction between stresses. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, p.1-17, 2003.
- APEL, K; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism oxidative stress and signal transduction. Annual **Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.55, p.373-399. Junho, 2004.
- AZEVEDO, R.A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.104, n.2, p.280-292. 1998.
- BERTONI, J; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do Solo**, 7ª Edição, Editora Ícone. São Paulo, 355p. SP, 2008.
- CARVALHO, P.E.R. **Taxi-branco, taxonomia e nomenclatura**. Colombo: Embrapa Florestas, 10 p. (Circular Técnica. Embrapa Florestas, n. 111). 2005.
- CATUCHI, T.A; GUIDORIZZI, F.V.C; GUIDORIZZI, K.A; BARBOSA, A.M; SOUZA, G.M. Respostas fisiológicas de cultivares de soja `adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária**, v.47, n.4, p.519-527. Brasília. 2012.
- CORBY, H.D.L. The systematic value of leguminous root nodules. In: Advances in Legume Systematics. POHLHILL, R.M. & RAVEN, P.H. (Ed.) Proceedings of the International Legume Conference. Royal Botanical Gardens, London, 1981, p.657-670.
- deficits: prospects for water-saving agriculture**. Journal of Experimental Botany, October v.8, p. 1-20, 2004.
- DOYLE, J.J; LUCKOW, M.S. The rest of the iceberg: legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant physiology** 131: 900-910. 2003.
- FARHAD, M. S. et al. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v.5, p.55-60, 2011.
- FELFILI, J.M.; HILGBERT, L.F.; FRANCO, A.C.; SOUSA-SILVA, J.C.; RESENDE, A.V.; NOGUEIRA, M.V.P. Comportamento de plântulas de *Sclerolobium paniculatum* Vog. var. *rubiginosum* (Tul.) Benth. sob diferentes níveis de sombreamento, em viveiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v.22, n.2, p.297-301, 1999.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.48, p.909-930, 2010.

GRANDIS, A; GODOI, S; BUCKERIDGE, M.S. Respostas fisiológicas de plantas amazônicas de regiões alagadas às mudanças climáticas globais. **Revista Brasil Bot.** v.33, n.1, p.1-12. 2010.

IPCC: Climate Change 2014: Synthesis Report. **Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp. 2014.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RIMA, 2006. 531p.

LEITE, N. B. **O crescimento da silvicultura e os novos desafios!** Disponível em: <http://painelflorestal.com.br/exibenews.php?id=718&codeditorial=&url=news.php&pag=0&busca>. Acessado em 17 de Agosto de 2014.

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the world. **Kew Publishing**, 2005, 592p.

LIMA, H.C. TACHIGALI. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2012.

MASSAD, R.S.; TUZET, A.; BETHENOD, O. The effect of temperature on C4 – type leaf photosynthesis parameters. *Plant, Cell and Environment*, v.30, n.9, p.1191-1204, 2007.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

NAKANO, Y; ASSADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v.22, n.5, p.867-880. 1981.

NASCIMENTO, H. H. C do. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos em mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), sob condições adversas**. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) Federal Rural de Pernambuco Recife, 2013.

NOBRE, C.A., SAMPAIO, G. & SALAZAR, L. Mudanças climáticas e Amazônia. **Ciência e Cultura** 59:22-27. 2007.

NOGUEIRA, N.O; OLIVEIRA, O.M; MARTINS, C.A.S; BERNARDES, C.O. Utilização de leguminosas para recuperação de áreas degradadas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v.8, n.14, p.2121. 2012.

OLIVEIRA FILHO, A.T. **Catálogo das árvores nativas de Minas Gerais: mapeamento e inventário da flora nativa e dos reflorestamentos de Minas Gerais**. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2006.

OLIVEIRA, S.D; LEITE, A.G; HOSSY, B.H; ANGELI, R. Análise de patentes envolvendo plantas transgênicas mais tolerantes a estresse abiótico. **Revista GEINTEC**, v.3, n.5, p.44-55. São Cristóvão/SE. 2013.

PAULUS D; DOURADO NETO D.; FRIZZONE J.A.; SOARES T.M. Produção e indicadores fisiológicos de alface sob hidroponia com água salina. **Horticultura Brasileira**, v.28, n. 29-35. 2010.

REDDY, A. R; CHAITANYA, K. V; VIVEKANANDAN, M. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plan Physiology**, Stuttgart, v.161, n.11, p.1189-1202. 2004.

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

ROLIM, G.S.; CAPORUSSO, N.B.; MORETO, V.B.; PRELA-PANTANO, A. Influence of El Niño and La Niña on sugarcane yield and sucrose production in northern São Paulo, Brazil. **Australian Journal of Crop Science**, 9 (6), p. 509-516, 2014.

SANTOS, A.R.F; MANN, R.S; FERREIRA, R.A. Restrição hídrica em sementes de Jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Árvore**, v.35, n.2, p.213-220. Viçosa/MG. 2011.

SANTOS, C.M. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da cana-de-açúcar sob estresses induzidos por deficiência hídrica e Paraquat**. Tese de Doutorado UNESP, campus Botucatu. 2013.

SHARMA, P. et al. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, New York, v. 2012, p. 1-26, 2012.

SILVA, L.F.G; LIMA, H.C. Mudanças nomenclaturais no gênero *Tachigali* Aubl. (Leguminosae - Cesalpinioideae) no Brasil. **Rodriguésia** 58 (2): 397-401. 2007.

SILVA, P.P. et al. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v.37, p. 11-19, 2012.

SOREN, K.R. et al. Recent advances in molecular breeding of drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.), **Indian Journal of Biotechnology**, New Delhi, v.9, p.233-251, 2010.

SOUZA FILHO, A.P.S.; FONSECA, M.L.; ARRUDA, M.S.P. Substâncias químicas com atividades alelopáticas presentes nas folhas de *Parkia pendula* (Leguminosae). **Planta Daninha**, 23 (4): 565 – 573. 2005

SOUZA, L.A.G.; AGUIAR, A.M.C.S.P. Contribuição para a check-list das Fabaceae de Pernambuco. **Opção Gráfica**, Natal, 2009, 172p.

SOUZA, L.A.G. Levantamento da habilidade nodulífera e fixação simbiótica de N<sub>2</sub> nas Fabaceae da região Amazônica. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia/GO, v.6, n.10. 2010.

SOUZA, M.H; MAGLIANO, M.M; CAMARGOS, J.A.A. Madeiras **tropicais brasileiras**, p.157. IBAM/LPF. Brasília. 1997.

SOUZA, M.J. **Distribuição espacial da atividade das enzimas de síntese e mobilização de frutanos em rizóforos de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby induzidas à brotação e sob temperatura baixa**. Dissertação de Mestrado em Biodiversidade vegetal e meio ambiente, área de concentração – Plantas vasculares em análise ambientais. 2008.

SOUZA, P.M; MOREIRA, F.M.S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. **Em Extensão**, v.10, n.2, p.3-54. Uberlândia. 2011.

## **Crescimento e trocas gasosas em plantas jovens de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica**

### **RESUMO**

Compreender o comportamento das plantas frente às mudanças climáticas apenas acerca do efeito do CO<sub>2</sub> não é suficiente, sendo necessário também conhecer mais sobre como elas responderão ao aumento da temperatura e as mudanças na disponibilidade hídrica, tendo em vista que as condições favoráveis são específicas e não podendo desta forma ser generalizadas. O objetivo da pesquisa foi avaliar os parâmetros biométricos e trocas gasosas em mudas de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica em períodos de 0, 5 e 10 dias. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém/PA. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado sob dois regimes hídricos (controle e déficit) com 4 repetições. Sendo realizada análise de variância nos resultados e as médias comparadas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade. A deficiência hídrica do solo afetou diretamente o conteúdo relativo de água proporcionando decréscimo de 84,81 para 22,6% no décimo dia. Não havendo diferença estatística para a interação dos fatores nas variáveis altura, número de folhas, DAC e fotossíntese. Havendo diferença apenas para condutância, transpiração e CRA. O status hídrico do mesófilo e as trocas gasosas foram mais fortemente afetados pelos fatores relacionados à disponibilidade hídrica do solo que pelos fatores ambientais, principalmente quando as condições de déficit hídrico se tornaram severas. Não se recomenda utilizar esta espécie em períodos mais prolongados de estiagem, tendo em vista que a redução de água no solo e conseqüentemente no tecido vegetal ocasionou a morte da planta ao décimo dia.

**Palavras chave:** Fotossíntese. Condutância. Massa seca. Tachi branco.

### **ABSTRACT**

To understand the behavior of the front plants to climate change only on the effect of CO<sub>2</sub> would not be sufficient and it is also necessary to know more about how they will respond to rising temperatures and changes in water availability, given that favorable conditions are specific and and can not therefore be generalized. The objective of the

research was to evaluate the biometric parameters and gas exchange blank Tachi seedlings (*Tachigali vulgaris*) submitted to water deficit in a period of 0, 5 and 10 days. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia, Belém / PA. The design was completely randomized in two water regimes (control and drought stress) with 4 repetitions. Analysis of variance was applied to the results and compared to the medium by t test at 5% significance level. Water stress soil directly affected the relative water content providing decrease of 84.81 to 22.6% in the tenth day. There was no statistical difference for the interaction of the factors in the variables height, leaf number, DAC and photosynthesis. No difference was observed only for conductance, transpiration and CRA. The water status of the mesophyll (CRA) and gas exchange were strongly affected by factors related to soil water availability than by environmental factors, especially when the water deficit conditions became severe. It is not recommended to use this species over prolonged periods of drought, considering that reduction of water in the soil and consequently in the plant tissue caused the death of the plant to the tenth day.

**Keywords:** Photosynthesis. Conductance. Dry pasta. White tachi

## 2.1 INTRODUÇÃO

As alterações climáticas correlacionadas diretamente ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera e temperatura podem trazer consequências diversas para a população humana e para a biodiversidade mundial (IPCC, 2014). Essas alterações são oriundas na sua grande maioria pela atividade antrópica, como industrialização, desmatamento, mineração e agricultura, dentre outras que por sua vez vem causando grandes modificações nas paisagens. Com o advento do aquecimento do planeta, espécies de animais e plantas terão que migrar para maiores latitudes e/ou altitudes em busca de temperaturas próximas da sua condição natural. Porém, as árvores não conseguirão devido a sua marcha lenta de migração e adaptabilidade frente à rapidez das mudanças climáticas, (BUCKERIDGE, 2007).

*Tachigali vulgaris* é uma espécie pioneira, colonizadora de terrenos marginais e margens de estradas, que frequentemente inicia a sucessão secundária em áreas abertas pela germinação intensa de suas sementes no solo. Tem se destacado pelo rápido crescimento e sua madeira é amplamente utilizada por comunidades rurais do Centro-Oeste e Nordeste, na confecção de mourões, esteios, embalagens e caibros, na construção civil, além de fonte para a produção de lenha e carvão vegetal, sendo

inclusive indicada para plantios energéticos (FRANKE, 1999). É uma espécie endêmica do Brasil, onde são registradas para as regiões Nordeste (Maranhão, Piauí, Ceará e Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso do Sul) e Norte (Pará, Amazonas e Tocantins), ocorrendo nos domínios fitogeográficos da Caatinga, Cerrado e Amazônia (LIMA, 2012).

O déficit hídrico é considerado, como fator mais limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas, ocorrendo em grande extensão de área, sobretudo em regiões caracterizadas pela baixa precipitação pluviométrica e pela irregularidade na distribuição das chuvas (MELO et al, 2010). Em reposta à redução da disponibilidade hídrica para várias espécies lenhosas promove a diminuição significativa na produção de massa seca, na taxa de assimilação líquida do CO<sub>2</sub>, na condutância estomática e na transpiração, como observado por Albuquerque et al., (2013) avaliando mudas de mogno africano (*Khaya ivorensis*), observa-se a redução na produção e alocação de matéria seca por influenciar as trocas gasosas de CO<sub>2</sub> e sobre o balanço de carbono (SILVA e NOGUEIRA, 2003).

Diante do pressuposto, a presente pesquisa tem por objetivo avaliar o crescimento e trocas gasosas em plantas de Tachi branco sob três períodos de suspensão hídrica.

## **2.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e Condução do experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do laboratório de Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores EBPS/UFRA durante os meses de abril a agosto do ano de 2015, onde as plantas foram transplantadas para vasos com capacidade de 4,5Kg de substrato, solo este da qual foram retiradas amostras para realização de análise na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, cujo resultado encontra-se na tabela 1, ficando por um período de dois meses de aclimação. Para suprir a carência nutricional das mesmas foi aplicada solução nutritiva de (HOAGLAND e ARNON, 1950) em três concentrações diferentes, conforme a tabela 2. As mudas foram adquiridas da Associação das Indústrias Exportadoras de Madeiras do

Estado do Pará – AIMEX, com idade de quatro meses. Sendo o lote das mudas formado por sementes oriundas do município de Alta Floresta, estado do Mato Grosso.

Tabela 1. Análise de solo Embrapa Amazônia Oriental. Substrato utilizado durante realização do experimento.

Análise de solo								
Profundidade	pH	P	K	Na	Ca	Ca + Mg	Al	H + Al
cm	Água	mg/dm <sup>3</sup>			cmol/dm <sup>3</sup>			
20	5,1	2	71	17	0,9	1,3	0,7	4,95

Tabela 2. Aplicações de solução nutritiva durante a condução do experimento. 1ª Aplicação/1 L de água; 2ª aplicação/0,5 L de água e 3ª aplicação/1 L de água destilada.

Solução nutritiva	
1ª Aplicação	
CaCl <sub>2</sub>	0,5 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	7 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 ml
FeEDTA	1 ml
Micronutrientes	1 ml
MgSO <sub>4</sub>	1 ml
2ª Aplicação	
KNO <sub>3</sub>	1 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,5 ml
3ª Aplicação	
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5 ml
CaCl <sub>2</sub>	2 ml
MgSO <sub>4</sub>	1 ml
FeEDTA	1 ml
Micronutriente	1 ml
KNO <sub>3</sub>	5 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	2 ml

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcela subdividida (três tempos: zero, cinco e dez dias de suspensão hídrica, e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais (uma planta/vaso).



Sendo aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste *t* adotando-se o nível de 5 % de probabilidade, através do pacote estatístico (Assistat 7.7 beta, 2015).

### **Variáveis Ambientais**

A temperatura do ar, umidade relativa e o déficit de pressão de vapor (DPV) foram medidas através de termo-higrômetro de leitura direta modelo Incoterm e analisador de gás infravermelho.

### **Variáveis Fisiológicas**

#### **- Conteúdo Relativo de Água**

O CRA foi determinado entre 05:00 e 06:00h em cada coleta. Onde foram retirados os discos para a determinação imediata do CRA. O método utilizado foi o descrito por Slavick (1979), foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de um vazador de aço-inoxidável, determinando imediatamente a massa dos mesmos (MF1) em balança analítica. Em seguida os discos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo 35ml de água destilada e deixados na bancada (25°C) por um período de 12 horas. Posteriormente os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70°C) por 24h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula a seguir:

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

Em que:

MF1= Massa fresca 1;

MF2= Massa fresca 2;

MS= Massa seca;

#### - Fotossíntese, Condutância estomática e Transpiração

A taxa fotossintética líquida, condutância estomática, taxa transpiratória, temperatura da folha ( $T_{fol}$ ), radiação fotossinteticamente ativa natural máxima (PAR) e o déficit de pressão de vapor da atmosfera (DPV) foi avaliada através medidor portátil IRGA (Infra-red Gas Analyser/ADC equipments - mod. LCI 6400, Hoddesdon, UK) sendo medidas sob condições ambientais favoráveis, entre as 9:00 e 10:00 da manhã. As avaliações foram feitas em todas as plantas de todos os tratamentos ( $n=24$ ), sendo um folíolo por planta colocada dentro da câmara, sempre na região mediana da folha totalmente expandida. Cada folíolo permaneceu em equilíbrio dentro da câmara por 1 a 2 minutos, antes do registro dos valores, sendo realizados dez pontos de medidas e retirada a média para cada leitura das plantas.

O IRGA mede a diferença entre a concentração de  $CO_2$  e vapor d'água do ar, ao sair das câmaras denominadas amostra (onde está inserida a folha) e referência (sem folha), obtendo-se as concentrações de  $CO_2$  e de vapor d'água que foram assimilados (assimilação de  $CO_2$ ) e liberados (transpiração de vapor d'água) pelos estômatos da folha, respectivamente.

#### **Variáveis Biométricas**

As variáveis de altura foram realizadas com a utilização de régua centimétrica, da base do coleto à gema apical das plantas. O DAC (diâmetro à altura do colo) foi realizado com auxílio de paquímetro digital modelo ZAAS precision e o número de folhas por planta realizada por contagem manual.

A biomassa da parte aérea e da raiz foram medidas no ato de cada coleta destrutiva aos (0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica), onde as plantas foram separadas em suas respectivas partes. A biomassa após secagem em estufa de circulação forçada, a  $70^\circ C$  por 72 horas, foi utilizada para determinar a massa seca da raiz e massa seca da parte aérea e a relação raiz/parte aérea em balança analítica precisão.

## 2.3 RESULTADOS

### Variáveis Ambientais

A média para os três períodos de avaliação para a radiação fotossinteticamente ativa foi de  $999,9060 \mu\text{mol}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . A temperatura média ao longo do experimento situou-se em  $30,6^{\circ}\text{C}$  e a umidade relativa do ar em  $81,5\%$ , as máximas e mínimas encontram-se na tabela 3. Os valores obtidos na tabela são referentes às observações realizadas das 06:00 às 18:00h durante o período de dez dias. Já o DPV obtido foi de 2,19; 2,16 e 1,54 KPa para o primeiro, segundo e terceiro ponto de coleta dos dados, respectivamente.

Trabalhos que envolvem o monitoramento de aspectos fisiológicos sob condições naturais são de uma forma ou de outra afetada pelas condições climáticas, mas dão uma oportunidade para melhor entender os fatores que mais influenciam o metabolismo da planta (SANT' ANNA, 2009).

Tabela 3. Médias para temperatura do ar, da folha, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor da atmosfera em casa de vegetação.

Tempo (dias)	UR (%)	DPV (KPa)	T°C (ar)
0	82	2,19	32,7
5	81,46	2,16	32,5
10	81,07	1,54	33,5

T°C (folha)			
0	Controle	31,27	
	D.H		
5	Controle	31,74	
	D.H	31,55	
10	Controle	31,83	
	D.H	31,97	

Fonte: Próprio Autor

### Variáveis Fisiológicas

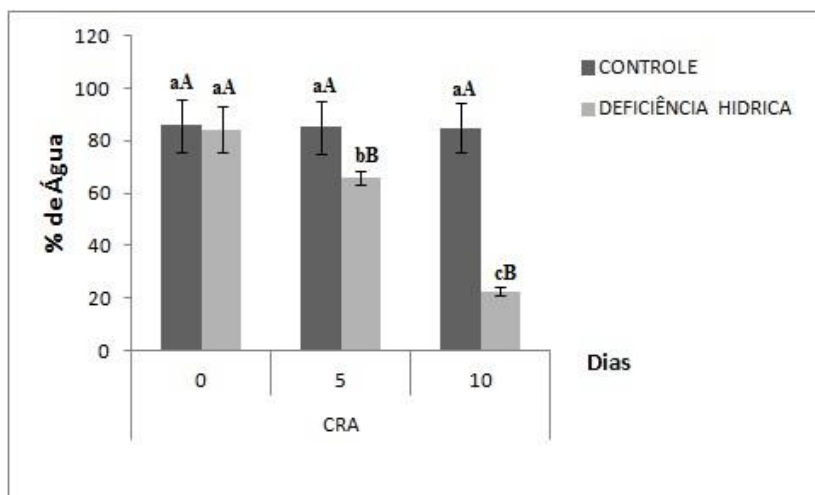
#### - Conteúdo Relativo de Água

O conteúdo relativo de água (Figura 1) apresentou diferença significativa quando feita comparação do tratamento controle com deficiência hídrica, redução esta que pôde ser mais notória a partir do quinto dia de experimento, onde reduziu de  $85,31\%$  para  $66,07\%$  do teor de água nos tecidos foliares das plantas controle e

deficiência hídrica, respectivamente. Redução esta que refletiu diretamente na atividade fotossintética (Figura 2) das plantas, e conseqüentemente em todos os processos metabólico das mesmas.

