



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGOPECUÁRIA-EMBRAPA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS



ALEXANDRE DE MORAES FERREIRA

ECOFISIOLOGIA, CRESCIMENTO E BIOQUÍMICA DE *CLUSIA GRANDIFLORA*
SPLITG. (CLUSIACEAE) SUBMETIDAS AO ALAGAMENTO.

BELÉM
2015

ALEXANDRE DE MORAES FERREIRA

**ECOFISIOLOGIA, CRESCIMENTO E BIOQUÍMICA DE *CLUSIA GRANDIFLORA*
SPLITG. (CLUSIACEAE) SUBMETIDAS AO ALAGAMENTO.**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia,
como parte das exigências do Curso de Doutorado em
Ciências Agrárias: Área de concentração Agroecossistemas
da Amazônia, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Benedito Gomes Santos Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Candido Ferreira de Oliveira Neto

**BELÉM
2015**

FICHA CATALOGRÁFICA

Ferreira, Alexandre de Moraes

Ecofisiologia, crescimento e bioquímica de *Clusia grandiflora* Splitg, submetidas a anoxia / por Alexandre de Moraes Ferreira. – Belém, PA: Universidade Federal Rural da Amazônia; Embrapa Amazônia Oriental, 2015. 114 f. il.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2015. Orientador: Prof. Dr. Benedito Gomes Filho; Co-orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto.

1. Estresse hídrico, 2. Áreas degradadas, 3. Potencial hídrico, 4. Fotossíntese
5. Bioquímica. 6. Água. I. Título.

CDD 634.95 21 ed.

ALEXANDRE DE MORAES FERREIRA

**ECOFISIOLOGIA, CRESCIMENTO E BIOQUÍMICA DE *CLUSIA GRANDIFLORA*
SPLITG. (CLUSIACEAE) SUBMETIDAS AO ALAGAMENTO.**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias: Área de concentração Agroecossistemas da Amazônia, para obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 28 de agosto de 2015

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Candido Ferreira de Oliveira Neto / Co-Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

Prof^a Dr^a Alba Lucia Ferreira de Almeida Lins – 1º Examinador
Museu Paraense Emilio Goeldi – MPEG

Pesquisador Dr. Roberto Lisboa Cunha – 2º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia - EMBRAPA

Prof. Dr. Raimundo Lázaro Moraes da Cunha – 3º examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição – 4º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA

À DEUS na SANTÍSSIMA TRINDADE, pelo dom da vida, por seu amor incondicional, por sempre me instruir o coração, até mesmo dormindo, pela constante proteção, bençãos, fraternal correção, perdão, e graças,

Por ter me concedido nascer numa belíssima família, sempre disponível, amorosa e solidária, á começar por meus avós, Alexandre e Luciola, Francisco e Nazaré, meus pais, Salvador e Maria Margarida, meus irmãos Luciola, Davina e Salvador, meus tios, meus sobrinhos e sobrinhas, meus primos, meus cunhados e cunhadas, aos sobrinhos-netos, á futura sobrinha-neta Maria Teresa, e a família que me concedeu construir: minha querida e dedicada esposa Neire Maria, meus filhos, Alex, Andrea e Alexandra, meu genro Diogo e minha doce e amada netinha Amanda Maria.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me fortalecer e me amparar na horas mais difíceis, por todas as bênçãos derramadas sobre mim e minha família.

À intercessão de Nossa Senhora em todas as suas denominações, seja de Nazaré á do Perpétuo Socorro, e Santa Rita de Cássia cujas rosas sempre alegraram e protegeram minha casa, e meu ambiente familiar.

À minha família pela paciência e pelas horas de ausência em que precisei para a efetivação deste doutoramento,

Ao meu avô Alexandre Pinto Ferreira (*in memoriam*), de quem herdei o nome, e que ainda criança, repassou-me o amor que tenho pelas plantas,

À Roberto Burle Marx (*in memoriam*), a quem tive o prazer de conhecer, que me repassou um grande sentimento do busca de conhecimento e dedicação às plantas e ao paisagismo,

Ao professor Antonio Carlos Silva Barbosa (*in memoriam*), um de meus primeiros mestres na área do Paisagismo, muito generoso em suas instruções e um grande incentivador,

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pela oportunidade acadêmica, aos coordenadores, professores e colegas do curso de doutorado em ciências agrárias,

Ao Prof. Dr. Benedito Gomes Santos Filho, pela orientação, pela sabedoria repassada desde o mestrado e agora no doutorado, pela amizade, disponibilidade e paciência.

Ao Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto pela co-orientação, amizade, consideração, sugestões, disponibilidade, e pela substancial ajuda nas análises bioquímicas.

Aos Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição, Dr. Raimundo Lázaro Moraes da Cunha, Dr. Roberto Lisboa Cunha, e Dr^a Alba Lucia Lins pelas críticas construtivas e sugestões valiosas ao trabalho.

Ao colega e amigo Prof^o Doutorando Walter Velasco Silvestre na valiosa ajuda na obtenção das variáveis de trocas gasosas,

Ao colega Prof^o Dr. Pedro Silvestre da Silva Campos pela disponibilidade e valiosa ajuda nas análises estatísticas e gráficas,

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Fisiologia Vegetal pela convivência e apoio durante a realização deste trabalho,

Ao professor Dr. Francisco de Assis Oliveira pelo convívio, boa vontade, disponibilidade e ensinamentos.

Ao professor José Maria Conduru Neto pela amizade, orientação e convívio no estágio docência.

Ao colega Dr. Dilson Capucho Frazão pela amizade e disponibilidade,

À Shirley Cecília e a Milena, secretárias do curso de doutorado em ciências agrárias e ciências florestais respectivamente,

Ao prof^o Dr. Osmar Lameira e ao Paulo Guaraná pela disponibilidade das instalações do horto de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental.

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

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
1: CONTEXTUALIZAÇÃO	15
1.1- Descrição da <i>clusia grandiflora splitz</i>	20
1.2- Objetivos e hipóteses	22
1.3- Organização da tese em capítulos	23
1.4- Respostas observadas	24
REFERÊNCIAS	27
2: ECOFISIOLOGIA, BIOMETRIA E PRODUÇÃO DE BIOMASSA EM <i>Clusia grandiflora</i> Splitz. SUBMETIDAS A ANOXIA	33
Resumo	33
Abstract	34
2.1 introdução	35
2.2 material e métodos	38
2.3 resultados e discussão	40
2.4 conclusão	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO: Australian Journal of Crop Science (Instruction for Authors)	65
3: METABOLISMO DO CARBONO E NITROGENIO DE <i>Clusia grandiflora</i> Splitz. SUBMETIDAS A ANOXIA	68
Resumo	68
Abstract	69
3.1 Introdução	70
3.2 Material e métodos	72
3.3 Resultados e discussão	81
3.4 Conclusão	109
REFERÊNCIAS	109
CONSIDERAÇÕES FINAIS	116

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

A: Fotossíntese

ADH: Álcool desidrogenase

Af: Área das folhas

Alh: Área de lenticelas hipertróficas

APP: Área de preservação permanente

AST: Aminoácidos solúveis totais

ATP: Adenosina tri-fosfato

CA: Concentração de Amido

CA: Concentrações de Amônio livre

CR: Comprimento da raiz

CRa: Comprimento de raízes adventícias

CRA: Conteúdo Relativo de Água

CST: Carboidratos solúveis totais

DC: Diâmetro do coleto

DR_a: Diâmetro de Raízes adventícias

DPV_{fa}: Déficit de pressão de vapor entre folha e ar

E: Transpiração

GB: Glicina betaína

gs: Condutância estomática

GS: Glutamina sintetase

HC: altura do caule

K_L: Condutividade hidráulica

LDH: Lactato desidrogenase

Mpa: mega Pascal (1 MPa = 0,1 bar)

MSC: Massa seca do caule

MSF: Massa seca das folhas

MSPA: Massa seca da parte aérea

MSR: Massa seca da raiz

MST: Massa seca total

NF: Número de folhas

PRO: Prolina

PST: Proteínas solúveis totais

RFA: Radiação fotossinteticamente ativa

RN: Redutase do nitrato

Rs: Resistência estomática

SA: Sacarose

Tar: Temperatura do ar

Tfol: Temperatura da folha;

UR: Umidade relativa do ar

Ψ_{am} : Potencial antemanhã

Ψ_x : Potencial do xilema foliar

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Detalhes característicos da espécie *Clusia grandiflora* Splitz: a: ramo com inflorescência, b: corte longitudinal da flor, c: fruto, d: pétala, e: sépala, f: estame, g - o: estágios de germinação _____ 21

Figura 2. *Clusia grandiflora*: fruto fechado tipo a uma cebola e detalhe dos nós e entrenós dos ramos (A), fruto em processo de abertura natural (B), flor aberta, estaminada, 6 pétalas de coloração rosa (C), flor aberta, estaminada, 8 pétalas de tonalidade branca a rosa clara (D) _____ 22

CAPÍTULO 2

Figura 1. Formação de Lenticelas hipertróficas (Lh), raízes adventícias (RA), rachadura caulinar (RC) e abscisão foliar (AB) em plantas de *C. grandiflora* Splitz. submetidas ao alagamento durante 28 dias _____ 40

Figura 2. Temperatura do ar (**T_{ar}**: A), temperatura da folha (**T_{fol}**: B), Temperatura máxima do ar (**T_{max}**: C), Umidade Relativa do Ar (**UR**: D), Radiação Fotossinteticamente Ativa (**RFA**: E), Déficit de pressão de vapor entre folha e atmosfera (**DPV_{fa}**: F) durante o período experimental. As barras verticais representam o desvio-padrão das médias _____ 42

Figura 3. Potencial hídrico do antemanhã (ψ_{am} : A), Potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x : B), Conteúdo relativo de água (**CRA**: C) e Condutividade Hidráulica (**K_L**: H) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____ 43

Figura 4. Resistência estomática (**R_s**: A), Fotossíntese (**A:B**), Condutância estomática (**g_s**: C), Transpiração (**E**: D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____ 46

Figura 5. Número de folhas (**NF**: A), Altura do caule (**HC**: B), Diâmetro de coleto (**DC**: C), Área foliar (**AF**: D), Comprimento das raízes (**CR**: E), Área de lenticelas hipertróficas (**ALh**: F), Comprimento de raízes adventícias (**CR_a**: G), Diâmetro das raízes adventícias (**DR_a**: H) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____ 50

Figura 6. Massa Seca das Raízes (**MSR**: A), Massa Seca do Caule (**MSC**: B), Massa Seca das Folhas (**MSF**: C), Massa Seca Total (**MST**: D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas

continuamente a 0, 7, 14, 21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)__54

Figura 7: Comparativo percentual de massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) em relação á massa seca total (MST) de plantas de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (A): colunas de áreas escuras, e controle (C): colunas de áreas cinza. Letras maiúsculas (regime hídrico) e letras minúsculas (tempo de alagamento) iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)_____56

CAPÍTULO 3

Figura 1. Potencial hídrico do antemanhã (ψ_{am} : A), Potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x : B), Conteúdo relativo de água (CRA: C), Condutividade Hidráulica (K_L :D), Condutância estomática (gs: E) e Transpiração (E: F) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)_____83

Figura 2. Concentração de nitrato - NRf (folha: A), NRr(raiz: B) e atividade da redutase do nitrato - RNf (folha: C), RNr (raiz: D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)_____87

Figura 3. Concentração de amônio livre - CALf (folha: A), CALr (raiz: B) e glutamina sintetase - GSf (folha: C), GSr (raiz: D) em plantas de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)__90

Figura 4. Concentração de aminoácidos solúveis totais - ASTf (folha: A), ASTr (raiz: B) e proteínas solúveis totais - PSTf (folha: C), PSTr (raiz: D)) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____93

Figura 5. Concentração de prolina - PROf (folha: A), PROr (raiz: B) e giberlina - GBf (folha: C), GBr (raiz: D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____96

Figura 6. Atividades da lactato desidrogenase – LDHf (folha: A), LDHr (raiz: B) e da álcool desidrogenase – ADHf (folha: C), ADHr (raiz: D) e em *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____99