No terceiro ponto de coleta dos dados o percentual de água nas folhas foi drasticamente reduzido de 84,81 a 22,67% nas plantas controle e deficiência hídrica, demonstrando desta forma que toda água livre dos tecidos foliares já haviam sido dissipadas, restando somente água higroscópica e gravitacional. O que representou uma redução de 32,14% no CRA das plantas sob deficiência hídrica em relação à planta controle.

Figura 1. Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



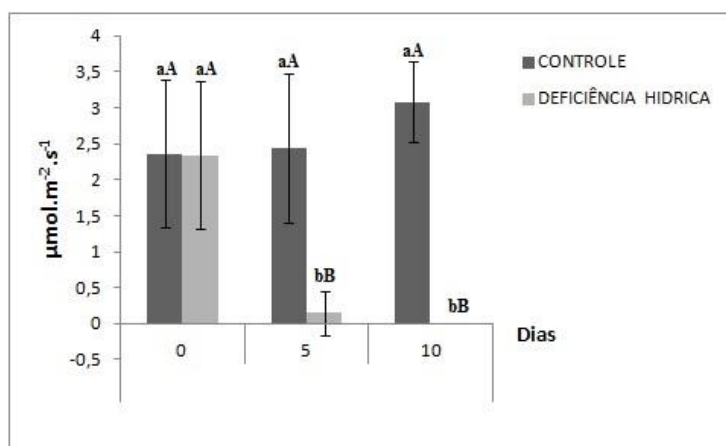
As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

#### - Fotossíntese

Havendo diferença significativa para a taxa de assimilação líquida (Figura 2), sendo reduzida a partir do 5º dia de suspensão hídrica, de 2,44 para 0,1526  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  do controle para o déficit hídrico. As plantas controle obtiveram uma média de 3,0778 e as plantas sob deficiência hídrica de 0,7466 ao longo dos três tempos de observação do experimento. No último ponto de observação, as plantas sob deficiência hídrica já se encontravam sob estresse hídrico severo, com o valor da taxa de fotossíntese igual à

zero, acontecimento este que provavelmente possa ter sido acelerado em decorrência da drástica redução de disponibilidade hídrica no solo. A atividade fotossintética apresentou uma redução de 68,41% quando feita comparação do controle com a deficiência hídrica. Apresentando correlação positiva na ordem de 76,79% com a variável CRA.

Figura 2. Taxa de assimilação líquida em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

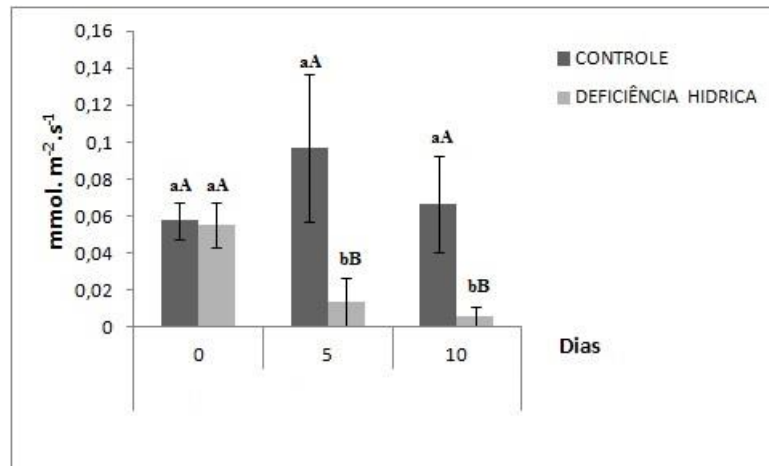
#### - Condutância estomática

Após cinco dias de experimento passou a ocorrer diferença estatística para a variável condutância estomática (Figura 3) nas plantas sob deficiência hídrica 0,0138 quando comparadas às plantas controle 0,0967  $\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , mantendo-se constante até o décimo dia e caindo mais ainda 0,0057 sob deficiência hídrica, sendo diretamente proporcionais com a redução do CRA, fato este que explica a correlação positiva na ordem de 82,54% entre as variáveis, o que correspondeu ao longo do experimento uma redução de 66,35%.

As variáveis fisiológicas acompanharam em parte as taxas do (DPV) e a radiação fotossinteticamente ativa, dependentemente do CRA. O comportamento não fica tão evidente quando ocorre um maior incremento da transpiração e condutância estomática com a diminuição do DPV, já que a radiação fotossinteticamente ativa não

oscilou tanto ao longo do experimento, até o ponto de saturação. Entretanto, essa resposta decresce de acordo com o status hídrico de cada planta, não podendo dessa forma ser generalizada para outras.

Figura 3. Condutância estomática (gs) em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



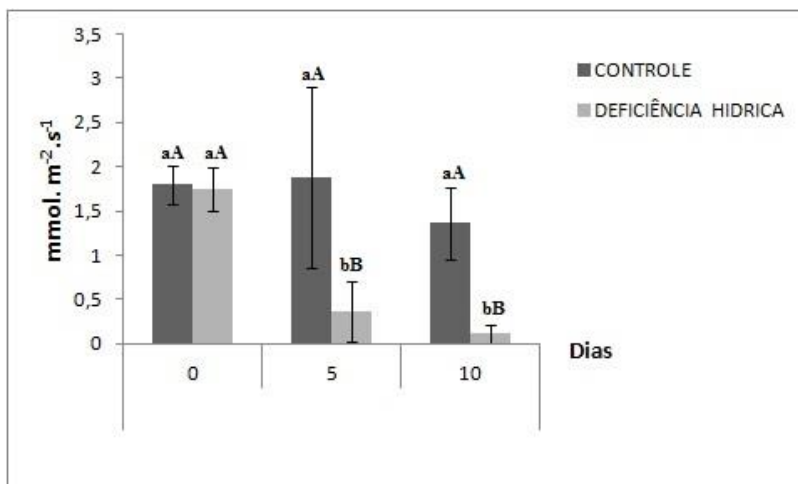
As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

#### - Transpiração

As plantas apresentaram diferenças significativas para a variável transpiração (Figura 4) a partir do quinto dia, com reduções de 1,8762 para 0,3662  $\text{mmol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  para os tratamentos controle e deficiência hídrica respectivamente, e de 1,3604 para 0,1122  $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ao décimo dia, o que representou uma redução de 55,79% para a variável. Demonstrando que esta variável foi consideravelmente reduzida nas plantas com menor disponibilidade hídrica no solo.

Apresentando ainda uma correlação positiva de 81,96% com a variável CRA.

Figura 4. Transpiração (E) em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### Variáveis Biométricas

#### - Altura

Houve diferença estatística apenas para o tratamento 2 (condição hídrica) obtendo-se então as médias de 13,40 e 12,63 cm para os tratamentos controle e déficit, respectivamente. Sendo notória a estagnação do crescimento em altura (Figura 5A) quando comparada a média dos controles com o último ponto para as plantas sob deficiência hídrica, reduzindo de 13,4 para 12,06 cm, representando uma redução de 5,77% no crescimento da variável altura.

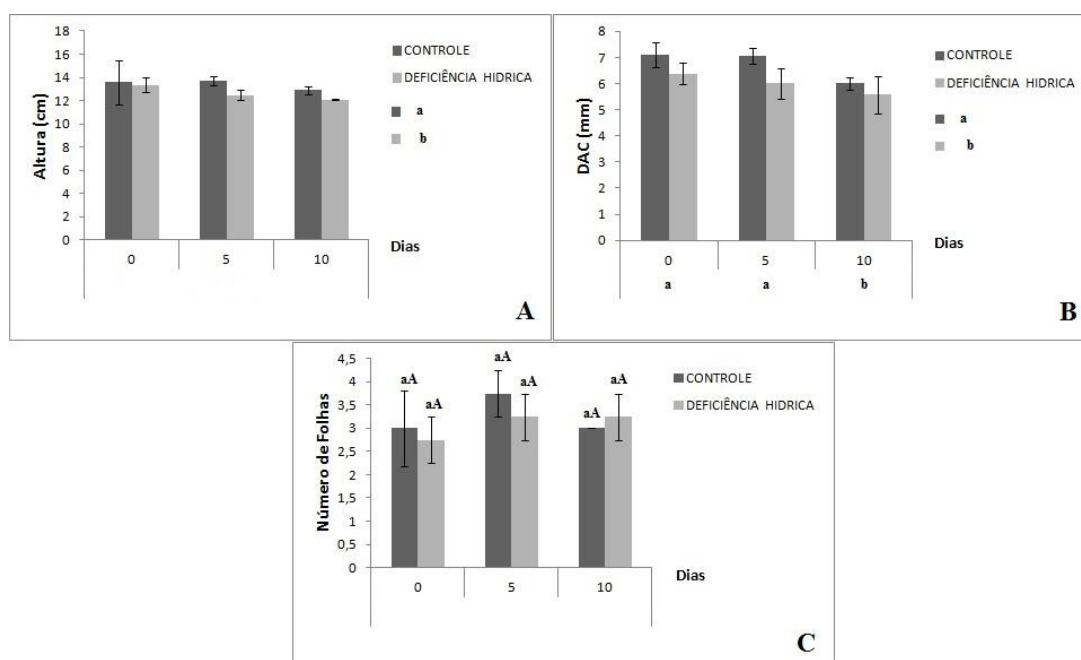
#### - DAC

A variável DAC (Figura 5B) apresentou diferença estatística apenas para o tratamento 1 (tempos de suspensão), com médias de 6,73; 6,52 e 5,79 mm nos pontos 0, 5 e 10 dias de suspensão hídrica. E para o tratamento 2 as médias de 6,72 e 5,98 mm nos tratamentos controle e deficiência hídrica, respectivamente. Assim como a variável altura, o DAC também apresentou uma redução absoluta nas observações das plantas controle, média de 6,71 para 5,58 mm na planta submetida à deficiência hídrica no décimo dia de experimento, representando uma redução de 10,94% na variável.

### - Número de Folhas

A variável número de folhas (Figura 5C) não apresentou diferença estatística para ambos os tratamentos, tanto para a interação quanto para os fatores analisados isoladamente, ficando com a média de três folhas por planta.

Figura 5. Variáveis de crescimento (A) altura, (B) DAC e (C) número de folhas em mudas de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### - Massa seca da parte aérea e raiz

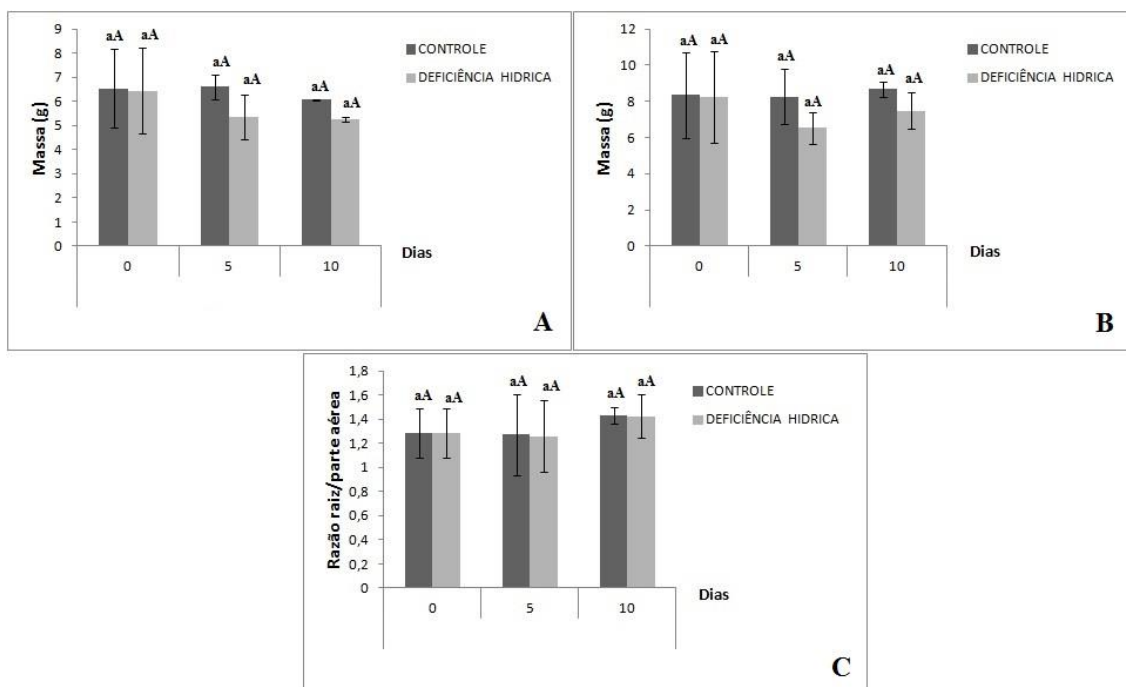
Não foi possível verificar diferença estatística para os tratamentos controle e deficiência hídrica da massa seca da parte aérea (Figura 6A) e raiz (Figura 6B), tanto para fatores isolados quanto para a interação entre os mesmos. Embora não tenha ocorrido diferença estatística entre os tratamentos, nota-se claramente um maior incremento de biomassa na parte da raiz quando comparada à parte aérea para as plantas submetidas à deficiência hídrica, com 4,67g para a parte aérea e 7,44g para a raiz.

Quanto à relação raiz/parte aérea (Figura 6C), também não verificou-se diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos controle e deficiência hídrica,



este comportamento talvez seja explicado pelo pequeno intervalo de tempo utilizado na avaliação do experimento. Apresentando as médias de 1,22 e 1,25g para os tratamentos controle e deficiência hídrica ao quinto dia e de 1,42 e 1,44g ao décimo dia.

Figura 6. Massa seca da parte aérea (A) e massa seca da raiz (B) e relação raiz/parte aérea (C) em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

## 2.4 DISCUSSÃO

### Variáveis Fisiológicas

#### - CRA

De acordo com Pincelli (2010), o controle das funções fisiológicas está diretamente relacionado com o conteúdo hídrico da planta e as alterações no CRA afetam diretamente todo o aparato fotossintético, como pôde ser observado de acordo com a Figura 3. Se o período de seca for prolongado, a deficiência hídrica pode afetar a cultura, com redução na altura da planta, na taxa de crescimento relativo, o índice de área foliar, conteúdo relativo de água e na taxa fotossintética, como se pode observar na Figura 4.

Rahimi (2010) ao avaliar o desempenho de duas espécies de Plântago (*Plantago ovata* e *P. psyllium*) submetidas à deficiência hídrica observou que ambas reduziram o CRA a partir do 7º dia após a suspensão da irrigação e encontrado valores para CRA em torno de 60%. Já neste estudo após 5 dias de suspensão hídrica o CRA das plantas situou-se em 66,07%.

Neste estudo assim como de Coscolin (2012) apontam uma relação direta entre a redução do CRA e paralela com a redução de parâmetros de crescimento e trocas gasosas. Tais reduções comprometeram seriamente o metabolismo das plantas, como podemos observar através das variáveis de crescimento e trocas gasosas. Smit e Singels (2006) afirmam que valores de CRA abaixo de 75% já promovem limitações nas atividades fisiológica das plantas. Pacheco (2011) ao avaliar a deficiência hídrica em *Calendula officinalis*, também observou uma diminuição significativa no CRA, atingindo um valor médio de 48,5%.

#### - Fotossíntese

Independente do tipo de metabolismo, o estresse hídrico causa redução na fotossíntese e o aumento da respiração, promovendo um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (PEREIRA et al, 2012). Vítolo e Souza (2012) afirmam que quando a planta sofre algum tipo de estresse a fotossíntese, respiração, transporte de elétrons pela membrana e a atividade enzimática são reduzidas, quando a integridade funcional dos cloroplastos e membranas mitocondriais são afetadas, e no caso deste estudo, o estresse hídrico por falta.

Quando a planta encontra-se em situação de estresse hídrico ocorre o fechamento dos estômatos, a fim de evitar a completa desidratação das folhas, com isto limita a difusão do CO<sub>2</sub> para o mesófilo foliar o que acarreta diminuição da fotossíntese (CHAVES et al., 2009). Estudos comprovam que o fechamento estomático afeta o crescimento do vegetal, uma vez que promove a redução das taxas fotossintéticas limitando a produção de fitomassa, em função da pouca oferta de CO<sub>2</sub> (ASHRAF, 2010).

Para Sanda et al (2011) os mecanismos não estomáticos a nível de cloroplastos, como o transporte de elétrons e a fotofosforilação podem estar relacionados a inibição ou redução da fotossíntese. O fotossistema II depende da água para a geração de energia

química, requerida posteriormente para a fixação de CO<sub>2</sub>, variações na disponibilidade hídrica geram menor eficiência do fotossistema II, ou seja, com recurso de água limitado, menos ATP e NADPH são formados e, como consequência, menos CO<sub>2</sub> é fixado no sítio de carboxilação (PINHEIRO e CHAVES, 2011).

As trocas gasosas atuam no balanço energético das folhas, participando da regulação de sua temperatura, de maneira a deixá-la dentro da faixa de valores adequados aos processos fisiológicos das plantas e de adaptação destas ao ambiente. O controle da transpiração é realizado pelo fechamento estomático, que é o único processo no continuum solo-planta-atmosfera que possui essa resposta instantânea (PINCELLI, 2010).

Para todas as variáveis de trocas gasosas pôde-se observar o dobramento dos folíolos em cada folha/planta. De acordo com Kadioglu et al (2012) o enrolamento e o dobramento foliar são mecanismos hidronásticos que reduzem a interceptação de luz, a transpiração e a desidratação foliar. Sugere-se que por esse motivo todas as variáveis de trocas gasosas tenham apresentado valores relativamente baixos, relacionado às condições ambientais no momento do experimento, tendo em vista que ao final do período de dez dias as plantas encontravam-se num ponto de murcha bastante avançada.

Corroborando com este estudo, Moraes (2011) avaliando diferentes híbridos de eucalipto sob deficiência hídrica encontrou diferença estatística para a taxa de assimilação líquida ( $P < 0,01$ ) entre os regimes de irrigação e os híbridos ao final do período de suspensão.

#### - Condutância estomática

Em situações de baixa disponibilidade hídrica no solo as plantas minimizam as perdas de água ao reduzir a condutância estomática, conseqüentemente, afetando negativamente as variáveis de crescimento em termos absolutos. A queda nas taxas de *g<sub>s</sub>* em decorrência do fechamento gradual da abertura estomática causa um decréscimo na *E*, no tratamento sob deficiência hídrica, devido à elevação do DPV no decorrer do dia.

As respostas fisiológicas e bioquímicas variam de acordo com o genótipo, mas de modo geral as modificações referentes à deficiência hídrica incluem o menor potencial

hídrico no solo e nas folhas, refletindo no decréscimo da condutância estomática e taxa fotossintética (POLIZEL, 2007).