Figura 7. Concentração de amido – Caf (folha: A), CAr (raiz: B), concentração de sacarose - SAf (folha: C), SAR (raiz: D) e concentração de carboidratos solúveis totais – CSTf (folha; E), CStr (raiz; F) em *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de

alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$) _____ 103

LISTA DE TABELAS

Tabela de solos: Laboratório da EMBRAPA

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (**A**), Transpiração (**E**), Resistência estomática (**Rs**), Potencial hídrico do antemanhã (**Ψ_{am}**), Potencial hídrico do xilema foliar (**Ψ_x**), Conteúdo relativo de água (**CRA**), Condutância Estomática (**gs**) e condutividade hidráulica (**K_L**) de *C. grandiflora* Splitz., nos tratamentos, controle e alagado por 28 dias _____ 48

Tabela 2 – Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (**A**), Transpiração (**E**), potencial hídrico do xilema foliar (**Ψ_x**), Condutância estomática (**gs**), Umidade relativa do ar (**UR**), Radiação fotossinteticamente ativa (**RFA**), temperatura do ar (**T_{ar}**), Temperatura da folha (**T_{fol}**), Déficit de pressão de vapor entre folha e ar (**DPV_{fa}**), condutividade hidráulica (**K_L**), Altura do caule (**HC**), comprimento da raiz (**CR**), e Área da folha (**AF**) de *C. grandiflora* Splitz., nos tratamentos controle e alagado por 28 dias _____ 53

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (**A**), Transpiração (**E**), Resistência estomática (**Rs**), Potencial hídrico do antemanhã (**Ψ_{am}**), Potencial hídrico do xilema foliar (**Ψ_x**), Conteúdo relativo de água (**CRA**), Condutância Estomática (**gs**) e condutividade hidráulica (**K_L**) de *C. grandiflora* Splitz., nos tratamentos, controle e alagado por 28 dias _____ 85

Tabela 2. Coeficientes de Correlação de Pearson entre potencial hídrico do antemanhã (**Ψ_{am}**), potencial hídrico do sistema foliar (**Ψ_x**), Conteúdo Relativo de água (**CRA**), Condutividade hidráulica (**K_L**), concentrações de amido na folha (**CA_f**) e na raiz (**CA_r**), Prolina na folha (**PRO_f**) e na raiz (**PRO_r**), Concentrações de nitrato na fola (**CN_f**) e na raiz (**CN_r**), Redutase do nitrato na folha (**RN_f**) e na raiz (**RN_r**), Concentrações de Amônio livre da folha (**CAL_r**) e folha (**CAL_r**), Glutamina Sintetase na folha (**GS_f**) e na raiz folha (**GS_r**), Aminoácidos Solúveis Totais na folha (**AST_f**) e na raiz (**AST_r**), Proteínas Solúveis Totais na folha (**PST_f**) e na raiz (**PST_r**), Prolina na folha (**PRO_f**) e na raiz (**PRO_r**), Giberalina na folha (**GB_f**) e na raiz (**GB_r**), Alcool Desidrogenase na folha (**ADH_f**) e na raiz (**ADH_r**), Lactato Desidrgenase na folha (**LDH_f**) e na raiz (**LDH_r**), Concentrações de Amido na folha (**CA_f**) e na raiz (**CA_r**), Sacarose na folha (**SA_f**) e na raiz (**SA_r**), Carboidratos Soluveis Totais na folha (**CST_f**) e na raiz (**CST_r**) nas plantas controle de *C. grandiflora* Splitz. _____ 108

Tabela 3. Coeficientes de Correlação de Pearson entre potencial hídrico do antemanhã (**Ψ_{am}**), potencial hídrico do sistema foliar (**Ψ_x**), Conteúdo Relativo de água (**CRA**), Condutividade hidráulica (**K_L**), concentrações de amido na folha (**CA_f**) e na raiz (**CA_r**), Prolina na folha (**PRO_f**) e na raiz (**PRO_r**), Concentrações de nitrato na fola (**CN_f**) e na raiz (**CN_r**), Redutase do nitrato na folha (**RN_f**) e na raiz (**RN_r**), Concentrações de Amônio livre da folha (**CAL_r**) e folha (**CAL_r**), Glutamina Sintetase na folha (**GS_f**) e na raiz folha (**GS_r**), Aminoácidos Solúveis Totais na folha (**AST_f**) e na raiz (**AST_r**), Proteínas Solúveis Totais na folha (**PST_f**) e

na raiz (**PSTr**), Prolina na folha (**PROf**) e na raiz (**PROr**), Giberalina na folha (**GBf**) e na raiz (**GBr**), Alcool Desidrogenase na folha (**ADHf**) e na raiz (**ADHr**), Lactato Desidrogenase na folha (**LDHf**) e na raiz (**LDHr**), Concentrações de Amido na folha (**CAf**) e na raiz (**CAr**), Sacarose na folha (**SAf**) e na raiz (**SAr**), Carboidratos Solúveis Totais na folha (**CSTf**) e na raiz (**CSTr**) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas a 28 dias de alagamento _____ 109

RESUMO

A inunda  o do solo promove um dos estresses abióticos mais frequentes, a que são submetidas algumas plantas, e que podem interferir na qualidade dos ecossistemas, como a floresta Amazônica que sobrevive a partir de seu próprio material orgânico, e seu delicado equilíbrio é extremamente sensível a quaisquer interferências. *Clusia grandiflora* Splitz.    uma espécie arbórea ereta pioneira perene, de ocorrência principalmente no bioma restinga na Amazônia. O objetivo desse trabalho foi determinar alguns dos mecanismos ecofisiológicos e bioquímicos de tolerância ao estresse por alagamento no solo. O experimento foi conduzido em casa de vegeta  o da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) localizada em Belém- Pará, de janeiro a julho de 2014, quando foram utilizadas mudas de *Clusia grandiflora* Splitz. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com esquematiza  o 2 x 5 x 5: duas condi  es hídricas - controle "C" e alagamento das raízes "A" x cinco períodos de avalia  o - 0, 7, 14, 21 e 28 dias x 5 repeti  es controle e alagado, totalizando 50 unidades. As plantas alagadas foram envolvidas por um vaso de maior volume, mantidas com lamina d'água de 5 cm do coletor. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%, os gráficos elaborados pelo programa Sigma Plot 12.5. O potencial hídrico do antemanhã (ψ_{am}), potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x), conteúdo relativo de   gua (CRA), condutividade hidráulica (K_L), e déficit de pressão de vapor folha-ar (DPV_{f-a}) reduziram conforme foi aumentando o tempo de estresse nas plantas; fotossíntese (A), condutância estomática (GS), transpira  o (E) e resistência estomática (R_s) apresentaram diminui  o nas plantas estressadas, apresentando redu  es mais pronunciadas no 21   e no 28   dia. Houve significativo decréscimo de crescimento em altura (HC), número de folhas (NR), comprimento de raízes (CR),   rea foliar (AF) no alagamento, e decréscimo não significativo nos diâmetros dos caules, por outro lado, ocorreu significativo aumento de comprimento de raízes adventícias (CRa), diâmetro das raízes adventícias (DRa) e forma  o de lenticelas hipertróficas (ALh) nas plantas alagadas. As massas secas da raiz (MSR), do caule (MSC), das folhas (MSF) e total (MST) apresentaram redu  o nas plantas alagadas. O alagamento induziu o aumento nas concentra  es de amônio (CAL), sacarose (SA), prolina (PRO) e glicina beta  ina (GB), assim como nos teores de aminoácidos solúveis totais (AST), carboidratos solúveis totais (CST), tanto nas folhas, quanto nas raízes, por outro lado provocou redu  o nas concentra  es de nitrato (CN), da glutamina sintetase (GS), das concentra  es de amido (CA), e das prote  inas solúveis totais (PST) nos tecidos foliares e das raízes. As plantas alagadas apresentaram correla  o significativa direta e indireta entre as variáveis fisiológicas e variáveis bioquímicas, e entre as variáveis bioquímicas entre si. Os indicadores de crescimento, biomassa, fisiológicos e bioquímicos observados se mostraram eficientes para avaliar o estado geral e metabólico das plantas. O acúmulo de AST, PRO, GB, LDH, ADH, SA e CST nas folhas e na raiz, e a transloca  o de CA da folha para raiz resultantes da intensidade do alagamento contribuíram para o ajustamento metabólico da planta, todavia, não foram capazes de impedir a redu  o na produ  o de massa seca. Todas as plantas sobreviveram ao experimento, no entanto, as estressadas provavelmente supriram a falta de oxigênio das raízes pela forma  o de raízes adventícias, lenticelas hipertróficas, e rachaduras caulinares. *C. grandiflora* se mostrou promissora para ser utilizada como planta pioneira no reflorestamento de áreas degradadas.

Palavras- chave: Estresse hídrico, áreas degradadas, potencial hídrico, fotossíntese, concentrações de amido.

ABSTRACT

Flooding soil promotes one of the most frequent abiotic stresses to which they are subjected some plants, and that can interfere with quality of ecosystems such as the Amazon forest that survives from their own organic material, and its delicate balance is extremely sensitive to any interference. *Clusia grandiflora* Splitz. is an erect perennial pioneer tree species, occurring mainly in the Amazon biome sandbank. The aim of this study was to determine some of the ecophysiological and biochemical mechanisms of stress tolerance by water flooding the ground. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia (UFRA) located in Belem-Para, from January to July 2014, when seedlings were used in *Clusia grandiflora* Splitz. The experimental design was completely randomized layout with 2 x 5 x 5: two water conditions - control "C" and the root flooding "A" x five evaluation periods - 0, 7, 14, 21 and 28 days x 5 reps and control flooded, totaling 50 units. The flooded plants were surrounded by a higher volume vessel, maintained with a water depth of 5 cm from the collect. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA), the averages compared by Tukey test at level of 5%, the graphics produced by Sigma Plot 12.5 program. The water potential of the predawn (ψ_{am}), the foliar xylem water potential (ψ_x), relative water content (CRA), hydraulic conductivity (KL), and pressure Deficit vapor (DPVf-a) air-sheet was reduced as increasing the stress time in the plants, photosynthesis (A), stomatal conductance (GS), transpiration (E) and stomatal resistance (Rs) showed a decrease in stressed plants, with reductions more pronounced in the 21st and 28th day. There was a significant decrease in growth height (HC), sheet number (NR), root length (CR), leaf area (AF) in flooding, not significant decrease in diameter of stalks, moreover, a significant increase length of adventitious roots (CR), diameter of adventitious roots (DRÍ) and formation of hypertrophic lenticels (ALH) in flooded plants. Dried pasta root (MSR), stem (MSC), leaves (MSF) and total (MST) decreased in flooded plants. Flooding induced increase in ammonium concentration (CAL), sucrose (SA), proline (Pro) and glycine betaine (GB) and in total soluble amino acid levels (AST), soluble carbohydrates (CST), both in leaves, as in the roots on the other hand caused a reduction in nitrate (CN), glutamine synthetase (GS), the starch concentrations (CA), and total soluble proteins (PST) in the leaves and roots. The flooded plants had direct and indirect significant correlation between physiological and biochemical variables, and biochemical variables between each other. Growth indicators, biomass, physiological and biochemical observed were efficient to evaluate the overall condition and metabolism of plants. The accumulation of AST, PRO, GB, LDH, ADH, AS and CST in leaf and root, and root translocation of the AC-to-sheet resulting from flooding intensity contributed to the adjustment of Metabolic plant, however, were unable to prevent the reduction in dry matter production. All plants survived the experiment, however, the stressed probably lack of oxygen supplied the roots of the formation of adventitious roots, hypertrophic lenticels, and stem cracking. *C. Grandiflora* it showed promising for use as a pioneer plant in the reforestation of degraded areas.

Key words: water stress, degraded areas, water potential, photosynthesis, starch concentrations.

CAPÍTULO 1: CONTEXTUALIZAÇÃO

Beneficiada por condições climáticas favoráveis de iluminação, temperatura e regularidade de chuvas, a floresta Amazônica destaca-se como o bioma de maior riqueza do Brasil e do mundo, muitas regiões dessa floresta se destacam por alterações sazonais da disponibilidade de água do solo. Nesse particular as áreas quando secas ou inundadas desempenham papel importante na dinâmica ambiental dos ecossistemas, que irá repercutir no desempenho, disponibilidade e qualidade da flora e fauna, todavia, além da água, outros fatores são relevantes quando se avaliam variações sazonais como a temperatura (LEMOS-FILHO, 2000), umidade (MIRANDA *et al.*, 2011) e a disponibilidade de luz. O alagamento do solo exerce profundo efeito nos organismos que nele habitam, especialmente nas plantas, elimina os espaços ocupados pelo ar, limitando as trocas gasosas com a atmosfera podendo criar no solo um ambiente de baixa disponibilidade, ou ausência de O₂, assim como, respostas fisiológicas ao alagamento. As plantas tendem a mobilizar reservas para suprir a demanda de carbono necessário para a manutenção do metabolismo, diminuição geral do potencial de crescimento e formação de estruturas anatômicas adaptativas, cujos resultados serão influenciados pelas interações nas condições ambientes de CO₂ e temperatura. Face à diminuição do oxigênio endógeno as plantas alteram sua arquitetura, anatomia, metabolismo e crescimento, como estratégia de sobrevivência (BAILEY-SERRES & VOESENEK 2008), e várias reações metabólicas podem ocorrer como sinais à diminuição da concentração de oxigênio e por um aumento de etileno.

São relatados que características morfo-funcionais como massa foliar específica (MFE) e densidade foliar têm se mostrado relacionadas à disponibilidade de recursos, assim ocorre com plantas em ambientes mais pobres que investem mais carbono em suas folhas, mantendo-as por mais tempo (REICH ET AL., 2003; HOFFMAN ET AL., 2005). Segundo Marengo & Lopes, (2005) a intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO₂, o teor de nitrogênio da folha e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais. Murchie e Horton, (1997) destacam que o aparato fotossintético é altamente sensível às alterações na quantidade e qualidade da RFA, para Ashton e Berlyn (1992); Poole et al., (1996); Roças et al., (1997); e Klich, (2000) os estômatos de folhas intactas normalmente se abrem em resposta ao aumento de RFA, porém para Burrows e Milthorpe (1976) a temperatura do ar também influencia as respostas estomáticas. Tardieu, (1994); Tardieu e Simmoneau, (1998) relatam que a abertura estomática relaciona-se com três importantes

variáveis fisiológicas: i) metabólitos fotossintéticos; ii) hormônios ou reguladores de crescimento, especialmente o ácido abscísico (ABA); e iii) balanço hídrico. Para Silva (1993) elevada temperatura, em conjunto com a umidade relativa do ar interferem no potencial hídrico do ar em torno da folha, atuando no DPV, no entanto, Rodrigues et al. (2011) observaram que o DPV influenciou significativamente na condutância estomática de plantas de um manguezal amazônico, mostrando que não somente a água presente no solo influencia as plantas de um ambiente.

As plantas que toleram inundações periódicas necessitam readaptar seu metabolismo e ciclo de vida modificando a via respiratória de forma a suportar as alterações entre condições aeróbicas e hipóxicas ou até mesmo anóxicas, impostas pelo alagamento (KOZLOWSKI, 1997; LIAO, LIN, 2002, DAT et al., 2004), sofrem queda imediata na respiração das raízes, tanto em plantas tolerantes como nas intolerantes, provocando inibição da atividade metabólica e, conseqüentemente redução na produção de ATP (LIAO; LIN, 2002), que armazena energia proveniente da respiração celular e da fotossíntese, para consumo imediato como transporte ativo de moléculas, síntese de substâncias e divisão celular, essa energia pode ser estocada na forma de carboidratos e lipídios. A redução da respiração inibe a produção de ATP e da atividade metabólica restringindo o fornecimento de energia para o crescimento das raízes, e o crescimento vegetativo (BATISTA et al, 2008), a queda de respiração e na baixa produção de ATP é compensada pela aceleração da glicólise, afim de satisfazer as exigências energéticas para manter o metabolismo vegetal (PISICCHIO et al, 2010), que afeta a difusão do CO₂ para o interior das células, refletindo na redução da taxa de fotossíntese (MIELKE et al., 2003), ocasionando redução do crescimento e das atividades metabólicas das raízes, e assim passam a demandar por menos carboidratos, o que provocaria acúmulo desses compostos nas folhas, especialmente na forma de amido (HSU et al., 1999), todavia, para tolerar a esses estresses a planta promove mecanismos próprios de ajustamento de seu potencial osmótico.

Estudos já indicam que alguns compostos contribuem para o ajustamento do potencial osmótico como o acúmulo de aminoácidos solúveis e sacarose (MERCHANT et al., 2010), carboidratos solúveis (ISLAM; MACDONALD, 2004; HENRIQUE et al., 2010; BERTOLDE et al., 2012), prolina e a glicina-betaína (OLIVEIRA NETO, 2010), especialmente no citoplasma, reduzem o potencial osmótico das células do tecido foliar, e conseqüentemente o seu potencial hídrico (JALEEL et al., 2007) contribuindo para a manutenção do turgor celular,

como os ajustes no metabolismo celular que contribuem para manutenção da turgência celular, via acúmulo de substâncias orgânicas. Silva et al (2004) citam a prolina, que contribui para a osmorregulação, Silveira et al, (2015) evidenciaram que plantas de *S. membranifolia* aumentaram o consumo de carboidratos, expressos pelos maiores valores de AST na imersão parcial e degradação de amido, já para Kreuzwieser et al. (2004), a principal característica de tolerância contra enchentes e alagamentos de árvores parece ser o fornecimento regular de carboidratos para as raízes. Oliveira Neto (2010) observou aumento significativo da prolina e glicina-betaína em raízes e folhas das plantas jovens de *H. courbaril*, contrariamente, Alves et al (2012) verificaram redução desses compostos em raízes e folhas de plantas jovens de *T. serratifolia*. Alguns autores concluíram que a prolina atuaria na estabilização de membranas e estruturas subcelulares, fonte de carbono e nitrogênio (SILVA-ORTEGA, et al., 2008), e a glicina-betaína seria importante para formar moléculas de piruvato e compostos ligados a síntese de hormônio, como por exemplo, o etileno, além de servir como fonte de carbono (MUNÓZ-CLARES; VELASCO-GARCIA, 2004). Como consequência da diminuição ou parada da respiração aeróbia e nesta circunstância, as vias fermentativas como as fermentações láctica e alcoólica são ativadas e as atividades das enzimas álcool desidrogenase (ADH) e lactato desidrogenase (LDH) são induzidas para sustentar a glicólise e compensar a baixa produção de ATP (SATO et al., 2002), conforme comprovado em *M. cajuputi* (KOGAWARA et al., 2006), *H. sucuuba* (FERREIRA et al., 2009) e *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012). A indução da síntese de diversas proteínas em plantas submetidas à deficiência de oxigênio, é associada a glicólise e a fermentação (SAIRAM, et al., 2008), que permitem superar a deficiência de oxigênio, sintetizando polipeptídeos anaeróbicos (ADH e LDH) como forma de compensar a depleção de proteínas aeróbicas (ZABALZA et al., 2009). O alagamento pode reduzir a atividade do nitrato redutase (ALLÈGRE et al., 2004; ALVES et al., 2012) e glutamina sintetase (HORCHANI; ASCHI-SMITI., 2010; ALVES et al., 2012), influenciando no balanço de nitrogênio total e de diversos aminoácidos (LIAO; LIN, 2001). Para Horchani; Aschi-smiti., (2010) a glutamina sintetase parece exercer um importante controle na concentração de NH_4^+ e a sua inibição poderá resultar em acúmulo deste íon, podendo assim causar a morte da planta. Silveira, et al, (2015) estudando o alagamento de *S. membranifolia*, concluíram que os teores de açúcares solúveis totais, redutores e amido foram significativamente inferiores nas plantas alagadas e totalmente alagadas, tanto nas folhas quanto nas raízes

A disponibilidade hídrica é um dos principais fatores que regula o crescimento e a sobrevivência de plântulas (TOBE, ZHANG, OMASA, 2006), sendo que a quantidade desse recurso vai variar de acordo com a espécie, desempenhando papel importante no padrão de distribuição desses vegetais (SCHUTZ, MILBERG, LAMONT, 2002). Em ambientes sujeitos ao alagamento ainda que temporal, algumas espécies arbóreas, evidenciam alterações morfológicas e metabólicas para tolerarem a deficiência de oxigênio, como o declínio do potencial hídrico foliar, observado em *J. curcas* (GIMENO et al., 2012), em *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012). O fechamento estomático parcial ou total é relatado como uma das primeiras respostas da parte aérea, e pode promover a diminuição da transpiração (ZOLKOLOWSKI; PALLARDARY, 2004; HERRERA et al., 2008), contribuem também, a expansão foliar, senescência, indução de abscisão foliar, diminuição nas trocas gasosas, ativação do metabolismo anaeróbico, redução do acúmulo de biomassa da raiz, folhas e hastes; hipertrofia de lenticelas e caules, formação de raízes adventícias, aerênquimas e pneumatóforos (MIELKE et al., 2003, 2005; PAROLIN, 2003, 2009; BATISTA et al., 2008; OLIVEIRA; JOLY, 2010; MARTINEZ et al., 2011; GHANBARY et al., 2012; ZANANDREA et al., 2010).

Dentre as respostas ao estresse de alagamento nas plantas, se inclui a rápida geração das chamadas espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem agir causando danos ou como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa, são formadas pela redução parcial de oxigênio molecular levando à produção das ERO na forma de oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH.) e anion superóxido (O_2^-) (Mittler, 2002), que reagem avidamente com moléculas biológicas, como DNA, proteínas e lipídeos, podendo alterar suas funções, depende não só do compartimento que está sendo afetado, mas do tipo de ERO que está reagindo (DRÖGE, 2002), que são moléculas livres formadas por elétrons livres ou não pareados que apresentam instabilidade elétrica muito grande e, por essa razão mesmo tendo meia-vida muito curta apresentam alta capacidade reativa (SHARMA; DUBEY, 2005) podendo causar danos celulares, que são evitados por adaptações anatômicas, morfológicas, produção de compostos antioxidantes, alterações moleculares e mecanismos que rearranjam o aparato fotossintético e seus pigmentos (MITTLER, 2002).

Segundo Drew (1997) o alagamento promove alterações morfo-anatômicas como formação de aerênquima e a produção de lenticelas hipertróficas que permitem a difusão do oxigênio da

parte aérea para as raízes, Alves et al. (2012) destacam que o alagamento do solo induz significativas alterações morfo-anatômicas nas raízes de algumas espécies de plantas, outros autores encontraram respostas ao alagamento sob forma de desenvolvimento de aerênquima, corredores de ar ou espaços aéreos descontínuos, raízes adventícias ou com crescimento diageotrópico, e o aumento em superfície (WAMPLE & REID 1979, DREW et al. 1981; JOLY. 1996, SCANTENA & MENESES, 1996, SANTIAGO E PAOLI, 2003). Medri et al, (2011) estudando plantas de *A. sellowiana* encontraram o desenvolvimento de modificações morfo-anatômicas típicas de plantas tolerantes, como raízes diageotrópicas, rachaduras caulinares, lenticelas hipertrofiadas e espaços intercelulares maiores. O aerênquima pode ser constituído na espécie de forma natural ou induzido por estresse, e se trata de um sistema que facilita a difusão de O₂ e CO₂ nos tecidos vegetais, cuja formação pode ser esquizógena, pelo afastamento de células, ou lisígena, oriundo da morte de células corticais, que formam colunas contínuas para armazenamento e transporte de gases (JOLY 1991).

O ambiente hipóxico ou anóxico induzem que as plantas respondam com maior ou menor eficiência á baixa disponibilidade de O₂ (ARMSTRONG, 1994), em função de características próprias, algumas espécies demonstraram ter relativa tolerância ao alagamento como, *C. prunifera* (ARRUDA, 2004), *C. pachystachya* (BATISTA et al., 2008), *H. courbaril* (OLIVEIRA NETO, 2010), *H. crepitans* (MARTINEZ et al., 2011), *S. membranifolia* (SILVEIRA et al, 2015), outras tiveram seu crescimento ou até mesmo sua sobrevivência comprometida quando alagadas, *S. parahyba* (COSTA et al., 2006), *A. sellowiana* (MEDRI et al., 2012) e *T. serratifolia* (ALVES, 2012).

A revisão acima indica que redução ou falta de oxigênio demonstram ser o principal sinalizador das demais reações internas das plantas alagadas, que mantêm dependência direta na produção de energia, nas reações metabólicas e morfo-anatômicas para enfrentar o estresse ao alagamento, todavia, alguns autores (BRADFORD & YANG 1981; HE et al. 1996; FUKAO & BAILEY-SERRES 2004; VISSER & VOESENEK 2004) indicam em alguns casos, o etileno como via de sinalização intermediária e de produção independente de energia, que induz a formação de genes, reações metabólicas diversificadas, que garantem a formação de aerênquima e a indução de raízes adventícias, contribuindo para a tolerância ao alagamento. No presente estudo ficou evidenciado a formação de raízes adventícias, lenticelas hipertróficas e rachaduras caulinares que contribuíram como rota alternativa na captação do

oxigênio da parte aérea para a aeração e difusão nas raízes, que permitiu um balanço de atividades metabólicas, que vieram a permitir a tolerância de *C.grandiflora* ao alagamento.