Sant' Anna (2009) observou que a  $g_s$  chegou a atingir valores críticos de ( $0,00 \text{ molm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) durante o período de suspensão hídrica de 11 dias, onde a  $g_s$  apresentou comportamento semelhante à transpiração.

Devido a forte relação entre a condutância estomática e outros parâmetros fotossintéticos nos levam a apontar a  $g_s$  como caractere de referência para avaliar o grau de estresse hídrico. Pois Pita et al, (2005) afirmam que condutância estomática pode ser uma ferramenta útil no melhoramento genético para seleção para maior produtividade em ambientes propensos à seca, porque a condutância estomática fornece uma ligação crucial entre a perda de água pela transpiração e ganho de carbono e, portanto, do crescimento e entre a economia de água pelo fechamento dos estômatos e maior estresse por calor.

Segundo Chagas (2013) esta redução em resposta ao déficit hídrico está relacionada com a diminuição do conteúdo relativo de água e, provavelmente, ao acúmulo de ácido abscísico nas folhas, acarretando no fechamento estomático. Oliveira (2014) também observou que as taxas de  $E$  acompanharam a redução da  $g_s$  para as duas espécies *Syagrus coronata* e *Acrocomia aculeata* em condições de seca.

#### - Transpiração

Outra variável que se correlaciona com a transpiração é o DPV, que aumenta com o aumento da transpiração, e que as respostas variam entre espécies e entre genótipos da mesma espécie (KHOLOVÁ et al., 2010). De acordo com Mota (2011) o fechamento gradual da abertura estomática ao longo do dia causa um decréscimo da  $g_s$  e da  $E$ , mais acentuado no tratamento sob deficiência hídrica, devido à elevação do DPV no decorrer do dia, contrariando o comportamento do DPV ao longo do experimento que se mostrou decrescente.

A demanda evaporativa é um dos fatores que afetam o 'status' de água das folhas, sendo observado decréscimo do potencial hídrico com o aumento do déficit de pressão de vapor do ar (MACHADO et al., 2002).

Ao longo do experimento o DPV foi decrescente, no entanto, o nível mínimo de água no substrato já havia sido atingido, o que não ajudou de forma alguma para atenuar os danos causados nas plantas, tendo em vista que a transpiração continuou a ser reduzida do quinto ao décimo dia, e resultando na morte das mesmas. Morte esta que provavelmente possa ter sido agravada em decorrência das condições climáticas adversas, de temperaturas elevadas, tendo em vista que o ano de 2015 coincidiu com o que grande parte da comunidade científica denominou de o ano do “Super El Niño”.

Como preconizado por Silva (2013) o processo de transpiração está diretamente associado à condutância estomática, responsável pela troca de gases e vapores, com a redução do potencial hídrico. O fechamento estomático causa uma maior redução do fluxo de H<sub>2</sub>O para fora da folha do que no fluxo de CO<sub>2</sub> que chega aos cloroplastos, diminuindo mais a taxa transpiratória que a taxa fotossintética (RIVAS et al., 2013).

Provavelmente, mesmo com o fechamento estomático a transpiração continuou ocorrendo, embora em taxas mínimas, demonstrando desta forma uma possível transpiração cuticular nesta espécie. Comportamento e resultado estes que puderam ser observado neste experimento.

A redução da transpiração provavelmente 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 (LIMA, 2015).

Para Alves (2010) uma das causas da diminuição da transpiração pode ser atribuída à diminuição do suprimento de água pelo decréscimo da condutividade hidráulica das raízes ou pela morte de raízes, causando queda no potencial hídrico das folhas. Este mesmo autor trabalhando com plantas de *Tabebuia serratifolia* encontrou reduções de 99% nas taxas de transpiração sob deficiência hídrica em relação às plantas controle.

### **Variáveis biométricas**

- Altura

Segundo Jaleel et al. (2009), a limitação hídrica é considerada um dos mais importantes fatores de estresse que limitam o crescimento das plantas. Pois de acordo

com Jesus e Azevedo Neto (2013), a avaliação do crescimento é um parâmetro utilizado para evidenciar a tolerância das plantas sob estresse.

A manutenção da turgescência é um pré-requisito necessário para o alongamento e crescimento celular e, conseqüentemente, o fornecimento limitado de água pode causar grandes reduções no crescimento das plantas (WARREN et al, 2012).

Nascimento et al (2011) trabalhando com mudas de *Hymenaea coubaril* também não encontrou diferenças estatísticas entre os tratamentos após um período de 49 dias de suspensão hídrica.

- DAC

De acordo com Lechinoski et al, (2007) a falta de água no solo torna a variável como o diâmetro limitante ao crescimento das espécies vegetais quando submetidas à condição de deficiência hídrica.

Almeida (2005) avaliando o diâmetro à altura do coleto em plantas de *Hymenaea courbaril* observou diferenças estatísticas para o tratamento com apenas 25% da capacidade de campo, evidenciando desta forma a influência da deficiência hídrica na redução biométrica das plantas.

-Número de Folhas

Em virtude com curto período de tempo que as plantas foram submetidas à deficiência hídrica, a emissão de novas folhas não sofreu influência. De forma não possível verificar diferença para ambos os tratamentos, tanto para os fatores isolados quanto para a interação.

Para Silva e Nogueira (2003) espécies lenhosas apresentam redução na emissão de novas folhas após indução de deficiência hídrica.

Diferindo deste estudo, os autores acima encontraram diferenças significativas entre três espécies lenhosas (*Mimosa cesalpinifolia*, *Prosopis juliflora* e *Tabebuia aurea*), ao encontrar redução na emissão de novas folhas quando as plantas foram submetidas à deficiência hídrica.

- Massa seca parte aérea, raiz e razão raiz/parte aérea

Para Pereira et al, (2003) é muito importante avaliar o crescimento do sistema radicular e da parte aérea, com base no acúmulo de matéria seca e do incremento da área foliar. Pois, os índices determinados na análise de crescimento indicam a capacidade do sistema assimilatório das plantas em sintetizar (fonte) e alocar a matéria orgânica nos diversos órgãos (drenos) que dependem da fotossíntese, respiração e translocação de fotoassimilados dos sítios de fixação de carbono, aos locais de utilização ou de armazenamento, onde ocorrem o crescimento e a diferenciação dos órgãos (FONTES et al, 2005).

Moraes (2011) trabalhando com plantas de eucalipto encontrou resultados semelhantes, com a biomassa da parte aérea inferior à raiz quando as plantas foram submetidas à deficiência hídrica. Em relação ao crescimento radicular, algumas espécies florestais tendem a incrementar o crescimento das raízes após submissão do déficit hídrico (NASCIMENTO, 2013). Pois de acordo com Larcher (2006) em situações adversas, o crescimento radicular pode ser superior ao da parte aérea, principalmente em situações de seca, uma vez que as mesmas ampliam suas raízes para regiões mais profundas do solo à procura de água.

Suassuna et al, (2012) encontraram incrementos na relação raiz/parte aérea em alguns genótipos de citros também submetidos à deficiência hídrica, diferindo desta maneira com a pesquisa aqui desenvolvida.

## **2.5 CONCLUSÃO**

O status hídrico do mesófilo CRA, as trocas gasosas e as variáveis de crescimento foram fortemente afetados pelos fatores relacionados à disponibilidade hídrica do solo principalmente quando as condições de deficiência avançaram.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, J.M. Botânica da seringueira. In. **Curso de especialização em heveicultura**, Belém. SUDHEVEA/FCAP, 15p. Belém, 2013.

ALMEIDA, S. M. Z. et al. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.62-68, 2005.

ALVES, G.A.R. **Aspectos ecofisiológicos, bioquímicos e crescimento de plantas jovens de Ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) em condições de déficit hídrico e alagamento**. Tese de Doutorado em Ciências Agrárias. Universidade Federal Rural da Amazônia. 2010.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: some recent advances. **Biotechnology Advances**, 28: 169-183. 2010.

BUCKERIDGE, M.S. Mudanças climáticas, biodiversidade e sociedade: como a teoria de redes pode ajudar a compreender o presente e planejar o futuro? **Multiciência**, v.8, p.88-107. 2007.

CHAGAS, J.R.M; COELHO, K.N.N; BARBOSA, M.A.M; BARBOSA, J.R.S; PEREIRA, T.S; VIANA, G.D.M; LOBATO, A.K.S. **Condutância estomática em plantas jovens de *Euterpe oleracea* (Arecaceae) sob déficit hídrico**. 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte/MG. 2013.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt Stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, p. 551-560, 2009.

COATES, J.C.; MOODY, L.A.; SAIDI, Y. Plants and the earth system - past events and future challenges. **New Phytologist**, Oxford, v. 189, n. 2, p. 370-373. 2011.

COSCOLIN, R.B.S. **Efeitos fisiológicos e bioquímicos induzidos por deficiência hídrica em plantas de *Ocimum basilicum* L.** Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista. 2012.

FONTES, P. C. R.; DIAS, E. N.; SILVA, D. J. H. Dinâmica do crescimento, distribuição de matéria seca na planta e produção de pimentão em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v.23, p.94-99, 2005.

FRANKE, I.L. **Principais usos e serviços de árvores e arbustos promissores que ocorrem em pastagens no estado do Acre**. Comunicado Técnico: EMBRAPA/AC, n.106, p.1-6,1999.

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



IPCC: **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate**, Geneva, Switzerland, 151 pp. 2014.

JALEEL, C. A. MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 11, p. 100-105, 2009.

JESUS D. S.; AZEVEDO NETO, A. D. Aluminum Tolerance in Sunflower Plants Is Associated with Phosphorus Content in the Roots. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 44 n. 22, p. 3423-3430, 2013.

KHOLOVÁ, J.; HASH, C.T.; KUMAR, P.L.; YADAV, R.S.; KOČOVÁ, M.; VADEZ, V. Terminal drought-tolerant pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] have high leaf ABA and limit transpiration at high vapour pressure deficit. **Journal of Experimental Botany**, v.61, p.1431-1440, 2010.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. CHBA. Ed Rima, São Carlos. 531p. 2006.

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

LIMA, E.G.S. **Respostas ecofisiológicas e bioquímicas em folhas de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) sob três regimes hídricos e suspensão dos estresses**. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. Universidade Federal Rural da Amazônia. 2015.

LIMA, H.C. TACHIGALI. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2010.

MELO, A. S.; SUASSUNA, J. F.; FERNANDES, P. D.; BRITO, M. E. B.; SUASSUNA, A. F.; NETTO, A. O. A. Crescimento vegetativo, resistência estomática, eficiência fotossintética e rendimento do fruto da melancia em diferentes níveis de água. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, p.73-79, 2010.

MORAES, J.V. **Parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos em híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sob diferentes regimes de irrigação em casa de vegetação**. Tese de Doutorado em Agronomia. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. 2011.

MOTA, C.S. **Características fotossintéticas da palmeira Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) submetida à deficiência hídrica**. Tese de Doutorado em fisiologia vegetal. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa/MG. 2011.

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

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

OLIVEIRA, D.A.S. **Respostas ecofisiológicas e morfoanatômicas de Licuri e Macaúba sob condições de campo**. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal, área de concentração: Ecologia vegetal. Universidade Federal de Pernambuco. Recife/PE. 2014.

PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. R.; SOUZA, C. G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em Calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 2, p. 275-281, 2011.

PEREIRA, J. W. L. et al. Mudanças bioquímicas em s de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, n.4, p.766-773, out./dez, 2012.

PEREIRA, W. E.; SIQUEIRA, D. L. DE; PUIATTI, M. Growth of citrus rootstocks under aluminium stress in hydroponics. **Scientia Agricola**, v.60, p.31-41, 2003.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: Edur, 191p, 2004.

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

PITA, P.; CAÑAS, I.; SORIA, F.; RUIZ, F., TOVAL, G. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. **Investigacion Agraria: sistemas y recursos Forestalis**, Madrid, v.14, n. 3, p. 383-393, 2005.

POLIZEL, A. M. **Avaliações moleculares, morfo-anatômicas e fisiológicas de soja geneticamente modificada com a construção rd29:DREB1A de *Arabidopsis thaliana*, visando tolerância à seca**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2007.

RAHIMIA, A.; MADAH HOSSEINI, M.; POORYOOSSEF, I.; FATEH, I. Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of *Plantago ovata* and *P. psyllium*. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 2, p. 53-60, 2010.

RIVAS, R.; OLIVEIRA, M. T.; SANTOS, M. G. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 200-208, 2013.

ROOS, J.; HOPKINS, R.; KVARNHEDEN, A.; DIXELIUS, C. The impact of global warming on plant diseases and insect vectors in Sweden. **European Journal of Plant Pathology**, v.129, n.1, p.9-19, 2011.

SANDA, S. et al. Responses of the photosynthetic electron transport system to excess light energy caused by water deficit in wild watermelon. **Physiologia Plantarum**, v.142: p.247-264. 2011.

SANT' ANNA, H. L. S. **Aspectos fisiológicos de variedades de citrus submetidos à deficiência hídrica progressiva**. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das almas/BA. 2009.

SILVA, E.C.A. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas em mudas de *Moringa oleifera* Lam submetidas a estresses abióticos**. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2013.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. Crescimento de quatro espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico em casa-de-vegetação. **Revista Ceres**, v.50, n.288, p.203-217, 2003.

SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. New York: **Springer Verlag**, 449p, 1979.

SMIT, M. A.; SINGELS, S. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, Ontario, v. 98, n. 2-3, p. 91-97, 2006.

SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of connections from available data? **Journal Experimental Botany**. v.62: p.869-882, 2011.

SOUSA, E. B. M. **Indicadores fisioquímicos para seleção de plantas de algodão herbáceo tolerantes à seca**. 94f. Dissertação (Mestrado em Botânica/Fisiologia Vegetal). Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, 2008.

SUASSUNA, J. F; FERNANDES, P. D; NASCIMENTO, R; OLIVEIRA, A. C. M; BRITO, K. S. A; MELO, A. S. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação de porta-enxerto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.12, p.1305-1313. 2012.

VÍTOLO, H. F.; SOUZA, G. M.; SILVEIRA, J. A.G. Cross-scale multivariate analysis of physiological responses to high temperature in two tropical crops with C3 and C4 metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 80, p. 54– 62. 2012.

WARREN, C. R; ARANDA, I; CANO, F. J. Metabolomics demonstrates divergent responses of two Eucalyptus species to water stress. **Springer Metabolomics**, Berlin, v.8, p.186-200. 2012.

## **Metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas jovens de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica**

### **RESUMO**

Espécies arbóreas, por serem incapazes de escapar da seca como algumas plantas anuais têm desenvolvido muitos mecanismos de tolerância à seca. 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. *Tachigali vulgaris* é uma espécie pioneira, colonizadora de terrenos marginais e margens de estradas, que frequentemente inicia a sucessão secundária em áreas abertas pela germinação intensa de suas sementes no solo. As respostas bioquímicas de plantas ao déficit hídrico estão relacionadas à capacidade de síntese e/ou acúmulo de osmólitos compatíveis com propriedades regulatória do potencial hídrico celular, como a prolina, a glicina betaína, os aminoácidos solúveis, os carboidratos solúveis e a sacarose. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do laboratório de Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores EBPS/UFRA em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 x 2 (três tempos: zero, cinco e dez dias de suspensão hídrica, e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 4 repetições, sendo aplicada a análise de variância nos resultados e quando necessário, as médias foram comparadas pelo teste *t* ao nível de 5 % de probabilidade, através do pacote estatístico (Assistat 7.7 beta, 2015). Os processos bioquímicos nas plantas de *T.vulgaris* foram fortemente afetados pela deficiência hídrica, através da redução do CRA; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; amido e da atividade da redutase do nitrato, elevação nas concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, vazamento de eletrólitos; concentrações de prolina, sacarose, aminoácidos e carboidratos solúveis totais.

**Palavras chave:** bioquímica. Pigmentos. Ajustamento. Nitrato.

### **ABSTRACT**

Tree species, being unable to escape the drought as some annual plants have developed many mechanisms of drought tolerance. Stress is a deviation from optimal conditions of development of the plant, which can be changes and responses in the body or part of it as a whole. *Tachigali vulgaris* is a pioneer species, colonizing marginal lands and roadsides, often initiates secondary succession in open areas by the intense germination of their seeds in the soil. The biochemical responses of plants to water stress are related

to the capacity of synthesis and/or osmolytes accumulation consistent with regulatory properties of the cell water potential as proline, glycine betaine, soluble amino acids, soluble carbohydrates and sucrose. The experiment was conducted in Biodiversidade Studies Lab greenhouse Higher Plants EBPS/UFRA in experimental design was completely randomized (DIC) in a factorial 3 x 2 (three times: zero, five and ten days of water suspension, and two water conditions: control and drought stress), with four repetitions, being applied to analysis of variance in the results and when necessary, the means were compared using the t test adopting the 5% level of probability through the statistical package (Assistat 7.7 beta, 2015). The biochemical processes in plant *T.vulgaris* were strongly affected by water deficit by reducing the CRA;  $\text{NO}_3^-$ ; starch and nitrate reductase activity, rise in  $\text{NH}_4^+$  concentrations, electrolyte leakage; proline concentrations, sucrose, amino acids and total soluble carbohydrates.

**Keywords:** Biochemistry. Pigments. Adjustment. Nitrate.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Espécies arbóreas, por serem incapazes de escapar da seca como algumas plantas anuais têm desenvolvido muitos mecanismos de tolerância à seca. Considerando que cada tipo de estratégia é específico para determinada espécie, o conhecimento da estratégia de resistência permite a seleção de características fisiológicas que podem ser usadas em programas de melhoramento (PITA et al., 2005). Por se tratar de um estágio chave no ciclo de vida das espécies arbóreas o estágio de muda é o mais crítico, pois, da capacidade de sobrevivência da muda dependerão todos os estágios posteriores (TYREE et al., 2003) e possuem um sistema radicular ainda pouco desenvolvido que limita o acesso à água do solo, as mudas são especialmente vulneráveis ao estresse hídrico (SLOT & POOTER, 2007). Por essa razão, grande parte dos estudos com espécies arbóreas refere-se ao estágio de muda ou à fase inicial de crescimento em ambientes com variáveis mais controláveis.

Para 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. É evidente que as plantas estão modificando seus processos fisiológicos e ecológicos, a fim de se adaptar e sobreviver para os novos cenários ambientais impostos pelas mudanças globais (COATES et al, 2011).

Diante disso necessita-se de estudos aprofundados sobre as espécies vegetais frente às oscilações do meio, tendo em vista que as alterações no clima vêm sendo de grande influência para a prática sustentável da silvicultura. Em particular, estudo sobre plantas pertencentes à família Leguminosae, muito utilizadas em plantios para recuperação de áreas degradadas.

*Tachigali vulgaris* é uma espécie pioneira, colonizadora de terrenos marginais e margens de estradas, que frequentemente inicia a sucessão secundária em áreas abertas pela germinação intensa de suas sementes no solo. Tem se destacado pelo rápido crescimento e sua madeira é amplamente utilizada por comunidades rurais do Centro-Oeste e Nordeste, na confecção mourões, esteios, embalagens e caibros, na construção civil, além de fonte para a produção de lenha e carvão vegetal, sendo inclusive indicada para plantios energéticos (FRANKE 1999). É uma espécie endêmica do Brasil, onde são registradas para as regiões Nordeste (Maranhão, Piauí, Ceará e Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso do Sul) e Norte (Pará, Amazonas e Tocantins), ocorrendo nos domínios fitogeográficos da Caatinga, Cerrado e Amazônia (LIMA, 2012).