DESCRIÇÃO DA CLUSIA GRANDIFLORA SPLITZ.

Clusia grandiflora Splitz é pertence á família Clusiaceae, muito conhecida pelo nome vulgar cebola brava, é uma espécie do tipo heliófita, semidecídua, árvore lactescente, pioneira, perene podendo alcançar 20 m de altura, contém látex resinoso de coloração branco-alaranjado, que exsuda rapidamente ao ser cortado o tronco, ramos ou folhas, apresenta tronco circular, ritidoma liso, com pontos de rugosidade de cor cinza, ramificação simpodial, ramos glabros, nós e entrenós bem definidos, folhas glabras, simples, decussadas, área laminar obovada, base cuneada e ápice arredondada (figuras 1: A e 2: a), inflorescências axilares e terminais do tipo umbela de umbelas, com até três flores de 5,0 a 7,0 cm de comprimento e diâmetro, pedunculadas, muito vistosas, de cor rosa (figuras 1: a e 2: C,) ou brancas (figuras 1: a e 1: d), andróginas, radiais, seis a oito pétalas livres, carnosas e obovadas (figura 1: d) com quatro sépalas coriáceas livres (figura 1: e), prefloração imbricada, androceu polistêmone, ovário ínfero com 10 a 15 carpelos iguais de placentação axial, estames homodínamos (figura 1: f), soldados na base, estiletos curtos e estigma indiviso (figura 1: b), o fruto é simples, de forma ovalada a globosa (figura 1: c), com média de 5,88 cm de diâmetro e 5,14 cm de altura; o fruto lembra, em formato, textura e coloração, a de uma cebola (figura 1: B); epicarpo liso, delgado, e coriáceo, pericarpo espesso e suculento, de coloração alaranjada, e forte cheiro adocicado, poliespérmico, sincárpico, cápsula septífraga com deiscência longitudinal ao longo das nervuras dorsais das folhas carpelares, dotados de numerosas sementes oblongo-elípticas, providas de arilóide de cor amarelo ligado à micrópila; superfície lisa brilhante, de cor creme a bege, circundando todo o tegumento, onde foi encontrado de 136 a 220 sementes por fruto.

A germinação é do tipo epígea e a emergência hipocotilar; iniciou entre seis e nove dias da sementeira com o aparecimento da radícula (figura 1: o a i). Aos doze dias o hipocótilo se alongou e elevou os cotilédones pequenos e indivisíveis, ainda envolvidos pelo tegumento persistente, aos quatorze dias da emergência, o tegumento caiu expondo a plúmula. Aos 20 dias a planta apresentou 4 folhas, e aos 3º dias 6 folhas. Com regular frequência registrou-se a presença de pequenos pássaros, seus prováveis dispersores e pequenas abelhas e borboletas, em torno e dentro das flores, seus prováveis polinizadores.

A espécie se distribui na bacia amazônica predominantemente em áreas de restinga, cujo solo é rico em areia e pobre em nutrientes (Tabelas 1 e 2 abaixo), sendo facilmente encontrada em terra firme, nas dunas ou habitando pequenas áreas alagadas, com duração permanente ou por cerca de seis meses. A espécie desperta grande interesse no paisagismo, recuperação de áreas degradadas, propriedades medicinais, produção de biomassa, e pelo valor fitoterápico atribuído a seu látex (VAN DEN BERG, 1984), das flores extrai-se uma resina amarela-avermelhada, muito aromática, usada com banha de cacau, para curar as rachas do bico do peito, as flores e frutos, também são indicadas para combater a tosse. Material herborizado no herbário MG (registrados sob a codificação: MG 172769 a MG 172825) serviu de comparação e estudo da espécie estudada.

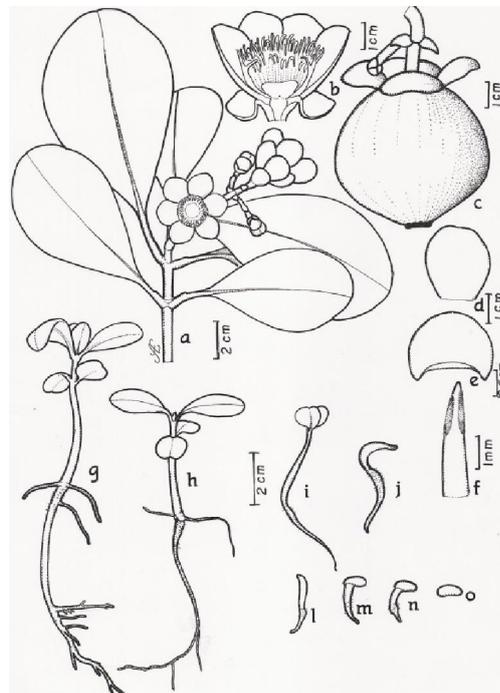


Figura 1: Características botânicas de *C. grandiflora* - a: ramo com folhas, flor e inflorescência, b: corte longitudinal da flor, c: fruto, d: pétala, e: sépala, f: estame, o - i: estágios de germinação, g-h: planta estabelecida com 4 e 6 folhas, raízes pivotantes e secundárias

Caracterização do Solo da restinga

Tabela 1: Composição química.

PH	P	K	Na	Ca	Ca+ Mg	Al
Água	mg/dm ³ (*)			cmol/dm ³ (**)		
5,9	1	6	6	0,5	0,8	0,2

Fonte: laboratório de solos da Embrapa Amazônia Oriental

(*) miligrama por decímetro cúbico

(**) centímol de cargas por decímetro cúbico ou miliequivalentes por cm³

Tabela 2: Análise física – mecânica - granulometria.

Profundidade (m)	Granulometria (g/kg)			
	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila Total
0,20	40	890	50	20

Fonte: laboratório de solos da Embrapa Amazônia Oriental.

C. grandiflora apresenta características das plantas pioneiras, tolerante a ambientes mais hostis como na restinga, com suas sementes germinando em áreas abertas e clareiras (SWAINE E WHITMORE, 1988), que crescem em grandes clareiras, bordas de fragmentos florestais e que são capazes de germinar e de se estabelecerem em áreas abertas e perturbadas, tolerando inclusive um ambiente mais hostil com alta irradiância, alta temperatura, baixa umidade do ar e do solo (CHRISTO et al. , 2009, CARVALHO et al. 2008, 2006, e PEIXOTO et al. , 2004). Características botânicas de *C. grandiflora* são apresentadas em escala na figura 2.

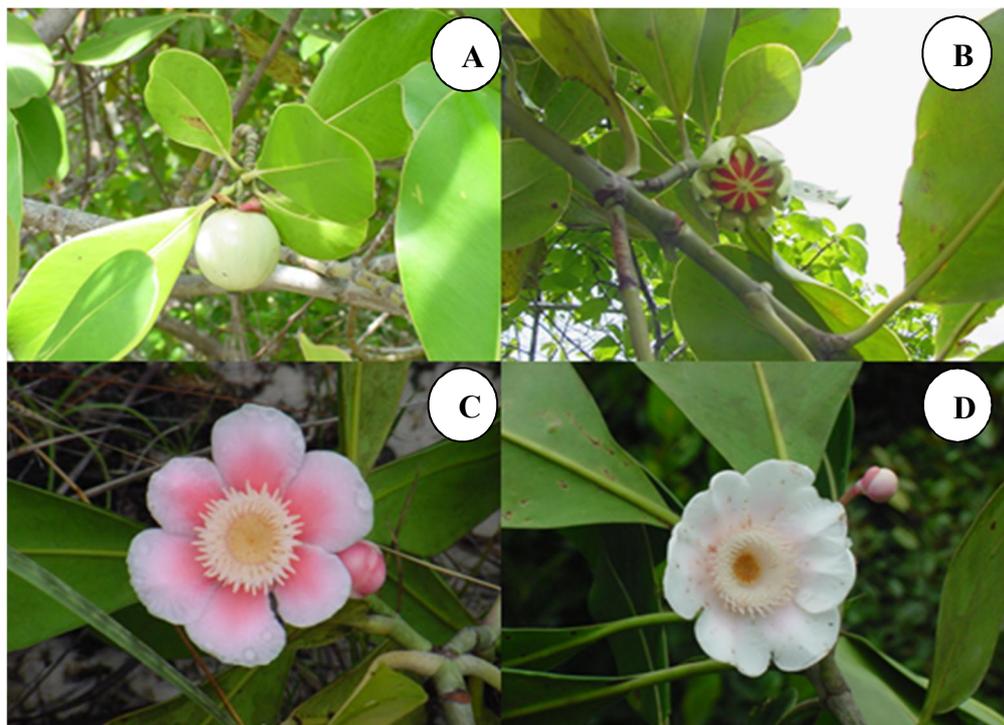


Figura 2. *Clusia grandiflora*: fruto fechado tipo uma cebola e detalhe dos nós e entrenós dos ramos (A), fruto em processo de abertura natural (B), flor aberta, estaminada, 6 pétalas de coloração rosa (C), flor aberta, estaminada, 8 pétalas de tonalidade branca a rosa clara (D).

OBJETIVOS E HIPÓTESES

Com o objetivo de identificar algumas das estratégias de adaptação da espécie experimentada foram desenvolvidos estudos das alterações ecofisiológicas, crescimento e bioquímica de plantas de 1 ano de idade, sob condições de alagamento controlado. Considerando que o alagamento é um período crítico para as árvores aceita-se como hipótese que plantas jovens de *C. grandiflora* apresentam diferentes estratégias de crescimento, de biomassa, fisiológicas, bioquímicas morfológicas e anatômicas, para tolerar ambientes submetidos às condições de alagamento.

Espera-se indicar a utilização a *C. grandiflora* no reflorestamento de áreas degradadas principalmente da Amazônia, na preservação e equilíbrio da biodiversidade, dos sistemas hidrológicos, e contribuir para a qualidade da vida, e sustento sócio-econômico do homem.

Questões respondidas ao final dos experimentos:

- Plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* são tolerantes ao alagamento?
- O crescimento de plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* são afetado pelo alagamento?
- A biomassa de plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* são afetadas pelo alagamento?
- Plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* desenvolvem mecanismos fisiológicos, bioquímicos ou morfo-anatômicos, que permitam tolerar as condições de alagamento?

ORGANIZAÇÃO DA TESE EM CAPÍTULOS

O trabalho experimental consistiu em submeter plantas de 1 ano de idade de *Clusia Grandiflora* Splitz. á dois regimes hídricos: controle (irrigado) e alagamento (ao nível das raízes), sob cinco tempos de avaliações contínuas, aos: 0,7,14, 21 e 28 dias, sendo aferidas cinco repetições de cada regime hídrico, perfazendo 50 unidades experimentais. A tese está dividida em três capítulos: No primeiro intitulado de “CONTEXTUALIZAÇÃO” foi feita a contextualização de experimentos já realizados, assim, abordando de maneira geral uma revisão de literatura sobre os efeitos provocados pelo estresse ao alagamento em algumas árvores já experimentadas, onde foi dada ênfase nas respostas que se relacionam com as variáveis avaliadas no presente trabalho. No segundo capítulo intitulado “ECOFISIOLOGIA, BIOMETRIA E PRODUÇÃO DE BIOMASSA EM *Clusia grandiflora* Splitz.

SUBMETIDAS A ANOXIA”, foram investigadas e correlacionadas características de crescimento: altura do caule (HC), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), variáveis ambientais, temperatura do ar (Tar), umidade relativa (UR), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), Temperatura máxima do ar (Tmax), Temperatura da folha (Tfol), déficit de pressão de vapor folha-ar (DPV_{f-a}), acúmulo de biomassa: massa seca das folhas/MSF, massa seca do caule/MSC, massa seca total – MST, taxa de crescimento relativo (TCR) para cada parte da planta e para a planta como um todo e variáveis biofísicas: potencial hídrico foliar (Ψ_{am}), e do xilema (Ψ_x), conteúdo relativo de água (CRA), taxa de assimilação de carbono (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), resistência estomática (Rs) e condutividade hidráulica (K_L). No terceiro capítulo intitulado "METABOLISMO DO CARBONO E NITROGÊNIO DE *CLUSIA GRANDIFLORA* SPLITZ. SUBMETIDAS Á ANOXIA", foram avaliadas as respostas bioquímicas pelas determinações de concentrações de nitrato (CN), atividade da redutase do nitrato (RN), concentrações de Amônio livre (CAL), glutamina sintetase (GS), aminoácidos solúveis totais (AST), proteínas solúveis totais (PST), prolina (PRO), glicina betaína (GB), álcool Desidrogenase (ADH), lactato Desidrogenase (LDH), concentração de Amido (CA), concentração de sacarose (SA), e carboidratos solúveis totais (CST), nas folhas e nas raízes das plantas, correlacionando-as entre si e com as variáveis, potencial hídrico do xilema antemanhã (ψ_{am}), potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x), Conteúdo Relativo de água (CRA), condutividade Hidráulica (K_L), condutância estomática (gs) e transpiração (E).