De acordo com Matos et al (2012), o metabolismo do nitrogênio depende substancialmente da disponibilidade de água na planta, como a atividade de algumas enzimas que são extremamente sensíveis ao déficit hídrico. Além do que tal metabolismo na folha pode representar um dreno consumidor de excesso de energia luminosa e possivelmente minimizar os danos do déficit hídrico (CARMO et al, 2014).

O ajustamento osmótico é uma resposta que muitas espécies tolerantes ao déficit hídrico utilizam para sobreviver quando os níveis de água no solo encontram-se reduzidos, de modo a evitar a desidratação. De acordo com os resultados do potencial hídrico pode-se observar um possível ajustamento osmótico para a espécie em estudo, uma vez que esta teve seu potencial hídrico reduzido e sua turgescência foliar conservada, conforme se pode observar com o valor do Teor Relativo de Água, com isso a espécie mantém ativo os processos biológicos importantes (SILVA, 2013).

Diante do pressuposto, a presente pesquisa tem por objetivo avaliar o metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas de Tachi branco sob três períodos de suspensão hídrica.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **Condução do experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do laboratório de Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores EBPS/UFRA durante os meses de abril a agosto do ano de 2015, onde as plantas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade de 4,5Kg de substrato, ficando por um período de dois meses de aclimação.

Para suprir a carência nutricional das mesmas foi aplicada solução nutritiva de (HOAGLAND e ARNON, 1950). As mudas foram adquiridas da Associação das indústrias Exportadoras de madeiras do estado do Pará – AIMEX, com idade de quatro meses. Sendo o lote das mudas formado por sementes oriundas do município de Alta Floresta, estado do Mato Grosso.

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

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcela subdivida (três tempos: zero, cinco e dez dias de suspensão hídrica, e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais (uma planta/vaso).

Sendo aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste *t* adotando-se o nível de 5 % de probabilidade, através do pacote estatístico (Assistat 7.7 beta, 2015).

### **Conteúdo Relativo de Água**

O CRA foi determinado entre 05:00 e 06:00h em cada coleta. Onde foram retirados os discos para a determinação imediata do CRA. O método utilizado foi o descrito por Slavick (1979), foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de um vazador de aço-inoxidável, determinando imediatamente a massa dos mesmos (MF1) em balança analítica. Em seguida os discos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo 35 ml de água destilada e deixados na bancada (25°C) por um período de 12 horas. Posteriormente os

discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70°C) por 24h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS).

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

### **Variáveis Bioquímicas**

#### **- Concentrações de nitrato**

Foram pesados 50 mg das folhas e das raízes 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, foram adicionados lentamente dentro do tubo 4700 µL de NaOH 2 N. Em seguida, 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 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 µmol mL<sup>-1</sup>). Os resultados foram expressos em mmol de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. kg<sup>-1</sup> MS de tecido. O método utilizado foi o de (CATALDO et al., 1975).

#### **- Atividade da Redutase do Nitrato (EC 1.6.6.1)**

Foram pesados, aproximadamente, 200 mg de discos das raízes e das folhas de 0,5 cm de diâmetro. 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), KNO<sub>3</sub> 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-naftiletlenodiamina 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 (3,0mL 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  $\text{NO}_2^-$  no meio de reação, sendo expressa em  $\mu\text{moles de NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , a partir de uma curva-padrão obtida com  $\text{KNO}_2$  p.a (Sigma). O método empregado foi o método *in vivo* preconizado por (HAGEMAN; HUCKLESBY, 1971).

#### - Concentrações de Amônio Livre

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

#### -Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais

Foram pesados 50 mg das folhas e das raízes, e colocados em tubos de ensaio com 5mL 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 xg, 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 0,250mL 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, efetuadas 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).

#### - Concentrações de Amido

O método utilizado para a obtenção das concentrações de amido foi segundo Dubois et al., (1956), onde foram feita 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 HClO<sub>4</sub> 30% por 30 minutos a 25 °C . Após as extrações centrifugou-se (2000 rpm por 10 minutos) e coletados 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 µL do sobrenadante + 400 µL de H<sub>2</sub>O 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e novamente agitado os tubos em vortex e levado após 20 min de repouso ao espectrofotômetro a 490 nm.

#### -Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais

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 min, 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 (20 minutos), a ABS das amostras foi registrada a 490 nm.

#### -Concentrações 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 (40 °C por 20 minutos) e, após resfriamento, a ABS das amostras foi determinada a 620 nm por meio de um espectrofotômetro (Genesys TM10 series, Thermo Electron Co., Wisconsin, USA).

#### -Concentrações de Prolina

Os teores de prolina foram determinados de acordo com Bates et al. (1973). 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<sup>TM</sup> 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<sup>-1</sup> de matéria seca (MS).

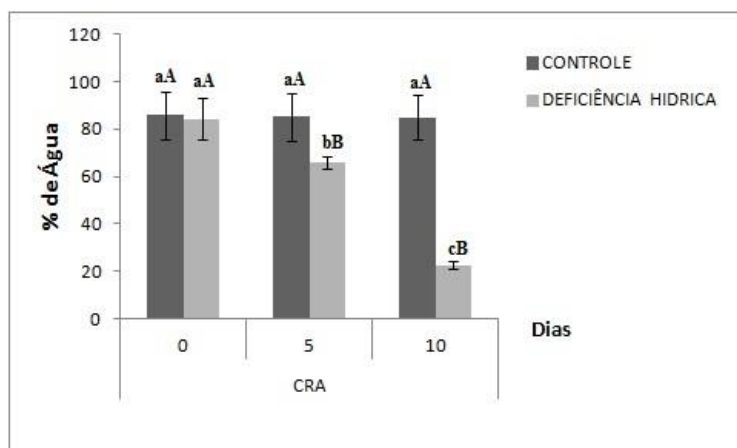
### **3.3 RESULTADOS**

#### Conteúdo relativo de Água

O conteúdo relativo de água (Figura 1) apresentou diferença estatística a partir do quinto dia de experimento, com médias de 85,31 para 66,07% no teor de água no tecido foliar dos tratamentos controle e deficiência hídrica respectivamente, em detrimento a diminuição de água do solo. Já no último ponto de coleta dos dados houve

uma drástica redução no CRA, de 84,81 para o tratamento e de 22,67% para deficiência hídrica, o que correspondeu uma redução de 32,14% no teor de água no tecido foliar.

Figura 1. Conteúdo Relativo de Água (A) em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### Concentrações de nitrato

Houve diferença estatística para a interação dos fatores na concentração de nitrato (Figura 7A) nas folhas ao nível de probabilidade definido, reduzindo de 0,1843 para 0,1433 mmoles de  $\text{NO}_3^-/\text{mg MS}$  nos tratamentos controle e deficiência hídrica ao quinto dia de experimento e de 0,1893 para 0,1283 mmoles de  $\text{NO}_3^-/\text{mg MS}$ , respectivamente, apresentando uma redução de 18,67% na concentração deste íon. As observações obtidas para as raízes foram significativas apenas para o tratamento 2 (condição hídrica), apresentando redução de 0,1097 no controle para 0,0939 mmoles de  $\text{NO}_3^-/\text{mg MS}$  sob deficiência hídrica, o que correspondeu uma redução de 14,40% na concentração do íon neste órgão.

### Atividade da Redutase do Nitrato

A partir do quinto dia passou a registrar-se diferença estatística na atividade da enzima redutase do nitrato no tecido foliar (Figura 7B) ao nível de 5% de probabilidade para a deficiência hídrica nos tecidos foliares (0,3098) quando comparado ao controle (0,3616  $\mu\text{moles de NO}_2^-/\text{g MF/h}$ ). Ao décimo dia houve maior redução da atividade

enzimática da redutase do nitrato (Figura 2B), de 0,3618 para 0,2355  $\text{NO}_2^-/\text{g}$  MF/h para controle e deficiência, respectivamente. O que representou ao longo do experimento uma redução de 17,06% na atividade da enzima.

Para o tecido da raiz também registrou-se diferenças significativas a partir do quinto dia de suspensão hídrica, reduzindo de 0,1461 no controle para 0,1261  $\text{NO}_2^-/\text{g}$  MF/h na deficiência. E no último ponto de coleta de 0,1490 para 0,1033  $\text{NO}_2^-/\text{g}$  MF/h nos tratamentos controle e déficit respectivamente. Representando uma redução de 15,77% na atividade enzimática.

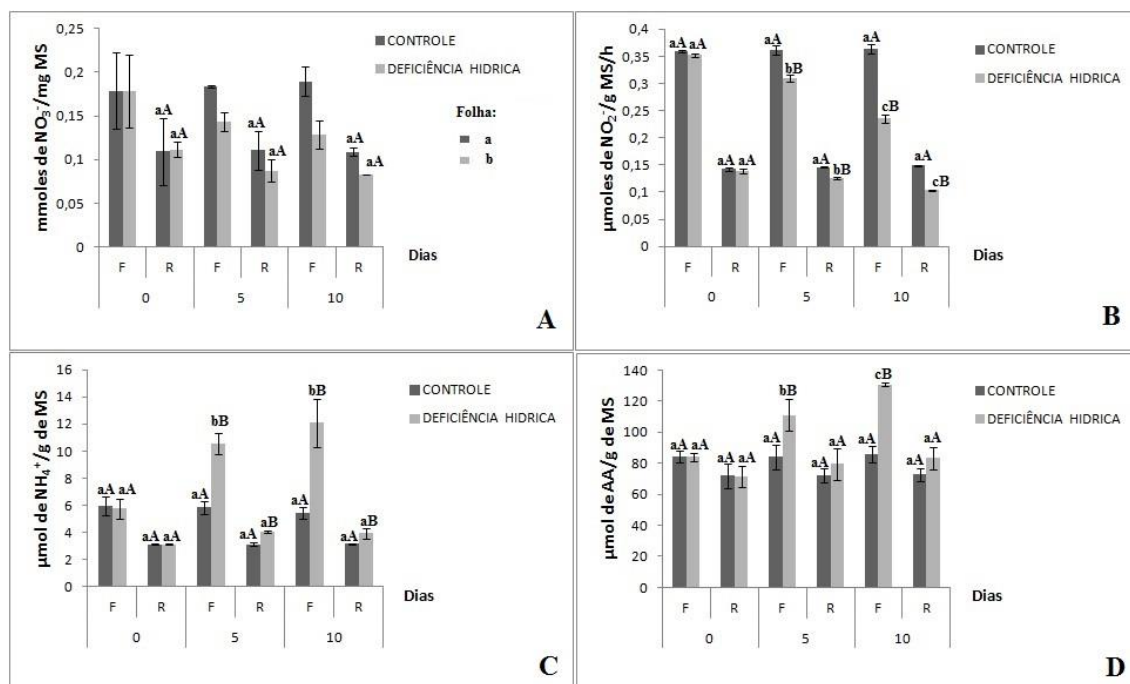
#### Concentrações de Amônio Livre

Após o quinto dia de experimento as médias do controle e deficiência hídrica passaram a diferenciar-se estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, havendo um acréscimo na concentração de amônio livre (Figura 7C) em tecidos foliares na ordem de 5,86 para 10,58  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+/\text{g}$  de MS e de 5,43 para 12,07  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+/\text{g}$  de MS ao décimo dia respectivamente, o que representou um aumento na ordem de 64,83% deste íon. Nos tecidos da raiz também houve diferença estatística na concentração de amônio livre para ambos os tratamentos a partir do quinto dia, pelo acréscimo de 3,14 para 4,05  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+/\text{g}$  de MS e de 3,17 para 3,93  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+/\text{g}$  de MS. Apresentando um aumento de 1,61% na concentração.

#### Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais

Para a concentração de aminoácidos solúveis totais (Figura 7D) foi possível observar diferença estatística ao nível de 5% probabilidade para os tecidos foliares, havendo acréscimo de 84,09 para 111,96  $\mu\text{mol}$  de AA/g de MS a partir do quinto dia, aumentando ainda mais ao décimo dia de avaliação para 130,74  $\mu\text{mol}$  de AA/g de MS, obtendo um aumento de 28,03% na sua concentração. Havendo também diferença significativa para o tecido da raiz, aumentando de 72,38 para 79,48  $\mu\text{mol}$  de AA/g de MS ao quinto dia e de 72,77 para 83,51  $\mu\text{mol}$  de AA/g de MS ao décimo dia, para o tratamento controle e deficiência hídrica respectivamente, representando um aumento na ordem de 8,42%.

Figura 2. Concentrações de Nitrato (A), Redutase do Nitrato (B), Amônio (C) e Aminoácidos (D) plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### Concentrações de Amido

As concentrações de amido da folha (Figura 8A) apresentaram diferenças significativas a partir do quinto dia, com reduções na ordem de 0,7003 para 0,4948 mmol de GLU/g de resíduo nos tratamentos controle e deficiência hídrica, respectivamente. Tornando a reduzir novamente ao décimo dia de experimento, de 0,6868 para 0,3958 mmol de GLU/g de resíduo, representando uma redução de 44,98% na sua concentração. O mesmo comportamento também foi observado para a raiz, com reduções de 0,641 para 0,542 ao quinto dia e, de 0,643 para 0,373 mmol de GLU/g de resíduo ao décimo dia de experimento, o que representou uma redução de 21,07%.

### Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais

Não houve diferença estatística para a interação dos fatores na variável carboidratos solúveis totais (Figura 8B) em tecidos da folha, havendo somente diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade para o tratamento 2 (condição hídrica), com

as médias de 0,7080 no controle e de 0,7301 mg de CTS.g<sup>-1</sup> MS sob deficiência hídrica, representando um aumento de 3,12%. A mesma observação foi conferida para tecidos da raiz, com diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade apenas para o tratamento 2 (condição hídrica), com médias de 0,2822 no controle e de 0,3134 mg de CTS.g<sup>-1</sup> MS sob deficiência hídrica, obtendo um aumento na ordem de 11,05%.

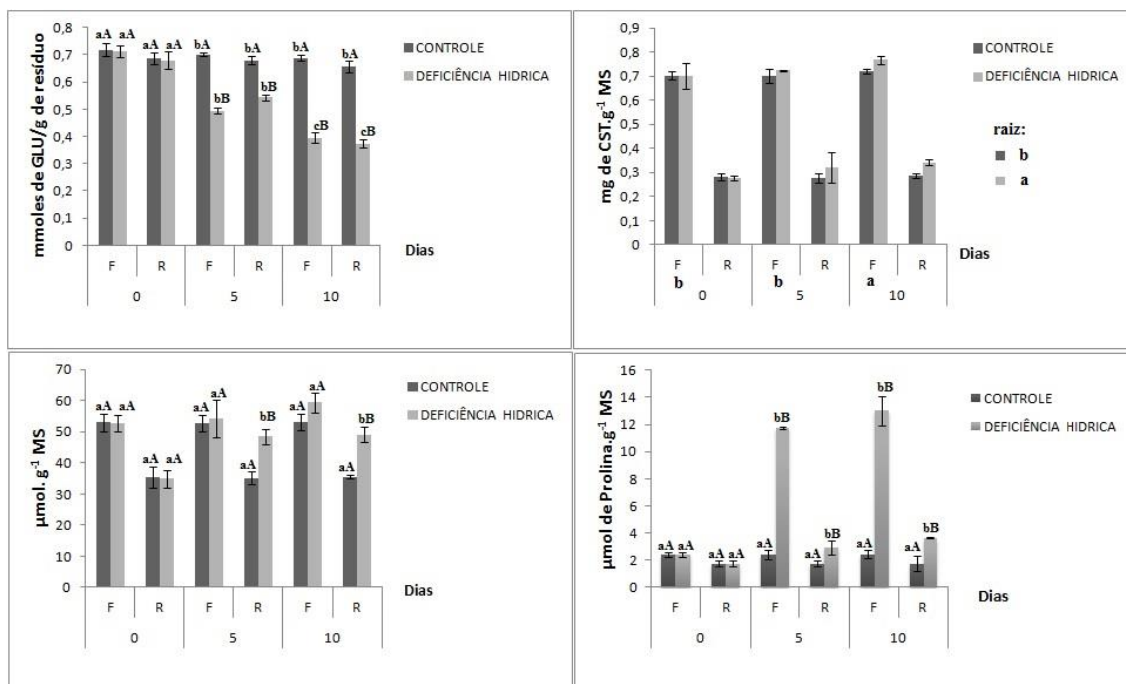
#### Concentrações de Sacarose

A concentração de sacarose (Figura 8C) nas folhas não diferiu estatisticamente ao nível de probabilidade definido ao longo dos três pontos de observação, no entanto, pôde-se observar uma diferença absoluta de valores entre os tratamentos. Com uma média de 52,8 mg de sacarose/mg MS aumentando para 54,36 mg de sacarose/mg MS ao quinto dia e aumentando ainda mais para 59,4 ao décimo dia, o que representou um aumento quantitativo de 4,77%. Já para a concentração de sacarose na raiz houve diferença a partir do quinto dia, aumentando de 35,12 para 48,42 mg de sacarose/mg MS, aumentando ainda para 49,08 ao décimo dia, o que por sua vez representou uma aumento de 24,77% na sua concentração final.

#### Concentrações Prolina

A variável prolina (Figura 8D) apresentou diferença significativa quando feita a comparação do tratamento controle e deficiência hídrica a partir do quinto dia, registrando um incremento significativo de 2,412 para 11,738  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS respectivamente, e ao décimo dia aumentando ainda mais de 2,426 para 13,006  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS, o que representou um aumento de 193,58% na sua concentração final para as plantas sob deficiência hídrica. Para a raiz também houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade, aumentando de 1,761 para 2,915  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS ao quinto dia e de 1,764 para 3,647  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS ao décimo dia de experimento. Obtendo um aumento de 57,26% na sua concentração final.

Figura 3. Concentrações de Amido (A), carboidratos (B), Sacarose (C) e Prolina (D) em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 3.4 DISCUSSÃO

#### Conteúdo Relativo de Água

As reduções no status hídrico do tecido foliar é consequência direta da baixa disponibilidade hídrica existente na matriz do solo, que se deu fortemente a partir do quinto dia após início do experimento, e agravando-se ainda mais ao décimo dia.

De acordo com Sant' Anna (2009) a redução do CRA é consequência direta da maior pressão de déficit hídrico devido à falta de água no solo, pois em um solo sem recarga de água, sua condição hídrica diminui gradativamente. O CRA reflete a dinâmica do balanço de água da folha, isto é, resultado entre a água que entra na folha e a que sai por transpiração (MACHADO et al, 2002).

Características como o conteúdo relativo de água (CRA) têm sido relacionadas com a tolerância à seca em plantas, apontado como eficientes no estudo da adaptação de plantas à seca, bem como na comparação de materiais em programas de melhoramento



(JONES, 2007) e que vem sendo eficiente na diferenciação de plantas, em grande parte dos trabalhos de pesquisa relacionados com déficit hídrico, apontando elevada correlação com o ajustamento osmótico (JAMES et al, 2008).

Albuquerque et al (2013) também observaram reduções significativas após submeter mudas de *Khaya ivorensis* por um período de 14 dias de suspensão hídrica, onde obteve reduções de 62% no conteúdo relativo de água.

#### Concentrações de Nitrato

A redução de nitrato pelas raízes ocorre através de transportadores específicos localizados na superfície da célula. Processo denominado de simpórtico, em que os íons  $H^+$  são co-transportados juntamente com os íons  $NO_3^-$ . Posteriormente o íon é reduzido a nitrito pela redutase do nitrato na própria raiz ou transportado para a parte aérea via xilema, para ser reduzido nas folhas (CAMPBELL, 2001).