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%, sendo os gráficos elaborados pelo programa Sigma Plot 12.5.

RESPOSTAS GERAIS OBSERVADAS

Muitos autores concluíram que em condições de alagamento, como estratégia de sobrevivência a esse estresse, algumas plantas reduzem o crescimento das raízes e parte aérea, desenvolvem captação alternativa de oxigênio, produzem ajustamentos osmóticos e fechamento de estômatos, por outro lado, há também registros de plantas que não lograram pleno êxito de sobrevivência a essa condição de estresse. Em *C. grandiflora* foram observados os seguintes sintomas de estresse ao alagamento: maior incidência de abscisão das folhas, redução geral do crescimento do sistema radicular, da altura do caule e da área foliar, redução

geral de biomassa, formação das lenticelas hipertróficas, rachaduras caulinares e formação de raízes adventícias ao longo de todo o experimento (2º capítulo / Figura 1: A, B e C).

Após sete dias de indução ao alagamento começaram a aparecer nas plantas alagadas, as primeiras respostas a esse estresse, como redução do número de folhas, altura do caule, comprimento de raízes e área foliar, e diâmetro do caule em menor intensidade, inversamente, ocorreu um aumento de comprimento de raízes adventícias, diâmetro das raízes adventícias e formação de lenticelas hipertróficas e rachaduras caulinares especificamente nas alagadas, todavia não foram registradas diferenças significativas nos diâmetros dos coletores entre os dois tratamentos, que pode ser explicada pela formação de lenticelas hipertróficas que promovem expansão da base do coletor. A formação de raízes adventícias demonstra ser uma característica da espécie, que ocorreu tanto nas alagadas quanto nas controladas desde o início até o final do experimento. A abscisão foliar ocorreu nas plantas alagadas a partir de 21 dias, em frequência superior à das plantas controle, todavia em intensidade muito baixa.

Aos 14, 21 e 28 dias as plantas continuaram a evidenciar de modo mais significativo os mesmos sintomas registrados nos primeiros 7 dias de estresse, como redução do número de folhas, altura do caule, diâmetro do caule, comprimento de raízes e área foliar, todavia, foi mantido nas alagadas o aumento contínuo de comprimento de raízes adventícias, diâmetro das raízes adventícias, formação de lenticelas hipertróficas e rachaduras caulinares, não sendo registrada ao final do experimento diferença significativa nos diâmetros dos caules dos dois tratamentos, que pode ser explicado pela formação de lenticelas hipertróficas, alteração anatômica que promove a expansão da base do coletor.

Até aos 7 dias de estresse não houve diferença significativa entre a massa seca das raízes nos dois tratamentos, houve ligeiro aumento da massa seca das raízes das alagadas aos 14 dias, e decréscimo nas avaliações seguintes, aos 21 e 28 dias. A massa seca do caule apresentou aumento contínuo de valores das plantas controle em relação a todas as medições comparadas com as alagadas, todavia a massa seca do caule das alagadas, não estagnou, e registrou aumento contínuo de valores entre si, em menor escala que as plantas controle, em todos os períodos experimentais estressados. A massa seca das folhas das plantas estressadas apresentou valores menores que as plantas controle nos 7, 14 e 21 dias, todavia registrou-se uma retomada do crescimento aos 21 e 28 dias, praticamente igualando-se no último dia experimental, os valores apresentados pelas plantas controle e alagadas foram respectivamente

C: 22,704 g e A: 22,336 g. A massa seca total das plantas alagadas apresentou valores menores em todas as medições, quando comparadas com as plantas controle, todavia, as massas secas total das alagadas, quando comparadas entre si apresentaram sempre um valor crescente em relação aos períodos experimentais.

Nas plantas alagadas, as raízes adventícias parecem explicar a variação da biomassa entre os períodos experimentais (Figura 1: A e B / Capítulo 1), acompanhada da queda mais acentuada das folhas por abscisão, a morte e/ou a redução do crescimento das raízes (Figura 1:C / Capítulo 1), que podem explicar a diminuição da biomassa seca em relação ao controle. As variáveis ambientais não demonstraram não ter exercido influência significativa nas plantas estressadas (Figura 2 / Capítulo 1). No alagamento houve continua redução do potencial hídrico (Figura 3: A e B / Capítulo 1), Conteúdo relativo de água (Figura 3: C, Capítulo 1), condutividade hidráulica (Figura 3: D; Capítulo 1), Resistencia estomática (Figura 4: A Capítulo 1), Fotossíntese (Figura 4: B, Capítulo 1), condutância estomática (Figura 4: C; Capítulo 1), e transpiração (Figura 4: D; Capítulo 1).

A redução do sistema de raízes do solo de *C. grandiflora* deve ter contribuído para menor distribuição de água e de energia, causando alterações bioquímicas como a menor absorção de nitrato, que deve ter afetado o metabolismo do nitrogênio, ocasionando a redução do nitrato redutase na raiz (Figura 2: D / Capítulo 2), amônio livre (Figura 3: A e B / Capítulo 2), glutamina sintetase (Figura 3: C e D / Capítulo 2), proteínas solúveis totais (Figura 4: C e D) e concentrações de amido das folhas (Figura 7: A / Capítulo 2), todavia a regulação das atividades bioquímicas e regulação osmótica foram compensadas pelo aumento de aminoácidos solúveis totais (Figura 4: A e B), prolina e giberlina (Figura 5: A e B, C e D / Capítulo 2), atividade da álcool desidrogenase e da lactato desidrogenase (Figura 6: A e B, C e D / Capítulo 2) e das concentrações de amido na raiz, sacarose e carboidratos solúveis totais (Figura 7: B, C e D, e E e F / Capítulo 2). A redução nas variáveis fisiológicas devem ter provocado alterações no aparato fotossintético, resultando na redução ou crescimento dos teores bioquímicos das plantas estressadas. O aumento dos aminoácidos solúveis totais, prolina e glicina betaína, atividades da álcool desidrogenase, lactato desidrogenase, sacarose e carboidratos solúveis totais são alterações bioquímicas, que podem estar relacionadas com as alterações morfofisiológicas e de crescimento de *C. grandiflora*.

Como o alagamento reduz a disponibilidade de oxigênio no solo, a formação das raízes adventícias, as lenticelas hipertróficas e as rachaduras caulinares demonstram terem sido importantes na captação e difusão de oxigênio da parte aérea para as raízes, possibilitando maior aeração dos tecidos da raiz, além de ter contribuído positivamente na fisiologia da planta, proporcionando um eficaz ajustamento no potencial hídrico, fotossíntese, condutância estomática, transpiração e condutividade hidráulica, permitindo a sobrevivência das plantas.

Todas as plantas de *C. grandiflora* submetidas ao alagamento sobreviveram até o final do experimento de 28 dias, cuja tolerância pode ser explicada pela formação das raízes adventícias, lenticelas hipertróficas, e de um eficiente balanço osmótico.

REFERÊNCIAS

- ALLÈGRE, A.; SILVESTRE, J.; MORARD, P.; KALLERHOFF, J.; PINELLI, E. Nitrate reductase regulation in tomato roots by exogenous nitrate: a possible role in tolerance to long-term root anoxia. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 408, p. 2625–2634, 2004.
- ALVES, G. A. R.; SANTOS FILHO, B. G. DOS.; LOBATO, A. K. DA SILVA. YUEN TAN, D. K.; OLIVEIRA NETO, C. F. DE.; COSTA, R. C. L. DA.; ÁVILA F. W.; MARQUES, D. JOSÉ.; GALATE, R. DOS SANTOS. Water relations, nitrogen compounds and enzyme activities in leaf and root of young Yellow Lapacho (*Tabebuia serratifolia*) plants subjected to flooding. **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 3, p. 216-222, 2012.
- ARRUDA, G. M. T.; CALBO, M. E. R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore). **Acta Botanica Brasilica**. [online], v.18, n.2, p. 219-224, 2004.
- ASHTON, P.M.S., BERLYN, G.P., 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. **New Phytologist**. v. 121, p. 587-596.
- BAILEY-SERRES J.; VOESENEK L.A.C.J. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 313–339, 2008.
- BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; MEDRI, E. B.; PIMENTA, C, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta botanica Brasilica**, v. 22, n. 91-98, p. 2008.
- BERTOLDE, F.Z. ALMEIDA, A.-A.F. PIROVANI, GOMES, C.P. F.P. AHNERT, D. BALIGAR, V.C. VALLE, R.R. Physiological and biochemical responses of *Theobroma cacao* L. genotypes to flooding. **Photosynthetica**, v.50, n. 3, p. 447-457, 2012.

- BRADFORD, K.J. & YANG, S.F. 1981. Physiological responses of plants to waterlogging. **HortScience**, 16:25-30.
- CARVALHO, F. A.; NASCIMENTO, M. T.; BRAGA, J. M. A. Composição e riqueza florística do componente arbóreo da Floresta Atlântica submontana na região de Imbaú, Município de Silva Jardim, RJ. **Acta Botanica Brasilica** 20(3):727-740, 2006.
- CARVALHO, F. A.; NASCIMENTO, M. T.; FILHO, A. T. O. Composição, riqueza e heterogeneidade da flora arbórea da bacia do rio São João, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 22(4):929-940, 2008
- CHRISTO, A. G.; GUEDES-BRUNI, R.; SOBRINHO, F. A. P.; SILVA, A. G.; PEIXOTO, A. L. Structure of the shrub-arboreal component of an atlantic forest fragment on a hillock in the central lowland of Rio de Janeiro, Brazil. **Interciencia**. 34(4):232-239, 2009
- COSTA, A. M.; GOBBI, E. L.; DEMUNER, V. G.; HEBLING, S. A. O efeito da inundação do solo sobre o crescimento inicial de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, guapuruvu. *Natureza On Line*, v.4, n.1, p.7-13, 2006. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>. Acesso em: 20 de março de 2015.
- DAT, J. F., FOLZER, N. C. H., BOURGEADE, P., BADOT, P. M. Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, 42: 273–282, 2004.
- DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v. 82, p. 47- 85, 2002.
- DREW, M. C. Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and Acclimation Under Hypoxia and Anoxia. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 223-250, 1997.
- FERREIRA, C. S.; PIEDADE, M. T. F.; FRANCO, A. C.; GONÇALVES, J.F.C.; JUNK W. J. Adaptive strategies to tolerate prolonged flooding in seedlings of floodplain and upland populations of *Himatanthus sucuba*, a Central Amazon tree. **Aquatic Botany** v. 90, n. 3, p. 246-252, 2009.
- FUKAO, T. & BAILEY-SERRES, J. 2004. Plant responses to hypoxia. Is survival a balancing act? Survival and anaerobic catabolism. **Functional Plant Biology** 30:1-47.
- GHANBARY, E.; TABARI, M.; GONZÁLEZ, E.; ZARAFSHAR, M. Morphophysiological responses of *Alnus subcordata* (L.) seedlings to permanent flooding and partial submersion. **International Journal of environmental sciences**, v. 2, n. 3, 2012.
- GIMENO, V.; SYVERTSEN, J P.; SIMÓN, S. I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47–55, 2012.
- HE, C.J., MORGAN, P.W. & DREW, M.C. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. **Plant Physiology** 112:463-472, 1996.

HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; GOULART, P. F. P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E. M. de. Physiological and anatomical characteristics of Sibipiruna plants under hypoxia. **Ciência Rural** [online]. v.40, n.1, p. 70-76, 2010.

HERRERA, A.; TEZARA, W.; MARIN, O.; RENGIFO, E. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis in trees of a tropical seasonally flooded forest. **Physiologia Plantarum**, v. 134, p. 41-48, 2008.

HOFFMAN, N.E.; HANSON, A.D. Purification and properties of hypoxically induced lactate dehydrogenase from barley roots. **Plant Physiology**, v.82, n.3, p.664-670, 1986.

HORCHANI, F.; ASCHI-SMITI, S. Prolonged root hypoxia effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n.12, p. 1583-1589, 2010.

HSU, Y.; TSENG, M.; LIN, C. The fluctuation of carbohydrates and nitrogen compounds in flooded was-apple trees. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 40, p. 193-198, 1999.

ISLAM, M. A.; MACDONALD, S. E. Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. **Trees**, v. 18, p.35-42, 2004.

JALEEL, CA.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; PANNEERSELVAM, R. Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. **Comptes Rendus Biologies**. v. 330, n. 9, p. 674-83, 2007.

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

JOLY, C.A. The role of oxygen diffusion to the root system on flooding tolerance of tropical trees. **Revista Brasileira de Biologia** 56:375-382. 1996

KLICH, M.G., 2000. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 44, p. 171-183.

KOGAWARA, S.; YAMANOSHITA, T.; NORISADA, M.; MASUMORI, M.; KOJIMA, K. Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. **Tree Physiology**, v. 26, p.1413-1423, 2006.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, n. 1, p. 1-29, 1997.

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. Stomatal response of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings during and after flooding. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 46, n. 2, p. 155-158, 1979.

- KREUZWIESER, J.; PAPADOPOULOU, E.; RENNENBERG, H. Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. **Plant Biology**, New York, v. 6, p. 299-306, 2004.
- LEMOS-FILHO, J. P. Photoinhibition in three “cerrado” species (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* and *Campomanesia adamantium*), in the dry and rainy seasons. **Revista Brasileira de Botânica** 23(1):45-50, 2000.
- LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, v.25, p.148-157, 2001.
- MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral, Editora UFV. Viçosa, MG. 451pp., 2005.
- MARTINEZ, G. B.; MOURÃO, M.; BRIENZA JUNIOR, S. Respostas Morfofisiológicas de Plantas de açacu (*Hura crepitans* L.) provenientes de várzeas do rio Amazonas: Efeito da anóxia do solo. *Revista Árvore*, v.35, n.6, p.1155-1164, 2011.
- MEDRI, C.; PIMENTA, J. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN S.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E. O alagamento do solo afeta a sobrevivência, o crescimento e o metabolismo de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? Soil flooding affects the survival, growth and metabolism of *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 33, n. 1, p. 123-134, 2012.
- MERCHANT, A.; PEUKE, A. D.; KEITEL, C.; MACFARLANE, C.; WARREN, C. R.; ADAMS, M. A. Phloem sap and leaf $\delta^{13}C$, carbohydrates, and amino acid concentrations in *Eucalyptus globulus* change systematically according to flooding and water deficit treatment. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 6, p. 1785–1793, 2010.
- MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.F.; GOMES, F.B.; AGUILAR, M.A.G.; MANGABEIRA, P.A.O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 221-231, 2003.
- MIELKE, M.S.; MATOS, E. M.; COUTO, V. B.; ALMEIDA, A. F. GOMES, F. P.; MANGABEIRA, P. A. O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding. **Acta botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, p. 905-911, 2005.
- MIRANDA, L. A. P.; VITÓRIA, A. P.; FUNCH, L. S. Leaf phenology and water potential of five arboreal species in gallery and montane forests in the Chapada Diamantina; Bahia; Brazil. *Environmental and Experimental Botany* 70:143–150. 2011.
- MUNÔZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA. R. Genio y figura de la betaína aldehído Deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, v. 28, p. 203-223, 2004.
- MURCHIE, E.H.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, capacity and habitat preference. **Plant, Cell and Environment**, v. 20, p. 438-448, 1997.
- OLIVEIRA NETO, C.F. Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) submetidos à deficiência hídrica e ao alagamento. Belém, 2010. 93p. **Tese (Doutorado em Ciências Agrárias)**. Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

PAROLIN, P. Fugitive and possessive establishment strategies in Amazonian floodplain pioneers. **Flora**, London, v. 198, n. 6, p. 436-443, 2003.

PAROLIN, P. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 2, p. 359- 376, Jan. 2009.

PEIXOTO, G. L.; MARTINS, S. V.; SILVA, A. F.; SILVA, E. Floristic survey of the tree layer in an area of Atlantic Rainforest in Serra da Capoeira Grande Environmental Protection Area, Rio de Janeiro State, Brazil. **Acta Botânica Brasílica** 18(1):151-160. 2004.

PIEIDADE, M.T.F.; JUNK, W.W.; PAROLIN, P. 2000. The flood pulse and photosynthetic response of trees in a white water floodplain (várzea) of Central Amazon, Brazil. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 27: 1734-1739.

PISICCHIO, C. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; SERT, M. A.; DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, M. E. *Heliocarpus popayanensis* Kunth (Malvaceae) tolera a hipoxia do substrato? **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, v. 32, n. 2, p. 201-209, 2010.

POOLE, I.; WEYERS, J.D.B.; LAWSON, T.; RAVEN, J.A. Variation in stomatal density and index: implications for paleoclimatic reconstructions. **Plant, Cell and Environment**, v. 19, p.705-712, 1996.

PORTES, M. T.; ALVES, T. H.; SOUZA, G. M. Time-course of photosynthetic induction in four tropical woody species grown in contrasting irradiance habitats. **Photosynthetica** 46(3):431-440, 2008.

REICH, P. B; WRIGHT, I. J.; CAVENDER-BARES, J.; CRAINE, J. M.; OLEKSYN, J.; WESTOBY, M.; WALTERS, M. B. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. **International Journal of Plant Science** 164(3):143-164, 2003

RÔÇAS, G.; BARROS, C. F.; SCARANO, F. R. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rainforest. **Trees** 11:469-473, 1997

RODRIGUES, H. J. B.; COSTA, R. F. DA; RIBEIRO, J. B. M.; SOUZA FILHO, J. D. DA C.; RUIVO, M. L. P.; SILVA JUNIOR, J. A. Seasonal variability of the stomatal conductance in amazonian mangrove 33 ecosystem and their relationships with meteorological variables. **Revista Brasileira de Meteorologia** 26(2):189-196, 2011.

SATO, T; HARADA, T; ISHIZAWA, K. Stimulation of glycolysis in anaerobic elongation of pondweed (*Potamogeton distinctus*) turions. **Journal of Experimental Botany**. v. 53, p.1847–1856, 2002

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DEHMUKH, P. S.; SRIVASTAVA, G. C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, v.52, n. 3, p. 401-412, 2008.

SANTIAGO, E.F.; PAOLI, A.A.S. O aumento em superfície em *Adelia membranifolia* (Müll. Arg.) Pax e K. Hoffm. e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. em resposta ao estresse por

deficiência nutricional e alagamento do solo. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 14, p. 97-101, 2003.

SCATENA, V.L. & MENEZES, N.L. 1996. Anatomia de raízes de *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae). ***Revista Brasileira de Biologia*** 56:333-343.

SCHUTZ W., MILBERG P., LAMONT B.B. Seed dormancy, after-ripening and light requirements of four annual Asteraceae in south-western Australia. ***Annals of Botany*** 90, 707–714, 2002.

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

SILVA, W.S., 1993. Carbon and nitrogen assimilation in cacao (*Theobroma cacao* L.) leaves. Influences of environmental stimuli and abscisic acid. 246p. **Thesis (Doctor Science) – Faculty of Sciences. University of Bristol**, Bristol.

SILVA, E.C.; Nogueira, R.J.M.C.; Neto, A.D.A.; Brito, J.Z.; Cabral, E.L. 2004. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. *Iheringia, Série Botânica*, 59(2): 201-205.

SILVA-ORTEGA, C.O.; OCHOA-ALFARO, A.E.; REYES-AGUERO, J.A.; SANTA CRUZ, G.A.; JIMÉNEZ-BREMONT. J.F. Salt stress increases the expression of P5CS gene and induces proline accumulation in cactus pear. ***Plant Physiology and Biochemistry***, v. 46, p. 82-92, 2008.

SILVEIRA, Neidiquele Maria et al . Crescimento e partição de carboidratos em plantas de *sebastiania membranifolia* submetidas ao alagamento. ***CERNE***, Lavras , v. 21, n. 1, p. 67-74, Mar. 2015.

SWAINE, M. D.; WHITMORE, T. C. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. ***Vegetation*** 75:81-86, 1988.

TARDIEU, F. Growth and functioning of roots and of root systems subjected to soil compaction: towards a system with multiple signaling. ***Soil Tillage Research***, v. 30, p. 217-243, 1994.

TARDIEU, F.; SIMMONEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. ***Journal of Experimental Botany***, v. 49, p. 419-432, 1998.

TOBE, K.; ZHANG, L. & OMASA, K. Seed germination and seedling emergence of three *Artemisia* species (Asteraceae) inhabiting desert sand dunes in China. ***Seed Science Research*** 16: 61-69, 2006.

VISSER, E.J.W.; VOESENEK, L.A.C.J.; VARTAPETIAN, B.B.; JACKSON, M.B. 2003. Flooding and plant growth. ***Annals of Botany***, 91:107-109.

ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J.T.; FROEHLICH, A.; OLIVER, S.N.; FAIX, B.; GUPTA, K.J.; SCHMÄZLIN, E.; IGAL. M.; ORCARAY, L.; ROYUELA, M.; GEIGENBERGER, P. Regulation of respiration and fermentation to control the plant internal oxygen concentration. ***Plant Physiology***, v. 149, p.1087-1098, 2009.

WAMPLE, R.L. & REID, D.M. 1979. The role of endogenous auxins and ethylene in the formation of adventitious roots and hypocotyl hypertrophy in flooded sunflower plants (*Helianthus annuus* L.). **Plant Physiology** 45:219-226

WITTMANN, F., SCHÖNGART, J., BRITO, J. M., OLIVEIRA WITTMANN, A., PIEDADE, M. T. F., PAROLIN, P. (2010). **Manual of trees from Central Amazonian várzea floodplains: taxonomy, ecology and use**. Manaus: Editora INPA.

ZANANDREA, I.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; GOULART, P. F. P.; HENRIQUE, P. C.; SILVEIRA, N. M. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 57, n. 8, p. 661-669, Feb. 2010.

CAPÍTULO 2

ECOFISIOLOGIA, BIOMETRIA E PRODUÇÃO DE BIOMASSA EM *Clusia grandiflora* Splitz. SUBMETIDAS A ANOXIA.

RESUMO

Visando elucidar aspectos da tolerância à anoxia de *Clusia grandiflora* Splitz. plantas de 1 ano de idade foram submetidas a 28 dias de inundação das raízes, sob dois tratamentos, controle (C) e inundação (A), aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Foram investigadas características de crescimento: altura do coleto (HC), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), variáveis ambientais: temperatura do ar (Tar), temperatura máxima do ar (Tmax), umidade relativa (UR), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), déficit de pressão de vapor folha-ar (DPV_{f-a}), acúmulo de biomassa: massa seca de raiz (MSR), massa seca do caule (MSC), massa seca das folhas (MSF), massa seca total (MST), variáveis biofísicas: potencial hídrico do antemanhã (Ψ_{am}), e do xilema foliar (Ψ_x), conteúdo relativo de água (CRA), taxa de assimilação de carbono (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), resistência estomática (R_s), temperatura foliar (T_{fol}) e condutividade hidráulica (K_L). Os tratamentos (A) apresentaram menores incrementos em todas as variáveis de crescimento, quando comparados ao tratamento controle, a biomassas das raízes declinou nos dias 7 e 14, quando o inverso ocorreu nas alagadas, ao final do experimento registrou-se menor incremento de biomassa das plantas alagadas, em comparação com as plantas controle. Houve redução contínua de Ψ_{am} , Ψ_x , CRA, K_L , A, gs, DPV_{f-a} e E em todos os tratamentos (A). Ao final do experimento todos os tratamentos apresentaram 100% de sobrevivência, todavia, as plantas estressadas apresentaram taxas de crescimento e crescimento inferiores que as controladas. Os resultados obtidos indicam que o fechamento estomático, a perda de folhas, o ganho de biomassa na raiz, a formação de raízes adventícias, formação de raízes superficiais, rachaduras caulinares e lenticelas hipertróficas podem ser estratégias para atenuar o efeito prejudicial do alagamento. As taxas de sobrevivência sugerem que *C. grandiflora* exibe alto potencial para reflorestamento em ambientes alagados.

Palavras-chave: Tolerância ao alagamento, assimilação de carbono, radiação fotossinteticamente ativa, condutância estomática.