A redução de nitrato é resultado do baixo fluxo da corrente transpiratória na planta, do qual vai ajudar o transporte de nutrientes, refletindo com isso na baixa atividade da enzima redutase do nitrato nas raízes e folhas, tendo em vista que a enzima depende do fornecimento de nitrato. De acordo com Andrade Neto (2005) a atividade da enzima redutase do nitrato não reduz totalmente sua atividade em razão do fornecimento constante embora reduzido, de nitrato oriundo da reserva do vacúolo das células, como pôde ser observado neste trabalho.

Embora as plantas gastem bem mais energia para reduzir o nitrato ao invés de amônio para utilizar o nitrogênio, para (Guo et al, 2002) as vantagens da utilização de nitrato são provavelmente, devido os custos energético de desintoxicação, processo que seria necessário no caso de absorção excessiva de amônio.

Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira Neto, (2010) em plantas *Hymenaea courbaril* L. submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento, onde observou diminuição da concentração de nitrato nas folhas e nas raízes sob deficiência hídrica.

### Atividade da Redutase do nitrato

Para Alves (2010) a deficiência hídrica diminuiu a atividade da enzima em virtude da diminuição do fluxo de água e nutrientes pela corrente transpiratória, diminuindo a absorção e com isso também o fluxo de nitrato da raiz para as folhas, pois a enzima é altamente dependente do nitrato como substrato.

Segundo Moro (2012) é normal a atividade da enzima apresentar redução na sua atividade com o avanço do estresse por déficit hídrico. Outra característica da enzima é que a mesma utiliza energia oriunda da fotossíntese, sendo fortemente regulada pelo fornecimento de esqueletos carbônicos para incorporação de nitrogênio em aminoácidos (OLIVEIRA, 2010).

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com Alves (2010) ao avaliar o comportamento bioquímico de plantas jovens de *Tabebuia serratifolia* submetido à deficiência hídrica, diagnosticando uma redução na atividade da enzima em 75% com o avanço dos dias de estresse, tanto nas folhas quanto na raiz.

### Concentrações de Amônio Livre

O acúmulo de amônio no tecido vegetal pode ser oriundo tanto da absorção direta, redução do nitrato, desaminação de compostos nitrogenados, ciclo fotorrespiratório ou da fixação biológica (KANT et al, 2007), convertido a glutamina e glutamato pelas ações sequenciais da glutamina sintetase e glutamato sintase, que estão localizadas no citosol e nos plastídeos das raízes ou dos cloroplastos (CELESTINO, 2006) formando os aminoácidos. Podendo ainda também ser assimilado por intermédio de uma rota alternativa, conhecida como rota da glutamato desidrogenase (GDH) a qual catalisa a reação reversível que sintetiza ou desamina o glutamato, prevalecendo à formação de amônio e 2-oxoglutarato (CARVALHO, 2012a).

Este aumento nas concentrações de amônio livre provavelmente possa ter induzido outras rotas de formação, através da quebra de proteínas (TAIZ e ZEIGER, 2013). Segundo Ferreira et al (2002) uma outra resposta para esta concentração de amônio livre nos tecidos seria o aumento da atividade fotorrespiratória. E de acordo com Oliveira Neto (2010) pela redução da atividade fotossintética, que fornece ATP e

pela formação de poder redutor (NADPH, FADH e NADH) para o metabolismo do nitrogênio.

Esses resultados provavelmente possam ser explicados pela redução da enzima glutamina sintetase. Apesar dessa enzima possuir substrato (amônio) suficiente para a ativação desta enzima, a falta de energia (ATP) e a redução de glutamato no meio celular, através da possível diminuição da taxa fotossintética e do metabolismo dos aminoácidos, são essenciais para manter a atividade desta enzima (OLIVEIRA NETO, 2008).

Lobato et al (2013) não obtiveram diferenças estatísticas nos teores de amônio livre para duas cultivares de *capsicum annuum* combinadas com diferentes concentrações de silício sob deficiência hídrica.

#### Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais

Em condições de estresse hídrico, o metabolismo de aminoácidos é amplamente alterado, sendo a síntese de proteínas diminuída e a proteólise aumentada (SODEK, 2004). Esse aumento na concentração de compostos orgânicos solúveis no citoplasma de plantas cultivadas e submetidas a estresse é considerado como um mecanismo utilizado para balancear o potencial osmótico, entre o citoplasma e o vacúolo, e desta forma evitar danos aos sistemas enzimáticos (MUNNS; TESTER, 2008), protegendo as estruturas e funções celulares, além de constituir fonte de energia metabólica (VADEZ; SHARM, 2008).

Para Azevedo Neto et al (2004) aminoácidos e carboidratos são considerados os principais solutos orgânicos para o ajustamento osmótico de plantas submetidas a estresse hídrico e salino. O acúmulo de aminoácidos em plantas sob deficiência hídrica pode ser resultante da redução na síntese de proteínas e da associação de mRNA com polissomas (KAWAGUCHI et al, 2004), ou do aumento da degradação de proteínas (CATALA et al, 2007).

Resultados semelhantes também foram encontrados por Neves (2013) trabalhando com mudas de Mogno brasileiro *Swietenia macrophylla* King sob dois

períodos (seco e chuvoso), onde obteve um aumento de 423,54% nos teores de aminoácidos durante o período seco em comparação com o chuvoso.

#### Concentrações de Amido

Segundo Freitas (2014) a diminuição na concentração de amido nos tecidos vegetais ocorre em detrimento da diminuição da atividade fotossintética em um aumento da degradação do amido pelas enzimas  $\alpha$  e  $\beta$  amilase, formando novos açúcares com intuito de realizar o ajustamento osmótico nas células. Comportamento este observado principalmente em tecidos foliares.

Já para o tecido da raiz, a redução segundo Pimentel (2004) está relacionada à diminuição do fluxo de fotoassimilados da folha para a raiz, devido ao fato da deficiência hídrica promover uma redução no potencial de pressão positiva do floema, além do que, o provável aumento do consumo de energia através da respiração celular impulsionado pela absorção de nutrientes, metabolismo e crescimento radicular inibe qualquer possibilidade de armazenamento de reserva de açúcares no sistema radicular.

Maltarolo et al, (2015) ao trabalharem com plantas jovens de *Morinda citrifolia* sob dois regimes de manejo de água durante um período de dez dias, também observou uma redução na concentração de amido, na ordem de 38 e 25% de redução nas concentrações de amido nos tecidos da folha e raiz, respectivamente.

#### Concentrações de Carboidratos solúveis totais

De acordo com Melo (2007), plantas submetidas à deficiência hídrica têm a sua atividade fotossintética prejudicada, o que por si só acarreta menor produção de carboidratos. Ao mesmo tempo, fontes de reserva de carbono são mobilizadas e convertidas em carboidratos mais acessíveis para as atividades celulares. Assim, o amido é convertido a açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) que exercem funções importantes quando acumuladas em plantas condicionadas ao estresse (COELHO, 2014).

O acúmulo de carboidrato durante a deficiência hídrica provavelmente está associado aos mecanismos para evitar perda de água na planta, através do ajuste osmótico. O ajustamento osmótico auxilia a manutenção da abertura estomática e o

funcionamento do aparelho fotossintético, permitindo que este opere mesmo em condições de baixo potencial hídrico (HAYAT et al., 2012).

O aumento dos níveis de carboidratos em plantas sob restrição hídrica ocorre devido aos dois acontecimentos bioquímicos que acontecem simultaneamente em plantas sob estas condições. A via de amido é o principal acontecimento bioquímico, pois o amido é degradado e esta degradação é promovida pela ação da enzima amilase. Além disso, existe a via de sacarose que é considerada secundária, devido à sacarose sofrer ações de enzimas invertase e deste modo liberar hexoses que podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos e se não for utilizado podem contribuir para o acúmulo de redutores de carboidratos (CHAVES FILHO e STACCIARINI-SERAPHIN, 2001).

Rivas et al, (2013) também observou um aumento nos teores de carboidratos, ao avaliar o comportamento de plantas jovens de *Moringa oleifera* sob um período de dez dias de suspensão hídrica, corroborando desta forma com os resultados obtidos neste estudo.

#### Concentrações de Sacarose

Açúcares solúveis, principalmente sacarose e hexoses, são considerados sinalizadores metabólicos de controle de relações fonte-dreno e de efeitos de integração ambiental com o metabolismo da planta (PAUL; PELLNY, 2003). Em situação de estresse hídrico o metabolismo de carboidratos é alterado, havendo muitas vezes a conversão de outros açúcares para sacarose (LEE et al, 2008).

O nível de sacarose é aumentado progressivamente nas plantas sob estresse hídrico, devido à biossíntese de sacarose, em que este aumento provavelmente é promovido pelo conseqüente aumento da atividade da enzima sacarose fosfato sintase que atua na célula fotossintética localizada no citosol, com a função de proteger a integridade de membranas e proteínas em condições de deficiência hídrica (HOEKSTRA et al, 2001). No entanto, Lee et al (2008) discutem que o acúmulo de carboidratos solúveis que ocorre durante o déficit hídrico dá-se mais em função da hidrólise de amido armazenado previamente, do que pela nova síntese durante o estresse.

O aumento nas concentrações de açúcares solúveis totais nas plantas pode estar relacionado com a proteção das biomembranas que podem ser degradadas com a falta de água no citosol e pelo aumento das concentrações de substâncias iônicas, tornando várias enzimas inativas no citosol (LIU et al, 2011).

Resultados encontrados por Pereira (2013), também mostraram um aumento na concentração de sacarose em folhas e raízes de plantas de *Parkia gigantocarpa* Ducke sob deficiência hídrica no solo.

### Concentrações de Prolina

Para Coscolin (2012) as plantas diminuem o seu potencial osmótico com o acúmulo de prolina e de outros solutos nos vacúolos celulares (ajustamento osmótico), caracterizando-se como reserva de nitrogênio, principalmente na síntese de enzimas específicas. Pois de acordo com Hemaprabha et al. (2013), após o período de estresse, a prolina acumulada, pode ser usada como energia, com a redistribuição de nitrogênio e carbono, para a recuperação de atividades fisiológicas na planta. E também exercendo papel essencial na estabilização de proteínas e membranas celulares nas células vegetais na presença de altos níveis de osmólitos (FAROOQ et al, 2009).

Quando as plantas estão desidratadas, a enzima P5CS (Pirrolina-5-carboxilato sintase) que converte glutamato a prolina é ativada no cloroplasto, ao mesmo tempo a enzima PDH (prolina desidrogenase) responsável pela degradação de prolina fica inativa, ocorrendo o aumento do nível deste metabólito na célula (SZABADOS e SAVOURE, 2009). Embora as mais variadas formas de se explicar a rota bioquímica, ainda não é bem clara para a comunidade científica de como este aminoácido se origina.

O aminoácido prolina é o soluto compatível mais estudado, em razão de sua sensibilidade de resposta a condições de estresse (Ashraf et al., 2011). Pois de acordo com Kempa et al, (2008) em situações de déficit hídrico o acúmulo de aminoácidos é sugerido como resultado do catabolismo de proteínas e/ou re-alocação do nitrogênio causado pela inibição do crescimento. A acumulação de prolina em células de vegetais submetidas a estresse tem sido sugerida também, como: estabilizador de estruturas celulares, sequestradora de radicais livres, depósito de energia, componente da cascata

de sinalização molecular do estresse e constituinte principal de proteínas da parede celular de plantas (SZABADOS e SAVOURE, 2009).

Silva et al, (2010) também obtiveram aumento significativo no incremento de prolina em clones de *Coffea canephora* submetidos à seca severa, corroborando deste modo com este estudo.

### **3.5 CONCLUSÃO**

Os processos bioquímicos nas plantas de *T.vulgaris* foram fortemente afetados pela deficiência hídrica, através da redução do CRA;  $\text{NO}_3^-$ ; amido e da atividade da redutase do nitrato, elevação nas concentrações de  $\text{NH}_4^+$ , prolina, sacarose, aminoácidos e carboidratos solúveis totais.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. P. F; CABRAL, F. K. C; SANTOS, R. I. N; CASTRO, G. L. S; RAMOS, E. M. L. S; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno africano submetidas a déficit e reidratação. **Pesq. agropec. bras**, v.48, n.1, p.9-16, jan. 2013.
- ALVES, G. A. F. **Aspectos ecofisiológicos, bioquímicos e crescimento de plantas jovens de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (vahl) nicholson) em condições de déficit hídrico e alagamento.** Tese de Doutorado em Ciências Agrárias. Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém/PA. 2010.
- ANDRADE NETTO, J. F. **Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica.** Dissertação de mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia. Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2005
- ARAÚJO, A. M. S. **Absorção e metabolismo de nitrogênio por arroz em diferentes agroecossistemas sob disponibilidade sazonal de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.** 204f. Tese (Doutorado em Agronomia/Ciência do solo). Seropédica, Rio de Janeiro, 2011.
- ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111, p.249-296, 2011.
- AZEVEDO-NETO, A. D. et al. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 1, p. 31-38, 2004.
- BAJJI, M; LUTTS, S; KINET, J. M. 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**, v.160, p.669-681, 2001.
- BATES, L. S., Waldren, R. P. e Teare, I. D. Rapid determination of free proline for waterstress studies. Short communication. **Plant and Soil**. V. 39: 205-207. 1973.
- BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**, v.21, p.43-47, 1981.
- CAMPBELL, W. H. Structure and function of eukaryotic NAD(P)H: nitrate reductase. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v.58, n.2, p.194-204. 2001.
- CARVALHO, J. S. B.; MARTINS, J. D. L.; MOREIRA, K. A. Respostas fisiológicas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. ao estresse hídrico. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.12, n. 2, 2012b.
- CARVALHO, P. A. **Metabolismo do nitrogênio e antioxidante em plantas jovens de Seringueira (*Hevea spp*) submetidas à baixa disponibilidade de oxigênio na**



**presença de nitrato e/ou amônio.** Dissertação de Mestrado em Agronomia – Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Lavras. 2012a.

CATALA, R.; OUYANG, J.; ABREU, I.A.; HU, Y.; SEO, H.; ZHANG, X.; CHUA, N.H. The Arabidopsis E3 SUMO ligase SIZ1 regulates plant growth and drought responses. *Plant Cell*, v.19, p.2952-2966, 2007.

CATALDO, D. A.; HAROON, S. L. E; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun Soil Science Plant Analyse*, 6: (1):71-80, 1975.

CELESTINO, J. C. Atividade da enzima redutase do nitrato, em arroz cultivado em solo proveniente de áreas sob diferentes preparos, água e doses de nitrogênio. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2006.

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**, São Paulo, v. 24, n. 2, p.199- 204, 2001.

COATES, J.C.; MOODY, L.A.; SAIDI, Y. Plants and the earth system - past events and future challenges. **New Phytologist**, Oxford, v. 189, n. 2, p. 370-373. 2011.

COÊLHO, M. R. V. **Alterações fisiológicas e metabólicas em *Hyptis Fruticosa* Salzm.Ex. Benth e *Ocimum Gratissimum* L. sob diferentes regimes hídricos.** Dissertação de Mestrado em Recursos genéticos Vegetais. Feira de Santana/BA. 2014.

COSCOLIN, R. B. S. **Efeitos fisiológicos e bioquímicos induzidos por deficiência hídrica em plantas de *Ocimum basilicum* L.** Dissertação de Mestrado em Agronomia. Botucatu/SP. 2012.

DEHNE, H. W. et al. Modern fungicides and antifungal compounds III. Bonn: **Agro Concept GmbH**, 2002. p. 61-74.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. V.28, n.3, p.350-356. 1956.

FAROOQ, M. et al Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v.29, p.185-312. 2009.

FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; PURCINO, A. A. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, 2002.

FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTLI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the

invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v.97, p.1-10, 2014.

FRANKE, I.L. **Principais usos e serviços de árvores e arbustos promissores que ocorrem em pastagens no estado do Acre**. Comunicado Técnico: EMBRAPA/AC, n.106, p.1-6,1999.

FREITAS, J. M. N. **Comportamento ecofisiológico e bioquímico de plantas jovens de Acapú (*Vouacapoua americana* Aubl) submetidas à deficiência hídrica**. Tese de Doutorado em Ciências Agrárias. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém/PA, 2014.

GUEDES, E. M. S; MARQUES, D. J; ÁVILA, F. W; PEREIRA, E. S; FERREIRA, R. ; UCHÔA, E. B; COSTA, D. V; TAN, D. K. Y; LOBATO, A. K. S; PEREIRA, T. S. Positive interference of silicon on water relations, nitrogen metabolism, and osmotic adjustment in two pepper (*Capsicum annuum*) cultivars under water deficit. **Australian Journal of Crop Science**. v.7(8), p.1064-1071. 2013.

GUO, S; BRUCK, H; SATTELMACHER, B. Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L) plants. **Plant and soil**, Dordrecht, v.239, n.2, p.267-275. 2002.

HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P., Nitrate reductase from higher plants. In: **Methods in enzymology**, 17 A: 491 – 503, 1971.

HAYAT, S. et al. Role of proline under changing environments: **A review Plant Signaling e Behavior**, Austin, v.7, n.11, p. 1456-1466, 2012.

HEMAPRABHA, G. et al. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum sp.* hybrids). **Sugar Tech**, Nova Délhi, v.15, n1, p 9-16, 2013.

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

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanism of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Amsterdam, v. 6, n.9, p.431-438, 2001.

JAMES AT, LAWN RJ & COOPER M. Genotypic variation for drought stress response traits in soybean. I. Variation in soybean and wild Glycine spp. for epidermal conductance, osmotic potential and relative water content. **Australian Journal of Agricultural Research**, 59:656-669. 2008.

JANGPROMMA, N.; KITTHAISONG, S.; LOMTHAISONG, K.; DADUANG, S.; JAISIL, P.; THAMMASIRIRAK, S.A. Proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for droughttolerant sugarcane cultivars. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, Nova York, v. 2, n. 2, p. 89-102, 2010.

JONES HG. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, 58:119- 130. 2007.

KANT, S. et al. Partial substitution of  $\text{NO}_3^-$  by  $\text{NH}_4^+$  fertilization increases ammonium assimilating enzyme activities and reduces the deleterious effects of salinity on the growth of barley. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.164, n.3, p.303-311. 2007.

KAWAGUCHI, R.; GIRKE, T.; BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J. Differential mRNA translation contributes to gene regulation under non-stress and dehydration stress conditions in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Journal**, v.38, p.823-839, 2004.

KEMPA, S., et al. A central role of abscisic acid in stress-regulated carbohydrate metabolism. **PLoS ONE**, v.3, n.12, dec., 2008.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**, ed, GUANABARA KOOGAN :Rio de Janeiro, 2004.

KÖHLE, H. et al. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. In: LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Rima, 2006. 531 p.

LEE, B.R.; JIN, Y.L.; JUNG, W.J.; AVICE, J.C.; MORVAN-BERTRAND, A.; OURRY, A.; PARK, C.W.; KIM, T.H. Water-deficit accumulates sugars by starch degradation - not by de novo synthesis – in white clover leaves (*Trifolium repens*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.134, p.403-411, 2008.

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

LIMA, C. S. **Atividade fotoquímica e proteção oxidativa em mudas de cajueiro expostas à seca e luminosidade elevada**. Tese de Doutorado em Bioquímica. Universidade Federal do Ceará. 2013.

LIMA, H.C. TACHIGALI. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2010.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. In: RAHMAN, I. MD. M.; HASEGAWA, H. (Ed.) **Water stress**, Intech. p.1-14, 2012.

LIU, C.; LIU, Y.; GUO, K.; FAN, D.; LI, G.; ZHENG, Y.; YU, L.; YANG, R.; Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. **Environmental and experimental botany**, v.71, p.174-183, 2011.

MACHADO E. C. et al. 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.

MALTAROLO, B. M; TEIXEIRA, D. T. F; ATAIDE, W. L. S; NOGUEIRA, G. A. S; OLIVEIRA NETO, C. F. O. Avaliação biométrica e metabolismo do carbono em plantas jovens de noni submetidas à deficiência hídrica. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v.11, n.21, p.251. 2015.

MELO, H. C., et al. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n.2, p.145-153, 2007.

MELO, Y. L. **Desempenho agrônômico e caracterização de genótipos de Girassol (*Helianthus annuus* L.) quanto a marcadores fenológicos, fisiológicos e bioquímicos em duas microrregiões edafoclimáticas do Rio Grande do Norte.** Dissertação de Mestrado em Agronomia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró/RN. 2012.

MORO, A. L. **Relação entre silício e deficiência hídrica sobre os aspectos bioquímicos e fisiológicos no arroz.** Tese de Doutorado em Agronomia. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP. Botucatu/SP, 2012.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

OLIVEIRA NETO, C. F. **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, 2010.

OLIVEIRA NETO, C.F; **Crescimento, produtividade, comportamento fisiológico e bioquímico de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] moench) submetidas ao déficit hídrico** /Belém, 2008. 114p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2008.

OLIVEIRA, L. J. **Assimilação do nitrato em *Campomanesia* sp submetida a diferentes condições de disponibilidade hídrica.** Dissertação de Mestrado em Agronomia. Universidade Federal de Goiás. 2010.

PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. R.; SOUZA, C. G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em *Calêndula* (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 2, p. 275-281, 2011.

PAIXÃO, C. L.; JESUS, D. S. de; COSTA, P. D.; PEREIRA, P. P. A.; NETO, A. D. A. Caracterização fisiológica e bioquímica de genótipos de girassol com tolerância diferenciada ao estresse hídrico. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.19; p.2011-2022, 2014.

PAUL, M.J.; PELLNY, T.K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, p. 539-547, 2003.

PAULA, M. T; SANTOS FILHO, B. G; CORDEIRO, Y. E. M; CONDE, R. A; NEVES, P. A. P. F. G. 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.813. 2013.

PEOPLES, M. B., FAIZAH, A. W., REAKASEM, B. E HERRIDGE, D. F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Canberra: **Australian Centre for International Agricultural Research**, 1989. 76 p.

PEREIRA, A. C. da C. **Parkia gigantocarpa Ducke (FABACEAE-MIMOSOIDEAE) sob deficiência hídrica no solo: respostas fisiológicas, bioquímicas e de crescimento**. 105f. Dissertação (Mestrado em botânica) Universidade Federal Rural Da Amazônia. 2013.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. EDUR, Seropédica, p.191. 2004.

PIMENTEL, C; SARR, B; DIOUF, O; ABBOUD, A. C. S; ROY-MACAULEY, H. Tolerância protoplasmática foliar à seca em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural, Ciências da Vida**, v.22, n.1, p.7-14. 2002.

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

PITA, P.; CAÑAS, I.; SORIA, F.; RUIZ, F., TOVAL, G. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. **Investigacion Agraria: sistemas y recursos Forestalis**, Madrid, v.14, n. 3, p. 383-393, 2005.

RAHIMIA, A. et al. Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of *Plantago ovata* and *P. psyllium*. **Plant Ecophysiology**, Dordrecht, v. 2, p. 53-60, 2010.

RIVAS, R.; OLIVEIRA, M. T.;SANTOS, M. G. Three cycles of water deficit from seed to Young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 200-208, 2013.

SANT' ANNA, H. L. S. **Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidos à deficiência hídrica progressiva**. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das almas/BA. 2009.

SELMAR, D.; KLEINWACHTER, M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. **Plant and Cell Physiology**, v.54, n. 6, p.817-826, 2013.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfi eld: **Science Publishers**, Chap.13, p.275-293. 2011.

SILVA, E. C. A. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas em Mudanças de *Moringa oleifera* lam. Submetidas a estresses Abióticos**. Dissertação de mestrado em ciências florestais. Universidade federal rural de Pernambuco. 2013.

SILVA, V. A; ANTUNES, W. C; GUIMARÃES, B. L. S; PAIVA, R. M. C; SILVA, V. F; FERRÃO, M. A. G; DA MATTA, F. M; LOUREIRO, M. E. Resposta fisiológica de clone de café conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. **Pesq. agropec. bras**, Brasília, v.45, n.5, p.45-464. 2010.

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

SLOT, M.; POOTER, L. Diversity of tropical tree seedling responses to drought. **Biotropica**, Peña-Claros, v. 39, n. 6, p. 683-690, 2007.

SMIT, M. A.; SINGELS, S. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, Ontario, v. 98, n. 2-3, p. 91-97, 2006.

SODEK, L. Metabolismo do nitrogênio. In: KERBAUY, G. B (Ed.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. p. 94-113.

SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v.15, n.2, p. 89-97, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5<sup>a</sup>.ed. Porto Alegre: Artmed, 918 p, 2013.

TYREE, M. T.; ENGELBRECHT, B. M. J.; VARGAS, G.; KURSAR, T. A. Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panamá. Relationship to a field assessment of drought performance. **Plant Physiology**, São Carlos, v. 132, p. 1439-1447, 2003.

VADEZ, P. B. M. V.; SHARM, K. K. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 3, p. 411-424, 2008.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Anal Biochem.**, V. 22: 280-283. 1968.

WEATHERBURN, M. W. Phenol hipochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**. V. 39: 971-974. 1967.

## **Sistema antioxidante enzimático e não enzimático em plantas jovens de *Tachigali vulgaris* submetidas à deficiência hídrica**

### **RESUMO**

As plantas quando submetidas ao estresse criam estratégias para sobreviver, como bioquímicas, atividade de enzimática e metabólitos secundários, conseguindo superar o estresse sem sofrer danos maiores. *Tachigali vulgaris* é uma espécie pioneira, colonizadora de terrenos marginais e margens de estradas, frequentemente iniciando a sucessão secundária em áreas abertas. A produção de ERO's é reforçada por condições que limitam a fixação de CO<sub>2</sub>, como a seca, gerando o estresse oxidativo. Os antioxidantes são divididos em enzimáticos, encontrados em meio intracelular (superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, entre outras) e não enzimáticos: solúveis em água (ácido ascórbico, bilirrubina e glutatona) e solúveis em lipídios ( $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno e licopeno). As folhas e raízes foram envolvidas em papel alumínio e armazenadas a -80 °C. O material foi congelado em nitrogênio líquido sendo posteriormente liofilizado, em seguida triturado em moinho até a obtenção de um pó fino e, devidamente armazenado até a análise. Sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3 x 2 (três tempos: zero, cinco e dez dias de déficit, e duas condições hídricas: controle e déficit), com 4 repetições. Sendo aplicada a análise de variância nos resultados e as médias comparadas pelo teste *t* adotando-se o nível de 5 % de probabilidade através do pacote estatístico (Assistat 7.7 beta, 2015). O déficit hídrico comprometeu a atividade antioxidante das plantas de *T. vulgaris*, visto que estas foram capazes de acionar, rapidamente, o sistema de defesa antioxidante enzimático (SOD, APX e CAT), no entanto, não suficiente para reduzir os danos oxidativos acarretando na morte das mesmas.

**Palavras chave:** SOD. APX. CAT. Tachi branco.

### **ABSTRACT**

The plants when subjected to stress, and nature (biotic and abiotic) tend to strategize to survive, using beyond strategies, as well as the biochemical processes, the activity of enzymes and other secondary metabolites, managing to overcome stress without suffering further damage. *Tachigali vulgaris* is a pioneer species, colonizing marginal lands and roadsides, often initiates secondary succession in open areas by the intense germination of their seeds in the soil. ROS's production in plant cells is enhanced by

biotic and abiotic conditions that limit CO<sub>2</sub> fixation such as drought, salinity, nutrient deficiency, temperature extremes - heat and cold, and the combination of factors with high brightness, in addition to air pollution, all of these conditions generate termed oxidative stress. The main components of the antioxidant defense system can be divided into enzyme found primarily intracellularly (superoxide dismutase, catalase, guaiacol peroxidase, ascorbate peroxidase, glutathione reductase, etc.) and small non-enzymatic molecules that can be divided into soluble in water (ascorbic acid, glutathione and bilirubin) and lipid soluble ( $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene and lycopene). Understand the physiological mechanisms can provide advanced information about some strategies to be used in breeding programs for selection of cultivars tolerant to drought. Plants were then separated into leaves and roots, wrapped in aluminum foil and stored in Ultrafreezer at -80 ° C. To determine the enzymatic activity and biochemical analyzes, the plant material was first frozen in liquid nitrogen and subsequently lyophilized. After lyophilization, to be determined shoot dry mass of roots and total. The dried material was crushed in a grinder to obtain a fine powder and duly stored in falcon tubes to their use in assays. The experimental design was completely randomized (DIC) in a factorial 3 x 2 (three times: zero, five and ten days of water suspension, and two water conditions: control and drought stress), with four repetitions. Analysis of variance was applied to the results and when significant difference, the means were compared using the t test adopting the 5% level of probability through the statistical package (7.7 beta Assistat, 2015). The water deficit during the period studied, committed the antioxidant activity of *T. vulgaris* plants, since they were able to drive quickly the enzymatic antioxidant defense system (SOD, CAT and APX), however, failing to reduce oxidative damage resulting in the death of them.

**Keywords:** SOD. APX. CAT. Tachi white.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

As plantas quando submetidas ao estresse, sendo de natureza (biótico ou abiótico) tendem a criar estratégias para sobreviver, utilizando além das estratégias, como também dos processos bioquímicos, a atividade de enzimas e outros metabólitos secundários, conseguindo superar o estresse sem sofrer danos maiores. Muito dos processos deletérios sofridos pelas plantas submetidas a condições adversas são mediados por espécies reativas de oxigênio, geradas em diferentes compartimentos celulares como consequência tanto do funcionamento defeituoso de vias metabólicas como processos fisiológicos normais (PEREIRA, 2010).

*Tachigali vulgaris* é uma espécie pioneira, colonizadora de terrenos marginais e margens de estradas, que frequentemente inicia a sucessão secundária em áreas abertas



pela germinação intensa de suas sementes no solo. Tem se destacado pelo rápido crescimento e sua madeira é amplamente utilizada por comunidades rurais do Centro-Oeste e Nordeste, na confecção mourões, esteios, embalagens e caibros, na construção civil, além de fonte para a produção de lenha e carvão vegetal, sendo inclusive indicada para plantios energéticos (FRANKE, 1999).

A deficiência hídrica, juntamente com fatores excesso de temperatura e alta irradiância, provoca redução na fotossíntese, levando a diminuição no uso da radiação incidente, acarretando acúmulo de poder redutor (NADPH) e redução no *pool* do aceptor final da cadeia de transporte de elétrons (NADP<sup>+</sup>). Esse excesso de poder redutor pode levar a super-redução da cadeia de transporte de elétrons. Nesse processo pode haver escape de elétrons, que por sua vez reagem com o oxigênio molecular (O<sub>2</sub>), formando assim, as chamadas espécies reativas de oxigênio (EROs) (CAVATTE et al., 2012).

As EROs são geradas espontaneamente em diferentes compartimentos celulares, como subproduto do metabolismo aeróbico. No entanto, em condições estressantes a produção pode aumentar rapidamente. Essas moléculas, formadas por elétrons livres ou não pareados, tem uma instabilidade elétrica muito grande e, por esta razão, mesmo tendo o tempo de meia vida muito curta, apresentam alta capacidade reativa (SHARMA; DUBEY, 2005). Dentre as principais que causam danos celulares pela oxidação de lipídios e proteínas, destacam-se o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), o oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) e o radical hidroxila (OH<sup>-</sup>) (NEILL et al, 2008), acarretando danos como a desintegração de clorofila, fragmentação do DNA, extravasamento iônico e finalmente, a morte celular (MOLLER et al., 200).

A produção de ERO's na célula vegetal é reforçada por condições bióticas e abióticas que limitam a fixação de CO<sub>2</sub>, como a seca, salinidade, deficiência de nutrientes, extremos de temperatura – calor e frio, e pela combinação dos fatores com alta luminosidade, além da poluição do ar, todas essas condições geram o denominado estresse oxidativo (GILL e TUTEJA 2010). O PSII (fotossistema II) torna-se muito excitado e é inativado, onde as clorofilas atingem o estado triplet (3Chl<sup>\*</sup>) e com isso há formação de oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub><sup>\*</sup>) pela reação da 3Chl<sup>\*</sup> com o oxigênio molecular. No PSII também há formação de radicais hidroxil (OH<sup>-</sup>), superóxidos (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) e peróxido

de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). O  $^1\text{O}_2^*$  pode causar efeitos deletérios nas células, sendo que biologicamente é a ERO mais tóxica para as células (SCANDALIOS, 2005).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e na quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (CHUN et al., 2005).

Para Rendón et al, (2013), os principais componentes do sistema de defesas antioxidantes podem ser divididos em enzimáticos, encontrados principalmente em meio intracelular (superóxido dismutase, catalase, guaiacol peroxidase, ascorbato peroxidase, glutathione redutase, entre outras) e pequenas moléculas não-enzimáticas, que podem ser subdivididas em solúveis em água (ácido ascórbico, bilirrubina e glutathione) ou solúveis em lipídios ( $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno e licopeno).

O entendimento de mecanismos fisiológicos pode fornecer informações avançadas sobre algumas estratégias para serem usadas em programas de melhoramento genético para seleção de cultivares tolerantes à seca (SILVA et al., 2012).

De acordo com Larré (2011) a maioria dos trabalhos sobre vias de sinalização e tolerância ao estresse ainda estão focados nas espécies agrícolas, e pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos na aclimação de plantas de espécies florestais. Desta forma, entender esses mecanismos é de grande importância, tendo impacto positivo no conhecimento da relação entre biodiversidade de espécies florestais e as condições ambientais. O presente estudo teve por objetivo avaliar o comportamento antioxidante enzimático e não enzimático, o status hídrico e vazamento de eletrólitos em plantas de Tachi branco sob regime de deficiência hídrica.

## **4.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e Condução do experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do laboratório de Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores EBPS/UFRA durante os meses de abril a agosto do ano de 2015. As mudas foram adquiridas da Associação das indústrias Exportadoras de madeiras do estado do Pará – AIMEX, com idade de quatro meses. Sendo o lote das mudas formado por sementes oriundas do município de Alta Floresta, estado do Mato Grosso, onde as mesmas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade de 4,5Kg de substrato, ficando por um período de dois meses de aclimação. Para suprir a carência nutricional das mesmas foi aplicada solução nutritiva de (HOAGLAND e ARNON, 1950).

As plantas foram posteriormente separadas em folhas e raízes, envolvidas em papel alumínio e armazenadas em ultrafreezer a -80 °C. Para a determinação das atividades enzimáticas e análises bioquímicas, o material vegetal foi primeiramente congelado em nitrogênio líquido sendo posteriormente liofilizado. Após a liofilização, determinou-se a massa seca da parte aérea, das raízes e total. O material seco foi triturado em moinho até a obtenção de um pó fino e, devidamente armazenado em tubos falcon até a sua utilização nos ensaios.

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

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcela subdividida no tempo (três tempos: zero, cinco e dez dias de suspensão hídrica, e duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais (uma planta/vaso).

Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste t adotando-se o nível de 5 % de probabilidade, através do pacote estatístico (Assistat 7.7 beta, 2015).

### **- C.R.A (conteúdo relativo de água)**

O CRA foi determinado entre 05:00 e 06:00h em cada coleta. Onde foram retirados os discos para a determinação imediata do CRA. O método utilizado foi o descrito por Slavick (1979), foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de um vazador de aço- inoxidável, determinando imediatamente a massa dos mesmos (MF1) em balança analítica. Em seguida os discos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo 35ml de água destilada e deixados na bancada (25°C) por um período de 12 horas. Posteriormente os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70°C) por 24h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula a seguir:

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

Em que:

MF1= Massa fresca 1;

MF2= Massa fresca 2;

MS= Massa seca;

### **- Vazamento de Eletrólitos**

O vazamento de eletrólitos foi estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), com pequenas modificações sendo essa uma medida indireta para a determinação do grau de danos de membrana. Foram pesados, separadamente, 100 mg de parte aérea, e raízes e após tripla lavagem com água deionizada, o material vegetal foi transferido para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 10 mL de água deionizada. Os frascos foram deixados em repouso sob temperatura ambiente (25 °C) durante 6 h, sob agitação a cada 20 min. Após esse período, o sobrenadante foi transferido para novos tubos de ensaio e, com o auxílio de um condutivímetro, foi mensurada a condutividade elétrica

(C<sub>1</sub>) da solução dos tubos de ensaio. Após isso, os tubos foram novamente fechados e aquecidos em banho maria a 100 °C, por 1 h. Após resfriamento dos tubos de ensaio à temperatura ambiente, a condutividade elétrica do extrato (C<sub>2</sub>) foi novamente medida. As leituras da condutividade elétrica da solução foram realizadas com um condutivímetro de bancada modelo Digimed DM 31. O vazamento de eletrólitos foi estimado através da seguinte equação abaixo:

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

#### - Pigmentos fotossinteticamente ativos

O método utilizado foi segundo Lichthenthaler (1987), sendo colocados 100 mg de tecido foliar e homogeneizado a amostra em uma almofariz, com 0,1 g de CaCO<sub>3</sub>, uma pitada de areia e 5 ml de acetona 80% em abrigo de luz. Vertendo o extrato em um tudo de centrifuga de mesa, sendo lavado (quantitativamente) o almofariz por duas vezes com 5 ml de acetona 80%. O tubo foi envolvido com papel alumínio, depois o tubo foi centrifugado por 10 minutos a 10°C e 6000 rpm. Verteu-se o sobrenadante cuidadosamente em um balão volumétrico de 25 ml, enrolado também com papel alumínio e o volume completado com acetona 80%. Foi tomada uma alíquota e realizada leitura com absorvância a 470, 646,8 e 663,2 nm. O extrato foi abrigado da exposição de luz durante as leituras. Os valores de absorvância que não se situaram entre 0,2 e 0,8 foram diluídos. Ao diluir o volume foi completado sempre com acetona 80%. As concentrações de clorofilas e carotenóides (mg. L<sup>-1</sup>) foram calculadas e transformadas para (mmol. Kg<sup>-1</sup> MF) pelas seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila a} = C_a = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila b} = C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Clorofilas totais} = C_{(a+b)} = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Carotenoides (xantofila + carotenos)} = (1000A_{470} - 1,82C_a - 85,02C_b)/198$$

### **- Obtenção dos extratos enzimáticos**

O extrato para a determinação da atividade das enzimas SOD, APX e CAT foi obtido a partir da homogeneização em almofariz, a 4 °C, de 0,1 g do pó liofilizado de folha e raiz com 5 mL de solução-tampão fosfato de potássio (a 4 °C) a 0,1 mM, pH 7,0, contendo EDTA a 0,1 mM, seguida de homogeneização por 4 min. As adições do tampão fosfato foram feitas de forma fragmentada, sendo 50% do volume total desta solução (2,5 mL) utilizada na homogeneização durante 2 min, após isto, imediatamente adicionaram-se os outros 50%, sendo a mistura homogeneizada em tempo equivalente ao anterior. O homogenato foi filtrado em tecido de nylon e transferido para tubos de ensaio, sendo mantidos a 4 °C por duas horas, realizando-se agitações ocasionais. O homogenato filtrado foi centrifugando a 12.000 x g, durante 15 min, a 4 °C. O sobrenadante, o extrato bruto, foi armazenado em freezer a -22 °C até serem utilizados nos ensaios de atividade enzimática.