ABSTRACT

To elucidate aspects of anoxia tolerance of *Clusia grandiflora* Splitz. 1 year old plants were subjected to 28 days of flooding of the roots under two treatments: control (C) and flooding (A), at 0, 7, 14, 21 and 28 days. Growth characteristics were investigated: height collect (HC), stem diameter (DC), number of leaves (NF), leaf area (LA), environmental factors: air temperature (T_{ar}), maximum air temperature (T_{max}), relative humidity (RH), photosynthetically active radiation (PAR), vapor pressure Deficit leaf-air (DPVf-a), biomass accumulation: root dry weight (MSR), dry mass of the stem (MSC), dry matter leaves (MSF), total dry matter (MST), biophysical variables: the predawn water potential (Ψ_{am}), and leaf xylem (Ψ_x), relative water content (CRA), carbon assimilation rate (A), conductance stomatal (gs), transpiration (E), stomatal resistance (Rs), leaf temperature (T_{fol}) and hydraulic conductivity (KL). The treatments (A) had lower increases in all growth variables when compared to the control treatment, the biomass of roots declined on 7 and 14 when the opposite occurred in the flooded at the end of the experiment was recorded minor increase of biomass of wetland plants compared to control plants. There was a reduction continues to Ψ_{am} , Ψ_x , CRA, KL, A, gs, DPVf it and E in all treatments (A). At the end of the experiment all treatments showed 100% survival, however, the stressed plants showed lower growth rates and growth subsidiaries. The results indicate that stomatal closure, the loss of leaves, biomass gain in the root, the formation of adventitious roots, forming shallow roots, stem cracking and hypertrophic lenticels can be strategies to mitigate the harmful effects of flooding. Survival rates suggest that *C. grandiflora* shows high potential for reforestation in flooded environments.

Keywords: tolerance to flooding, carbon assimilation, photosynthetically active radiation, stomatal conductance.

INTRODUÇÃO

Muitas regiões da floresta amazônica se destacam por alterações sazonais da disponibilidade de água do solo, nesse particular as áreas quando secas ou inundadas desempenham papel importante na dinâmica ambiental dos ecossistemas, que irá repercutir no desempenho, disponibilidade e qualidade da flora e fauna, todavia, além da água, outros fatores são relevantes quando se avaliam variações sazonais como a temperatura (LEMOS-FILHO, 2000), umidade (MIRANDA et al., 2011) e a disponibilidade de luz. O alagamento do solo exerce profundo efeito nos organismos que nele habitam, especialmente nas plantas, por serem sésseis (PIEIDADE et al., 2000), elimina os espaços ocupados pelo ar, limitando as trocas gasosas com a atmosfera podendo criar no solo um ambiente de baixa disponibilidade, ou ausência de O₂. Como respostas fisiológicas ao alagamento, as plantas tendem a mobilizar reservas para suprir a demanda de carbono necessário para a manutenção do metabolismo, diminuição geral do potencial de crescimento e formação de estruturas anatômicas adaptativas, cujos resultados serão influenciados pelas interações nas condições ambientes de CO₂ e temperatura. Face à diminuição do oxigênio endógeno as plantas alteram sua arquitetura, anatomia, metabolismo e crescimento, como estratégia de sobrevivência (BAILEY-SERRES & VOESENEK, 2008), e várias reações metabólicas podem ocorrer como sinais à diminuição da concentração de oxigênio e por um aumento de etileno.

Características morfo-funcionais como massa foliar específica (MFE) e densidade foliar têm se mostrado relacionadas à disponibilidade de recursos, assim ocorre com plantas em ambientes mais pobres que investem mais carbono em suas folhas, mantendo-as por mais tempo (REICH et al., 2003; HOFFMAN et al., 2005). Segundo Marengo & Lopes, (2005) a intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO₂, o teor de nitrogênio da folha e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais. Portes et al. (2008) observaram que a estratégia ecológica das espécies está relacionada à plasticidade fenotípica e a condição de aclimação fotossintética sob uma nova condição do ambiente permitindo que as plantas transitem entre estados fisiológicos distintos. Murchie e Horton, (1997) destacam que o aparato fotossintético é altamente sensível às alterações na quantidade e qualidade da RFA, para Ashton e Berlyn (1992); Poole et al., (1996); Roças et al., (1997); e Klich, (2000) os estômatos de folhas intactas normalmente se abrem em resposta ao aumento de RFA, porém para Burrows e Milthorpe (1976) a temperatura do ar também influencia as

respostas estomáticas. Tardieu, (1994); Tardieu e Simmoneau, (1998) relatam que a abertura estomática relaciona-se com três importantes variáveis fisiológicas: i) metabólitos fotossintéticos; ii) hormônios ou reguladores de crescimento, especialmente o ácido abscísico (ABA); e iii) balanço hídrico. Para Silva (1993) elevada temperatura, juntamente com a umidade relativa do ar interferem no potencial hídrico do ar em torno da folha, atuando no DPV, por outro lado, Rodrigues *et al.* (2011) observaram que o DPV influenciou significativamente na condutância estomática de plantas de um manguezal amazônico, mostrando que não somente a água presente no solo influencia as plantas de um ambiente.

As plantas que toleram inundações periódicas necessitam readaptar seu metabolismo e ciclo de vida modificando a via respiratória de forma a suportar as alterações entre condições aeróbicas e hipóxicas ou até mesmo anóxicas, impostas pelo alagamento (KOZLOWSKI, 1997; LIAO, LIN, 2002, DAT *et al.*, 2004), sofrem queda imediata na respiração das raízes, tanto em plantas tolerantes como nas intolerantes, provocando inibição da atividade metabólica e, conseqüentemente redução na produção de ATP (LIAO; LIN, 2002), que armazena energia proveniente da respiração celular e da fotossíntese, para consumo imediato como transporte ativo de moléculas, síntese de substâncias e divisão celular, essa energia pode ser estocada na forma de carboidratos e lipídios. A redução da respiração inibe a produção de ATP e da atividade metabólica restringindo o fornecimento de energia para o crescimento das raízes, e o crescimento vegetativo (BATISTA *et al.*, 2008), a queda de respiração e na baixa produção de ATP é compensada pela aceleração da glicólise, afim de satisfazer as exigências energéticas para manter o metabolismo vegetal (PISICCHIO *et al.*, 2010).

Para muitos autores, a disponibilidade hídrica é um dos principais fatores que regula o crescimento e a sobrevivência de plântulas (TOBE, ZHANG, OMASA, 2006), sendo que a quantidade desse recurso vai variar de acordo com a espécie, desempenhando papel importante no padrão de distribuição desses vegetais (SCHUTZ, MILBERG, LAMONT, 2002). Em ambientes sujeitos ao alagamento ainda que temporal, algumas espécies arbóreas, evidenciam alterações morfológicas e metabólicas para tolerarem a deficiência de oxigênio, como o declínio do potencial hídrico foliar, observado em *Jatropha curcas* L. (GIMENO *et al.*, 2012), em *T. serratifolia* (ALVES *et al.*, 2012). O fechamento estomático parcial ou total é relatado como uma das primeiras respostas da parte aérea, e pode promover a diminuição da transpiração (ZOLKOLOWSKI; PALLARDARY, 2004; HERRERA *et al.*, 2008), contribuem também, a expansão foliar, senescência, indução de abscisão foliar, diminuição nas trocas

gasosas, ativação do metabolismo anaeróbico, redução do acúmulo de biomassa da raiz, folhas e hastes; hipertrofia de lenticelas e caules, formação de raízes adventícias, aerênquimas e pneumatóforos (MIELKE et al., 2003, 2005; PAROLIN, 2003, 2009; BATISTA et al., 2008; OLIVEIRA; JOLY, 2010; MARTINEZ et al., 2011; GHANBARY et al., 2012; ZANANDREA et al., 2010).

O ambiente hipóxico ou anóxico induzem que as plantas respondam com maior ou menor eficiência á baixa disponibilidade de O₂ (ARMSTRONG, 1994), em função de características próprias, algumas espécies demonstraram ter relativa tolerância ao alagamento como, *Copernicia prunifera* (ARRUDA, 2004), *Cecropia pachystachya* (BATISTA et al., 2008), *Hymenaea courbaril* L. (OLIVEIRA NETO, 2010), *Hura crepitans* L. (MARTINEZ et al., 2011), *Sebastiania membranifolia* (SILVEIRA et al, 2015), outras tiveram seu crescimento ou até mesmo sua sobrevivência comprometida quando alagadas, *Schizolobium parahyba* (COSTA et al., 2006), *Aegiphila sellowiana* (MEDRI et al., 2012) e *Tabebuia serratifolia* (ALVES, 2012).

Clusia grandiflora Splitz, Clusiaceae de nome popular cebola brava, é uma espécie do tipo heliófita, semidecídua, árvore lactescente, podendo alcançar 8 m de altura, flores petaladas vistosas, frutos globulares com numerosas sementes elipsoides, média de 122/fruto, apresentando dispersão barocórica e zoocórica. Apresenta ocorrência na bacia amazônica predominantemente em áreas de restinga, cujo solo é rico em areia e pobre em nutrientes, sendo facilmente encontrada na terra firme, nas dunas ou habitando em pequenas áreas alagadas, com duração permanente ou por cerca de seis meses. A espécie desperta grande interesse no paisagismo, recuperação de áreas degradadas, propriedades medicinais, produção de biomassa, e pelo valor fitoterápico atribuído a seu látex (VAN DEN BERG, 1984). A espécie apresenta características das plantas pioneiras, tolerante a ambientes mais hostis com suas sementes germinando em áreas abertas e clareiras (SWAINE E WHITMORE, 1988), que crescem em grandes clareiras, bordas de fragmentos florestais e que são capazes de germinar e de se estabelecerem em áreas abertas e perturbadas, tolerando inclusive um ambiente mais hostil com alta irradiância, alta temperatura, baixa umidade do ar e do solo (CHRISTO ET AL. , 2009, CARVALHO ET AL. 2008, 2006, E PEIXOTO ET AL. , 2004).

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo e instalação do experimento

O experimento foi conduzido no período de 03/03/2013 a 30/07/2014, inicialmente em casa de vegetação do horto de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental (48°26'45"W e 1°26'31"S), sob condições de campo, onde foi realizada a semeadura, emergência, e o envasamento das espécies em potes de 1,3 m³, após 4 meses foram transplantadas para vasos plásticos de 12 l, posteriormente foram levados para a casa de vegetação do Laboratório de Solos da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA (01° 28' 03"S, 48° 29' 18"W), para aclimação por 90 dias. As sementes foram coletados de 20 frutos, que apresentaram média de 121 sementes/fruto, oriundos de 10 de árvores de *C. grandiflora* situadas ao acaso, na restinga do Crispim (00°37'06" a 00°34'42"S e 47°40'24" a 47°38'00" W), localizada próximo da praia do Crispim, município de Marapanim, distante 86 km de Belém capital do Pará, Amazônia, Brasil.

As sementes foram lavadas em água corrente, em seguida submetidas á tratamento fungicida por imersão em NaClO por 2 minutos, em seguida lavadas em água corrente e semeadas em bandejas com tubetes de polietileno de 40 mm x 140 mm, submetidas a 4 substratos, casca de castanha do Brasil triturada (CCPT), areia lavada (AL) esterilizada com água á 100 ° C, caroço de açaí triturado (CAT), e terra preta (TP) peneirada, com delineamento experimental de 1 x 4 x 100 (1 espécie x 4 substratos x 100 sementes) sendo mantido em condições de casa de vegetação durante todo o seu desenvolvimento, com irrigações diárias e temperatura e umidade relativa do ar em média respectivamente de 30,83 ± 2 °C e 77,79 ± 4 %.

Após a aclimação as plantas foram submetidas a dois tratamentos hídricos: 1) Controle (C), irrigadas diariamente mantendo o substrato próximo a capacidade de campo, e 2) alagadas (A), com manutenção de lâmina d'água de cerca de 5 cm acima do nível do substrato, os baldes das plantas foram instaladas individualmente sobre baldes vedados, de maior capacidade e altura. Foram efetivadas 5 medições, aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, com cinco plantas por tratamentos, perfazendo 50 unidades experimentais. A água dos vasos sob alagamento foi trocada a cada medição, para evitar potenciais interferências, que viessem a modificar o efeito da disponibilidade de oxigênio, ou de promoverem alterações oxido

reduativas inerentes a presença dos solos alagados. Todos os vasos foram instalados ao acaso, com distância de 50 cm para evitar possíveis interações entre plantas.