### **- Superóxido dismutase (EC 1.15.1.1)**

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

### **- Catalase (EC 1.11.1.6)**

A atividade da CAT foi determinada pelo método de Beers Jr. e Sizer (1952), com modificações. A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de solução tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1 µM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 20 mM e 150 µL do

extrato. A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático ao meio de reação; e a atividade enzimática foi determinada pelo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sendo a redução monitorada por leituras de absorbância em 240 nm, por 5 min em que cada extrato foi dosado em duplicata. O coeficiente de extinção molar do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foi usado para determinar a atividade da CAT que foi expressa em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

#### **- Ascobarto Peroxidase (EC 1.11.1.11)**

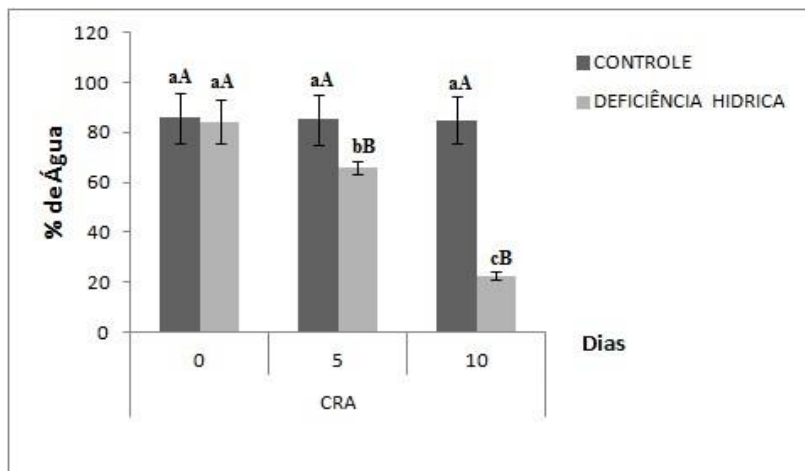
A atividade da APX foi determinada pelo método de Nakano e Asada (1981). A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de 50  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de potássio (pH 6,0), EDTA a 0,1  $\mu\text{M}$ , ascorbato a 0,5 mM,  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 1 mM e 300  $\mu\text{L}$  do extrato, convenientemente diluído com tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de 300  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático, e a atividade da APX foi determinada pela oxidação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  dependente do ascorbato, sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 290 nm durante 1 min. O coeficiente de extinção molar do ascorbato ( $2,8 \text{ mM cm}^{-1}$ ) foi usado para quantificar a atividade enzimática levando-se em consideração que dois moles de ascorbato são necessários para redução de 1,0 mol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (MCKERSIE; LESHEM, 1994). Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo a atividade da APX expressa em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

## **4.3 RESULTADOS**

### **Conteúdo Relativo de Água**

O conteúdo relativo de água (Figura 1) apresentou diferença estatística a partir do quinto dia de experimento, com médias de 85,31 para 66,07% no teor de água no tecido foliar dos tratamentos controle e deficiência hídrica respectivamente, em detrimento a diminuição de água do solo. Já no último ponto de coleta dos dados houve uma drástica redução no CRA, de 84,81 para o tratamento e de 22,67% para deficiência hídrica, o que correspondeu uma redução de 32,14% no teor de água no tecido foliar.

Figura 1. Conteúdo Relativo de Água (A) em folhas de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



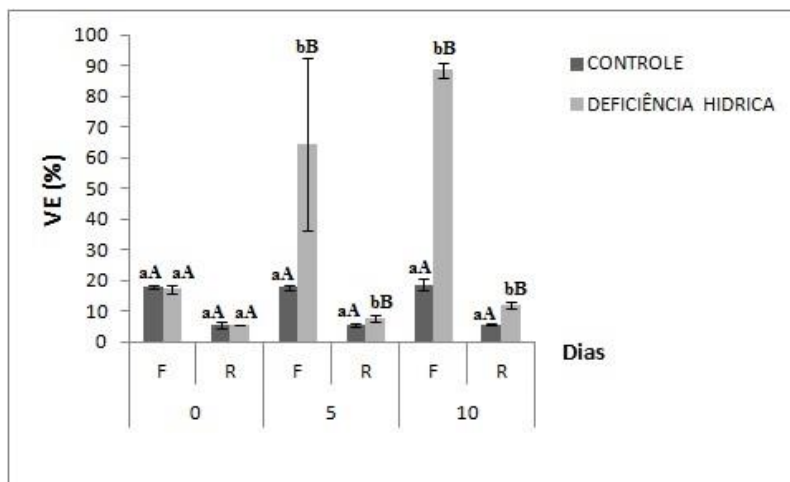
As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### Vazamento de Eletrólitos

Na (Figura 9) são apresentados os valores referentes à porcentagem de vazamento de eletrólitos da membrana para os três pontos de coleta dos dados (0, 5 e 10 dias de suspensão hídrica) tanto para os órgãos da folha quanto da raiz. Houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade a partir do quinto dia de observação, com médias aumentando de 17,80 para 64,60% nos tratamentos controle e deficiência hídrica da folha, respectivamente. Para o último ponto houve uma aumento ainda maior, com média de 18,67 no controle e de 88,55% deficiência hídrica, registrando-se um aumento de 212,97% no vazamento de eletrólitos para o tecido foliar. Para o órgão da raiz também foi registrado um aumento significativo de 5,64 para 7,67% no vazamento de eletrólitos para os tratamentos controle e deficiência hídrica a partir do quinto dia, respectivamente. Ao décimo dia continuou ocorrendo aumento nos percentual de eletrólitos extravasados, de 5,65 para 12,10% nos tratamentos controle e deficiência hídrica, o que também representou um aumento na ordem de 51,26% no vazamento dos eletrólitos.



Figura 2. Vazamento de Eletrólitos em tecidos da folha e raiz de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

### Pigmentos Fotossintéticos

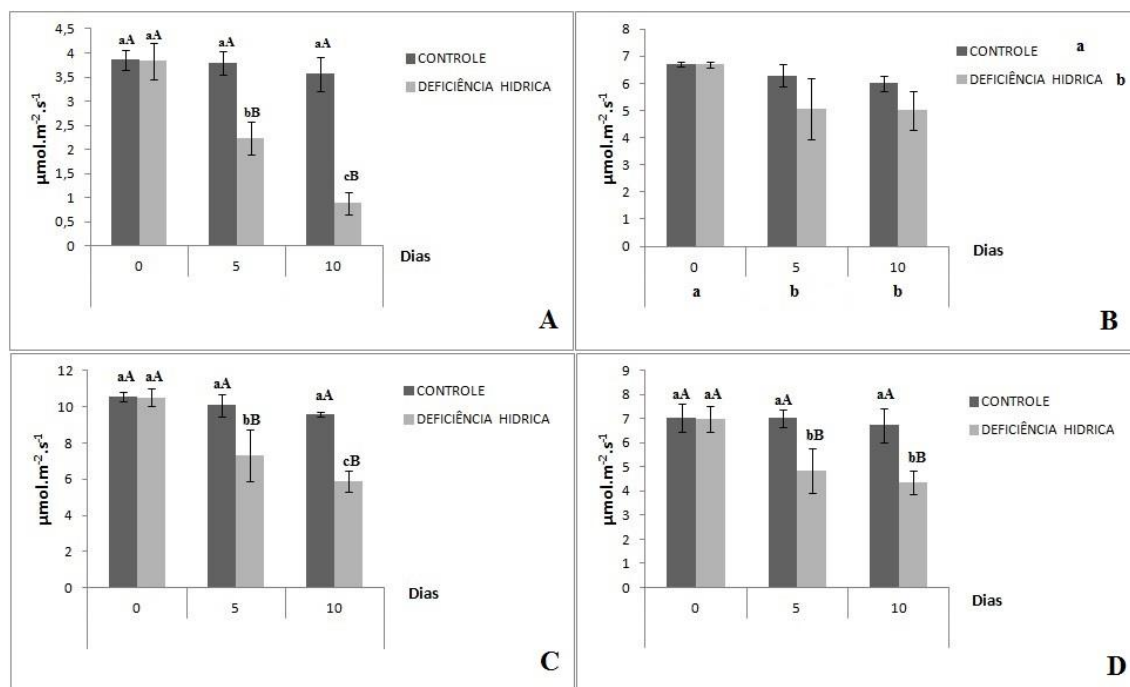
De acordo com a (Figura 10) pôde-se observar que a diferença estatística entre os tratamentos passou a ocorrer a partir do quinto dia, onde o teor de clorofila *a* (Figura 10A) reduziu de 3,78 para 3,23  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e ao décimo dia de 3,56 para 0,88  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  nos tratamentos controle e deficiência hídrica respectivamente, o que representou uma redução de 29,05%. Já para a clorofila *b* (Figura 10B) não houve diferença estatística para a interação dos tratamentos, ocorrendo diferença somente para os tratamentos isolados, onde para o tratamento 1 (tempo) observou-se as médias de 6,70; 5,67 e 5,50  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  no dias 0, 5 e 10 respectivamente, e para o tratamento 2 (condições hídricas) as médias de 6,33 e 5,58  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  nos tratamentos controle e deficiência hídrica respectivamente, obtendo com isso uma redução de 11,89%.

Para a clorofila *total* (Figura 10C) também registrou-se diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade a partir do quinto dia de experimento, reduzindo de 10,07 para 7,29  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e ao décimo dia de 9,57 para 5,88  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  nos tratamentos controle e déficit respectivamente, o que representou uma redução de 21,57%.

Os carotenóides (Figura 10D) também apresentaram uma redução significativa de 7,01 para 4,84  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ao quinto dia e de 6,72 para 4,34  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  no décimo

dia para os tratamentos controle e deficiência hídrica respectivamente, representando uma redução de 22,11%.

Figura 3. Teores de Pigmentos: Clorofila *a* (A), Clorofila *b* (B), Clorofila *total* (C) e *Carotenóides* (D) em plantas jovens de *Tachigali vulgaris*, em função da deficiência hídrica, em três épocas de avaliação. Belém (PA), 2015.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

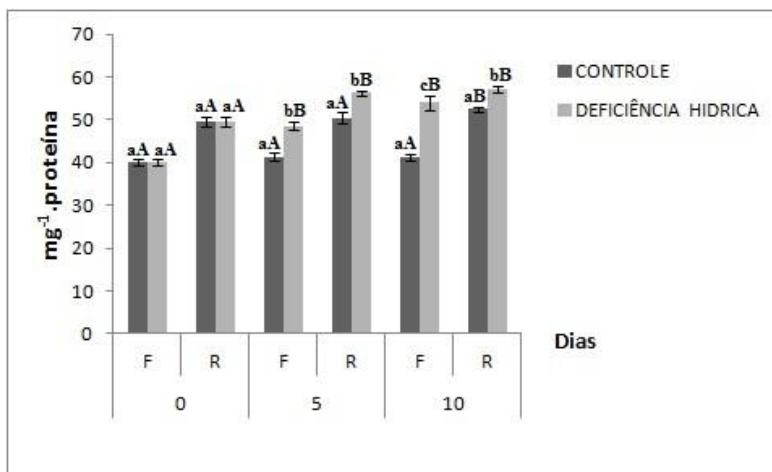
## SOD

Os valores obtidos apresentaram um aumento na atividade da SOD (Figura 11) em tecidos foliares, aumentando de 40,38 no tratamento controle para 48,55  $\text{mg}^{-1}$  de proteína a partir do quinto dia no tratamento sob deficiência hídrica, conferindo desta forma diferença estatística em comparação ao tratamento controle ( $p < 0,01$ ). A atividade da enzima aumentou ainda mais ao décimo dia de suspensão hídrica para 54,04  $\text{mg}^{-1}$  de proteína. Obtendo um aumento na atividade da enzima na ordem de 16,33% nas plantas sob deficiência quando comparada às plantas controle.

Para o tecido da raiz também foi possível registrar diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os tratamentos a partir do quinto dia, com valores aumentando de 50,43 no tratamento controle para 56,21  $\text{mg}^{-1}$  de proteína para deficiência hídrica. Embora pouco,

ainda aumentando ao décimo dia de suspensão hídrica para  $57,23 \text{ mg}^{-1}$  de proteína. Registrando-se um aumento de 6,94% na atividade da enzima para as plantas submetidas à deficiência hídrica comparada às plantas controle.

Figura 4. Atividade da enzima Superóxido dismutase em tecidos da folha e raiz de plantas jovens de *T. vulgaris* submetidas à deficiência hídrica. As barras representam o desvio padrão da média de quatro repetições.



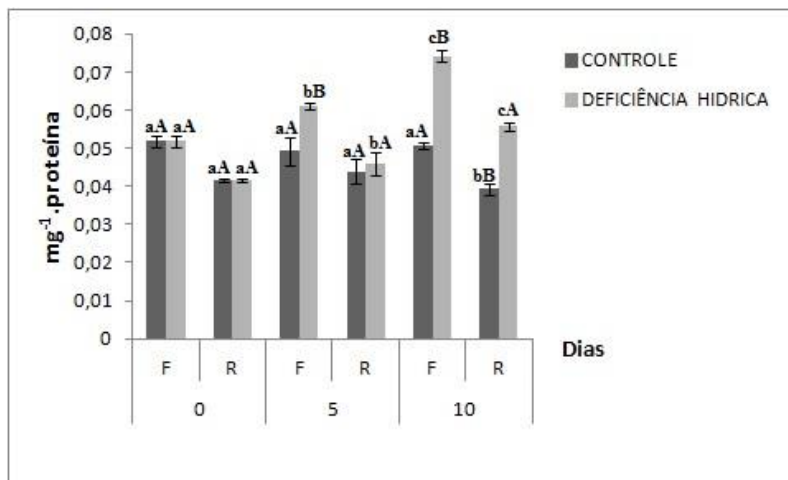
As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

## CAT

A atividade da catalase no tecido foliar (Figura 12) passou a diferir estatisticamente ( $p < 0,01$ ) ao quinto dia de suspensão hídrica, com valores aumentando de  $0,0492$  no tratamento controle para  $0,0612 \mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$  sob deficiência hídrica, aumentando um pouco mais ainda ao décimo dia para um valor de  $0,0743 \mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$ . O que em termos percentuais representou um aumento na ordem de 23,32% na atividade da enzima nas plantas sob deficiência hídrica.

Já nas raízes este aumento foi um pouco menor se comparado ao tecido foliar, mas também havendo diferença estatística ao nível de probabilidade definido ao quinto dia de suspensão hídrica, aumentando de  $0,0439$  no tratamento controle para  $0,0459 \mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$  sob deficiência hídrica, e de  $0,0557 \mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}\text{g}^{-1}$  ao décimo dia. Com um aumento percentual na ordem de 14,93% na atividade da enzima nos tecidos da raiz.

Figura 5. Atividade da enzima Catalase em tecidos da folha e raiz de plantas jovens de *T. vulgaris* submetidas à deficiência hídrica. As barras representam o desvio padrão da média de quatro repetições.



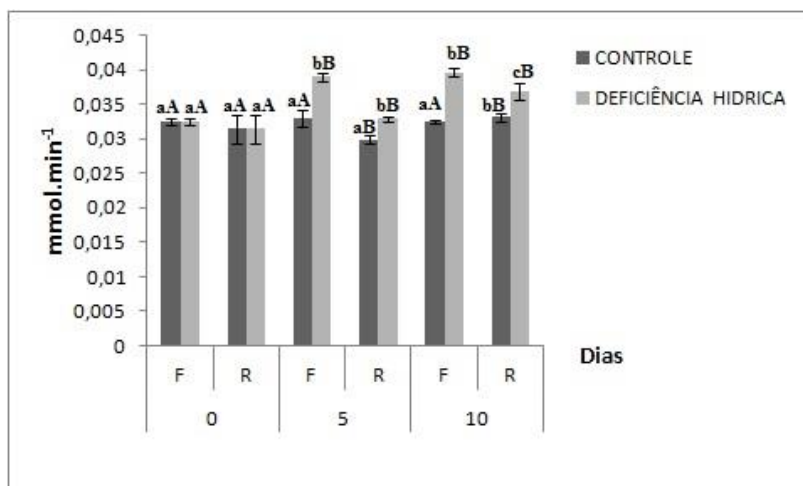
As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

## APX

A atividade da APX (Figura 13) no tecido foliar também passou a apresentar diferença estatística entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), apresentado um leve acréscimo em sua atividade de 0,0330 no tratamento controle para 0,0390  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína sob deficiência hídrica ao quinto e uma redução ao décimo dia para 0,0396  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína. Representando um aumento de 13,49% na atividade da enzima para as plantas sob deficiência.

Também registrando-se diferença estatística ( $p > 0,05$ ) da atividade enzimática no tecido da raiz. Sendo possível verificar uma diferença para os valores a partir do quinto dia de suspensão hídrica, aumentando de 0,0299 no tratamento controle para 0,0329  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína, e de 0,0368  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína ao décimo dia de suspensão. A atividade da enzima foi aumentada em 6,98% para as plantas sob deficiência hídrica.

Figura 6. Atividade da enzima APX em tecidos da folha e raiz de plantas jovens de *T. vulgaris* submetidas à deficiência hídrica. As barras representam o desvio padrão da média de quatro repetições.



As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios padrões das médias.

## 4.4 DISCUSSÃO

### Conteúdo Relativo de Água

As reduções no status hídrico do tecido foliar é consequência direta da baixa disponibilidade hídrica existente na matriz do solo, que se deu fortemente a partir do quinto dia após início do experimento, e agravando-se ainda mais ao décimo dia.

Pelo fato do CRA ser uma representação do estado hídrico da planta em máxima turgescência, alguns autores sugerem que os fatores fisiológicos são mais responsivos ao CRA do que ao potencial hídrico da planta (SANT' ANNA, 2009).

O uso da metodologia com hidratação rápida de tecido foliar tem eliminado a fonte de erro de suas determinações e a alta correlação com o potencial de água da folha, possibilita indiretamente a sua estimativa (CALBO et. al 2010).

Sant' Anna (2009) avaliando diferentes genótipos de citros também verificou reduções significativas no conteúdo relativo de água em um período de 5 a 7 dias de suspensão hídrica, onde talvez a velocidade de desidratação possa ter sido influenciadas pelas condições ambientais diferentes das que foram submetidas às plantas.

### **Vazamento de Eletrólitos**

O grau de danos à membrana pode ser estimado indiretamente através da condutividade elétrica, que por sua vez mensura o vazamento de eletrólitos das células para a solução aquosa (BAJJI et al, 2001). O vazamento de eletrólitos expresso pela extrusão de íons foi estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) aumentado nas plantas sob deficiência. As membranas celulares são uma das primeiras estruturas afetadas pelo estresse hídrico e salino, fazendo com a mesma perca sua característica de seletividade do que entra e sai da célula para o meio extracelular. Os resultados obtidos para o vazamento de eletrólitos estão coerentes quanto ao grau de dano causado às membranas, acionando desta maneira o sistema de defesa antioxidante (Figuras 11, 12 e 13).

Melo (2012) estudando diferentes genótipos de girassol constatou danos nas membranas em decorrência da indisponibilidade hídrica em uma das nas microrregiões avaliadas. E o aumento registrado neste estudo tem relação direta com esta variável, bem como também ao ataque de espécies reativas de oxigênio causadas pelo estresse hídrico. Lima (2013) avaliando plantas de *Anacardium occidentale* expostas à seca também verificou efeito negativo sobre a integridade celular nas plantas.

### **Pigmentos Fotossintéticos**

O déficit hídrico caracteriza-se como um dos estresses ambientais responsáveis pela perda de pigmentos nas folhas, fazendo com que o metabolismo da planta seja alterado, levando ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO's) que causam danos nas membranas, desencadeados por processos oxidativos de lipídios e perda de eletrólitos (Figura 1B) pela célula (LISAR et al., 2012); no aparelho fotossintético com reflexos nos teores de pigmentos como clorofilas *a* e *b* e carotenoides (PAIXÃO et al., 2014), corroborando com os resultados encontrados por Jangpromma et al (2010). Como consequência, as folhas deixam de produzir os fotoassimilados de forma satisfatória, desestabilizando o equilíbrio fonte\dreno e prejudicando processos como o crescimento e o desenvolvimento das plantas (COÊLHO, 2014).

Além de pigmentos acessórios, os carotenóides desempenham papel essencial na fotoproteção, protegendo o aparelho fotossintético contra o oxigênio singlete ( $^1O_2^*$ ), extremamente reativo, que danifica muitos componentes celulares, como lipídeos (TAIZ

e ZEIGER, 2013). Pois o sistema de defesa antioxidante começa com uma cascata enzimática, mas que também envolve componentes não enzimáticos, dentre os quais se destacam o ascorbato (AsA), a glutaiona (GSH), o  $\beta$ -caroteno e o  $\alpha$ -tocoferol. Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células (SERKEDJIEVA, 2011). Resultado este que não foi possível ser diagnosticado neste estudo, tendo em vista que houve uma redução dos teores de carotenoides nos tratamentos avaliados, tentativa esta de proteção celular designada aos antioxidantes enzimáticos como SOD, APX e CAT.

A disponibilidade hídrica influenciou fortemente a produção de pigmentos cloroplastídicos em *T. vulgaris*, não demonstrando comportamento tolerante ao déficit hídrico através da degradação do conteúdo destes pigmentos. O que provavelmente deva ter ocorrido pela alta produção de espécies reativas de oxigênio, fato este explicado pelas atividades de enzimas antioxidantes.

Carvalho et al (2012b) avaliando plantas de *Hyptis pectinata* também obtiveram redução nos teores de pigmentos após 60 dias de estresse hídrico em seus tratamentos. Já, Carmo et al (2014) encontraram aumento para o teor de carotenóides em plantas de pinhão manso também submetidas à deficiência hídrica, estratégia esta que a planta passa a adotar como forma proteção aos radicais livre produzidos com o estresse, diferindo desta forma com este trabalho.

## **SOD**

Segundo Pereira (2010) A função das SOD é de possibilitar que duas moléculas de  $O_2$  se dismutem para formar  $H_2O_2$ , que é considerado um agente antioxidante fraco. Em termos gerais, gerar  $H_2O_2$  para que a CAT e a APX possa os eliminar.

Dependendo do co-fator que esta enzima utiliza ela pode ser classificada em Fe SOD, Mn SOD e Cu-Zn SOD. Cada uma dessas diferentes SODs está localizada em diferentes compartimentos celulares, sendo cloroplastos; mitocôndrias e peroxissomos;, citosol e espaços extracelulares, respectivamente (ALSCHER et al., 2002).

As altas atividades de SOD indicam um potencial de tolerância aos danos causados pela foto-oxidação, por se tratar de um sistema antioxidante fundamentalmente importante na proteção do aparato fotossintético da destruição foto-oxidativa (SILVA, 2014).

Os resultados da SOD, que é a primeira enzima a atuar no sistema de defesa antioxidante enzimático, justificam o aumento da APX (em parte) e da CAT neste mesmo período, já que o aumento na produção do  $O_2^{\bullet-}$  ativa a SOD e, desta forma, reflete diretamente na concentração de  $H_2O_2$  livre exigindo, assim, um estímulo na atividade das enzimas responsáveis pela degradação desta molécula. A capacidade de manter a atividade da SOD, CAT e APX, em níveis elevados, sob condições de estresse ambiental, é essencial para que haja equilíbrio entre a formação e remoção de EROs do ambiente intracelular (MATÉS, 2000).

Lima (2013) avaliando o comportamento oxidativo em plantas de *Anacardium occidentale* expostas à seca também encontrou resultados semelhantes a este estudo, com elevada atividade da enzima superóxido dismutase. Comportamento este possivelmente do tipo adaptativo, a fim de estabelecer ajustamento metabólico frente às condições estressantes impostas em casa de vegetação, principalmente relacionado às elevadas taxas de radiação.

## CAT

A Catalase (CAT) é uma enzima que tem por função catalisar a redução do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ). A inibição da CAT leva a um aumento das espécies reativas de oxigênio, proporcionando ao organismo um estresse oxidativo (DA SILVA, et. al, 2008).

Em plantas existem pelo menos três tipos de Catalases distintas que se diferem em termos de localização e regulação biossintética (SCANDALIOS; GUAN; POLIDOROS, 1997). No entanto, neste estudo nos interessa apenas aquelas presentes em sistemas fotossintéticos e que têm funções de eliminação de  $H_2O_2$  durante a fotorrespiração.

As evidências sugerem que a CAT utiliza um mecanismo de dois estágios tanto nas reações peroxidativas como nas catalíticas. No primeiro o ferro do grupo heme da Catalase interage com o  $H_2O_2$  para formar um peróxido de ferro rico em oxigênio (Componente I). Em baixas concentrações de  $H_2O_2$  o componente I pode ser reduzido por uma variedade de doadores de hidrogênio (por exemplo, etanol ou ácido ascórbico). Com elevadas concentrações de  $H_2O_2$ , o componente I reage com uma segunda molécula de  $H_2O_2$  para produzir água e uma molécula de oxigênio (SCANDALIOS, 1994).



A comparação da resposta ao estresse oxidativo entre plantas  $C_3$  e  $C_4$  indica que as plantas com metabolismo de carbono do tipo  $C_4$  apresentam maior atividade de AsA e GSH além de APX, GR e redutase de desidroascorbato (componentes do ciclo ascorbato-glutationa), enquanto plantas do tipo  $C_3$  apresentam maior atividade de CAT. Este fato sugere que plantas  $C_3$  estão mais envolvidas na remoção de  $H_2O_2$  formadas a partir da fotorrespiração (NAYYAR & GUPTA, 2006). Sendo que a catalase é induzida em concentrações mais altas de  $H_2O_2$ . Assim, qualquer concentração de  $H_2O_2$  acima de um limiar normal pode gerar resposta de ativação destas enzimas (Mittler, 2002).

O  $H_2O_2$ , que é a forma protonada do íon peróxido, não é um radical livre, pois não possui qualquer elétron não pareado. No entanto, o  $H_2O_2$  tem uma grande importância nos sistemas biológicos pela facilidade de difusão através da camada bilipídica da membrana celular e por sua capacidade de gerar o radical  $OH^\cdot$  na presença de metais divalentes.

Silva (2014) observou uma intensa atividade da CAT em plantas de espécies florestais nativas de uma floresta semidecidual no estado de São Paulo durante a estação de seca.

## **APX**

Dentre as peroxidases de funções específicas na desintoxicação de EROS as mais importantes são: a Ascorbato Peroxidase (APX) e glutaciona Peroxidase (GPOX). E como elas estão presentes em quase todos os compartimentos celulares, agem na desintoxicação de peróxido de hidrogênio. O ciclo da ascorbato-glutationa é encontrado em quase todos os compartimentos celulares (DAVLETOVA et al, 2005).

O ascorbato reduz o  $H_2O_2$  à água pela APX e o produto monodeidroascorbato (MDA) formado, volta a se reduzir à ascorbato por três vias: a primeira é por causa da dismutação espontânea que sofre o MDA que produz ascorbato e deidroascorbato (DHA); na segunda via, o MDA é reduzido enzimaticamente pela monodeidroascorbato redutase (MDAR); numa terceira via o DH A formado da primeira via é reduzido a ascorbato pela deidroascorbato redutase, que utiliza glutaciona como agente redutor. O  $O_2$  formado pela transferência de um elétron do PSI para  $O_2$  é dismutado em  $H_2O_2$  e  $O_2$  pela SOD e seguidamente o  $H_2O_2$  é eliminado pela APX (MITTLER, 2002).

A APX requer ascorbato e  $H_2O_2$ , no chamado ciclo da ascorbato-glutationa (DAVLETOVA et al., 2005). Desta forma, o ascorbato é oxidado a

monodeidroascorbato (MDA). O MDA é espontaneamente reconvertido a ascorbato pelo PSI via ferredoxina reduzida. Também pode ser reduzido a ascorbato de forma dependente de NADPH pela ação da MDA-redutase, no cloroplasto e no citosol. A GPX utiliza GSH diretamente, formando glutationa oxidada (GSSG), com a utilização de NADPH (HELDT, 2005). A regeneração de GSH a partir de GSSG se dá por ação da glutationa redutase (GR) (APEL & HIRT, 2004).

Para Molinari et al (2007) os elevados teores de prolina livre nos tecidos se relacionam com o aumento da atividade da enzima APX. O aumento da APX justifica a manutenção dos níveis de  $H_2O_2$  como sinalizadores do estresse, já que a APX é uma enzima que tem um  $K_m$  baixo pra este substrato, caracterizando uma afinidade maior pelo  $H_2O_2$  do que a CAT (SCANDALIOS, 2002). No entanto, ao décimo dia de suspensão hídrica registrou-se uma redução na atividade da APX para  $0,0280 \mu\text{mol } H_2O_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína em tecidos da folha. Segundo Larré (2011) a redução na atividade de algumas enzimas no período final de avaliação coincide com o restabelecimento do metabolismo atribuído à adaptação da espécie ao estresse, o que neste estudo não pôde ser afirmado, tendo em vista que as plantas morreram ao final do experimento.

De acordo com Mittler (2002) a APX devido a sua alta afinidade ao  $H_2O_2$ , reage a alterações muito pequenas nas concentrações deste, sendo responsável pela regulação fina do sinal. Para Silveira et al (2010) a atividade da enzima pode variar nos diferentes órgãos da planta, tanto que não foi possível verificar diferenças estatísticas para os tecidos de folha e raiz neste estudo.

Larré (2013) também avaliando plantas de *Eritrina crista galli* L submetidas ao estresse hídrico obteve diferenças significativas para os períodos de avaliação e para os tratamentos, não apresentando interação para os fatores. Onde a atividade da enzima APX na folha apresentou valores 60% superiores quando comparados ao tratamento controle para o primeiro período de avaliação (10 dias). Comportamento igual ao obtido neste estudo, com redução na atividade da enzima ao último período de avaliação.

#### 4.5 CONCLUSÃO

O déficit hídrico, durante o período estudado, comprometeu a atividade antioxidante das plantas de *T. vulgaris*, visto que estas foram capazes de acionar rapidamente o sistema de defesa, tanto enzimático (SOD, APX e CAT), quanto não enzimático (carotenoides), sendo que este último não apresentou incremento na sua atividade. No entanto, não conseguindo reduzir os danos oxidativos acarretando na morte das mesmas.

## REFERÊNCIAS

- ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEATH, L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.53, n.371, p.1331-1341, 2002.
- ANTUNES-NETO, J. M. F.; SILVA, L. P.; MACEDO, D. V. Biomarcadores de estresse oxidativo: novas possibilidades de monitoramento em treinamento físico. **R.bras. Ci e Mov.** ; 13(2): 7-15. 2005.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 55, p.373-399, 2004.
- BEERS JUNIOR, R. F.; SIZER I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, p. 133 - 140, 1952.
- CALBO, A. G.; FERREIRA, M. D.; PESSOA, J. D. C.; . **HortScienc.** A leaf lamina compression method for estimating turgor pressure v. 45(3), p. 418-423, 2010.
- CAVATTE, P.C. et al. The Physiology of Abiotic Stresses Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Eds.). **Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance**. 102 ed.: Springer, Chapter 3, p 21-51. 2012.
- CHUN, S.-S.; VATEM, D.A.; LIN, Y-,T .; SHETTY, K.; Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* Process. **Biochemistry**, vol.40, p. 809 - 816, 2005.
- DA SILVA, J.G.; DA SILVA, L.P.; SOUZA, J.R.; CASTRO, C.S.P. **O Estudo dos complexos Zn (II)-CAT e Cu (II) – CAT utilizando a voltametria cíclica e a de pulso diferencial**. Circular técnica – Embrapa. Brasília, DF. Dezembro, 2008.
- DAT, J.; VANDENABEELE, S.; VRANOVÁ, E.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D.; VAN BREUSEGEM, F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v.57, p.779-795, 2000.
- DAVLETOVA, S.; RIZHSKY, L.; LIANG, H.; SHENGQIANG, Z.; OLIVER, D.J.; COUTU, J.; SHULAEV, V.; SCHLAUCH, K.; MITTLER, R. Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of Arabidopsis. **The Plant Cell**, Rockville, v, 17, p. 268-281, 2005.
- FRANKE, I.L. **Principais usos e serviços de árvores e arbustos promissores que ocorrem em pastagens no estado do Acre**. Comunicado Técnico: EMBRAPA/AC, n.106, p.1-6,1999.
- GIANNOPOLITIS C. N.; RIES S. K.; Superoxide dismutases. I Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. n.59, p.309-314, 1977.

- CARMO, M. S.; BORGES, L. P.; JUNIOR, H. D. T.; SANTOS, P. G. F.; MATOS, F. S. Efeito da disponibilidade de nitrogênio e déficit hídrico no crescimento inicial de plantas de Pinhão manso. *Revista Agrotecnologia*, v.5, n.2, p.33-48. Anápolis/GO, 2014.
- GILL, S.S. & TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 12: 909 – 930. 2010.
- HELDT, H.W. *Plant Biochemistry*. 3 ed. San Diego: **Elsevier Academic Press**, 630p.. 2005.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Csp. Stn. Univ. Calif.* Berkeley Cir. p. 137:147, 1950.
- LARRÉ, C. F. **Caracterização morfológica, fisiológica e bioquímica da Corticeira-do-banhado em condições de alagamento**. Tese de Doutorado em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelota/RS. 2011.
- LIMA, C. S. **Atividade fotoquímica e proteção oxidativa em mudas de cajueiro exposta à seca e luminosidade elevada**. Tese de Doutorado em Bioquímica. Universidade do Ceará. Fortaleza/CE, 2013.
- LIMA, H.C. TACHIGALI. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2010.
- MATÉS, J.M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, v.153, p.83-104, 2000.
- MCKERSIE BD, LESHEM YY. Stress and stress coping in cultivated plants. **Kluwer Academic Publishes**, London, 1994.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, London, v.7, n .9, p.405-410, Sept. 2002.
- MOLINARI, H.B.C. et al. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum spp.*): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v130, p.18-229, 2007.
- MOLLER, A.P.; COSTANTINI, D. Carotenoids ar minor antioxidants for birds. *Functional Ecology*, v. 22, p. 367-370, 2008.
- MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, v. 58, p. 459-481, 2007.
- MOLLER, I.M., JENSEN, P.E., HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, v.58, p.459-481, 2007.

NAYYAR, H.; GUPTA, DEEPTI. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficits stress: association with oxidative stress and antioxidants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.58, p.106-113, 2006.

NEILL, S; BARROS, R; BRIGHT, J; DESIKAN, R; HANCOCK, J; HARRISON, J. MORRIS, P; RIBEIRO, D; WILSON, I. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotics stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.59, n.2, p.165-176. 2008.

PEREIRA, E. P. L. **Marcadores bioquímicos da atividade antioxidante em sementes de *Amburana cearensis* (Fr. Allemão) A. C. Smith submetidas a déficit hídrico.** Dissertação de Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Universidade Federal da Bahia. Salvador/BA, 2010.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água.** Rio de Janeiro: Seropédica, Edur, 191p 2004.

RENDÓN, M.Y., GRATÃO, P.L., SALVA, T.J.G. AZEVEDO, R.A.; BRAGAGNOLO, N. Antioxidant enzyme activity and hydrogen peroxide content during the drying of Arabica coffee beans. **Eur Food Res Technol.** 236:753–758. 2013.

SANT' ANNA, H. L. S. **Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidos à deficiência hídrica progressiva.** Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das almas/BA. 2009.

SCANDALIOS, J. G. Regulation and properties of plants catalase. In: FOYER, C. H.; MULIUNEAUX, P. M. (Ed.) **Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants.** Boca Ratón: CRC Press, p.275-315. 1994.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, p.995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J.G. The rise of ROS. **Trends in Biochemical Science**, v.27, n. 9, p.483-486, 2002.

SCANDALIOS, J.G; GUAN, L.; POLIDOROS, A.N. Catalases in Plants : gene structure, properties, regulation and expression. In: SCANDALIOS, J.G. (Ed.) **Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses.** New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, p.345- 406. 1997.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.17, p.35-52, 2005.

SILVA, C. A. **variações nas atividades enzimáticas antioxidantes em espécies nativas de floresta estacional semidecidual na região metropolitana de Campinas, SP.** Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. São Paulo, 2014.

SILVA, P.P. et al. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v.37, p. 11-19, 2012.

SILVEIRA, J. A. G. ; MAIA, J. M. ; MACEDO, C. E. C.; VOIGT, E. L. ; FREITAS, J. B. S. Antioxidative enzymatic protection in leaves of two contrasting cowpea cultivars under salinity. **Biologia Plantarum** (Praha), v. 54, p. 159-163, 2010.

## CONCLUSÕES GERAIS

O período de suspensão hídrica afetou fortemente o metabolismo das plantas de Tachi branco, de modo que o status hídrico do mesófilo (CRA), as trocas gasosas e as variáveis de crescimento foram reduzidos em detrimento à disponibilidade hídrica do solo, principalmente quando as condições de deficiência avançaram.

Bem como também os processos bioquímicos nas plantas foram afetados pela deficiência hídrica, através da redução do CRA;  $\text{NO}_3^-$ ; amido e da atividade da redutase do nitrato, elevação nas concentrações de  $\text{NH}_4^+$ , prolina, sacarose, aminoácidos e carboidratos solúveis totais.

Comprometendo também a atividade antioxidante das plantas, visto que estas foram capazes de acionar rapidamente o sistema de defesa, tanto enzimático (SOD, APX e CAT), quanto não enzimático (carotenoides), sendo que o último não apresentou incremento na sua atividade. No entanto, não conseguindo reduzir os danos oxidativos acarretando na morte das mesmas.

Concluindo deste modo, que a respectiva espécie não foi tolerante ao período de dez dias de suspensão hídrica. Deste modo não se recomenda utilizar esta espécie em plantios próximos a períodos de seca, tendo em vista que a redução de água no solo e conseqüentemente no tecido vegetal ocasionou a morte da planta ao décimo dia de suspensão hídrica.

Contudo, indica-se realizar estudos mais detalhados acerca da espécie, tendo em vista que as plantas aqui utilizadas são oriundas de um lote formado por várias matrizes, ou seja, não se estudou o efeito de uma árvore somente quando submetida a determinado tratamento. Devendo então utilizar vários indivíduos da mesma espécie para selecionar o mais resistente às adversidades do meio. E outra indicação seria a reidratação das plantas após determinado período de deficiência hídrica, de forma a avaliar se as mesmas são capazes ou não de retomar seu metabolismo após suspensão da deficiência hídrica.