Variáveis coletadas:

Ambientais: Temperatura (Tar), Temperatura máxima (Tmax), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (RFA) no interior da casa de vegetação através do uso do Termohigrômetro (MODELO 5203, Incoterm, Rs, Brasil) e déficit de pressão de vapor água entre folhas ar (DPV_{FA}) estimado de acordo com Landsberg (1986), levando-se em conta a Tar, UR e temperatura da folha (Tfol), em cada período de avaliação.

Biofísicas: Fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs), Resistência estomática (Rs) e temperatura da folha (Tfol) foram obtidas por meio do aparelho IRGA (Infra-red Gas Analyser/ADC equipments - mod. LCi 6400, Hoddesdon, UK) no horário de 09:00 – 10:00h, o potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) e potencial hídrico do xilema (Ψ_x) foram obtidos respectivamente, entre 4:30 e 5:30 h, e 09:00 h e 10:00 h por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co., Albany, USA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2007), como amostras foram avaliadas folhas maduras e completamente expandidos, do terceiro par contados a partir do ápice. A condutividade hidráulica foi calculada de acordo com Hubbard et al. (1999) e Donovan et al. (2000): $K_L = (gs \times DPV_{fa}) / (\Psi_{am} - \Psi_x)$, e o Conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado entre 04:00 e 05:00h em cada coleta. Foi utilizado o método segundo Slavick (1979): foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de 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 6-7 horas. Posteriormente os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70° C) por 24 h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula abaixo: $CRA = (MF1 - MS / MF2 - MS) \times 100 (\%)$, em que: MF1= Massa fresca 1; MF2= Massa fresca 2; MS= Massa seca.

De crescimento e biomassa: número de folhas (NF), altura do caule (HC) em cm; diâmetro do coleto (DC) em cm; área foliar (AF) em cm², utilizando-se planímetro e equação da elipse, sendo expressa em cm²; comprimento das raízes (CR) em cm, comprimento das raízes adventícias (CRa) em cm, diâmetro das raízes adventícias (DRa) em cm, área de lenticelas hipertróficas (ALh) em cm²; massa seca da raiz (MSR), massa seca do caule (MSC), massa seca das folhas (MSF) e massa seca total (MST), utilizando o método de diferença de peso após secagem em estufa a 65°C por 72 h, com valores expressos em gramas por planta.

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%, os gráficos foram elaborados pelo programa Sigma Plot 12.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alterações morfoanatômicas

As plantas controle e alagadas desenvolveram raízes adventícias mesmo antes do primeiro dia de avaliação, todavia, com maior intensidade nas alagadas, por outro lado, todas as plantas alagadas também desenvolveram uma proliferação de raízes secundárias, formação de lenticelas hipertróficas e rachaduras caulinares na base do caule, que se mostraram evidentes desde aos 7 dias de alagamento, a abscisão foliar foi mais evidente nas plantas estressadas, quando comparadas com as plantas controle (Fig. 1: A, B, C).

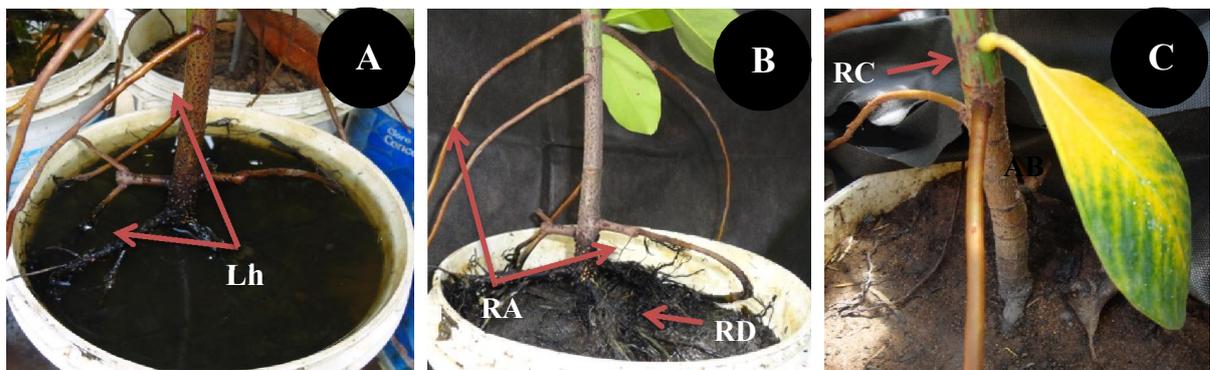


FIGURA 1- A: Formação de Lenticelas hipertróficas (Lh), B: raízes adventícias (RA), raízes diageotrópicas (RD), C: RC (rachadura caulinar) e folha em processo de abscisão foliar (AB) em plantas de *C. grandiflora* submetidas ao alagamento durante 28 dias.

Estudos já realizados evidenciam os resultados encontrados neste trabalho para *C. grandiflora*, onde demonstram que o alagamento do solo induz significativas alterações morfo-anatômicas nas raízes de algumas espécies de plantas, como intensa senescência e abscisão foliar em *B. papyrifera* após 60 dias de alagamento estudadas por Kozlowski (1984), hipertrofia de lenticelas (KOLB; JOLY, 2009; SHIMAMURA et al., 2010.), a produção de raízes adventícias (BATISTA et al., 2008; GREGÓRIO et al., 2008; KOLB; JOLY, 2009; OLIVEIRA; JOLY, 2010; EZIN et al., 2010), e a formação de aerênquima (BOURANIS et al., 2006, SAIRAM et al., 2008; GRAFFMAN et al., 2008; ASHRAF, 2012). Vartapetian & Jackson 1997 afirmam que funcionalmente as raízes adventícias substituem as raízes ocasionalmente mortas durante o alagamento, para Medina et al. (2009) essas modificações morfológicas representam estratégias que contribuem para a melhor aeração do sistema radicular. Do ponto de vista anatômico, as raízes adventícias diferem internamente das demais raízes por apresentarem uma maior proporção do córtex, redução do sistema de condução além de amplos espaços intercelulares e desenvolvimento de aerênquima (SANTIAGO & PAOLI, 2007). Martinez et al (2011) estudando *H. crepitans* constataram a partir do 10º dia de alagamento, o aparecimento de clorose, senescência foliar, formação de lenticelas hipertróficas, raízes adventícias na base do caule, e deslocamento de raízes para a superfície da lamina d'água, em outro estudo, Medri et al (2011) estudando *A. sellowiana* constataram que a espécie é intolerante ao alagamento do solo, entretanto, as sobreviventes apresentaram modificações morfoanatômicas que conferem tolerância, em outro experimento, alterações morfológicas como formação de lenticelas aos 15 dias de alagamento de raízes, e abscisão foliar a partir dos 30 dias foram observadas respectivamente em todas as plantas alagadas, e nas totalmente alagadas em *G. spruceana* por Gonçalves et al (2013), em *L. sericeus* alagada, Lira et al, (2013), encontraram aumento do diâmetro do colo, lenticelas hipertróficas e raízes adventícias e raízes adventícias. Essas características morfoanatômicas são encontradas nas plantas alagadas tolerantes, que promovem a difusão do oxigênio para o sistema radicular (COOK,1999, PIRES et al, 2002, VERPETTIANN, 2006), alinhando-se a esses resultados, os da espécie ora estudada.

Variáveis ambientais

As variáveis ambientais Tar, Tfol, Tmax, Ur, RFA e DPVfa variaram significativamente entre os diferentes dias do experimento, independente do tratamento (Figura 1: A, B, C, D, E, F). As curvas de Tar, Tfol e Tmax (figura 1: A, B, C) tiveram comportamentos de variações

semelhantes, com médias mínimas e máximas respectivamente de 30,64°C e 32,67°C, 31,09°C e 34,06 °C, e 32,32°C e 34,60°C respectivamente, as menores médias de Tar, Tfol e Tmax foram registradas aos 7 dias do experimento. A UR variou de 73,44 % aos 28 dias a 80,44% no primeiro dia do experimento (figura 1 D). A RFA variou de 311,11 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ a 459,94 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ respectivamente aos 28 e 21 dias (figura 1 G). Os valores do DPVfa variaram de 0,433 KPa a 0,547 KPa, apresentando os menores valores nos dias 7 e 14, coincidindo com os de menores valores de Tfol, Tar e Tmax. (Figura 2 F).

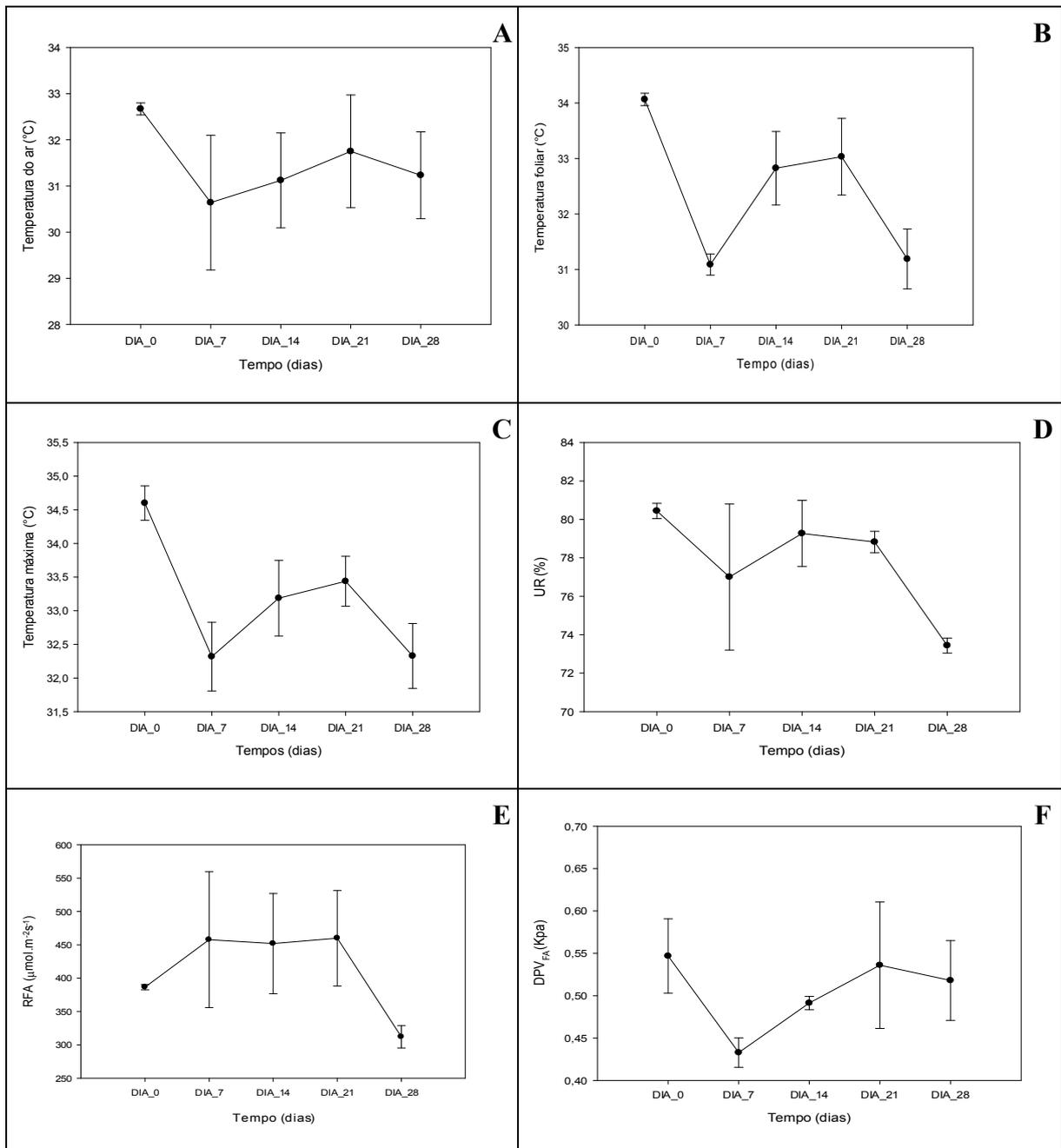


Figura 2. Temperatura do ar (Tar: A), temperatura da folha (Tfol: B), Temperatura máxima do ar (Tmax: C), Umidade Relativa do Ar (UR: D), Radiação Fotossinteticamente Ativa (RFA: E), Déficit de pressão de vapor entre folha e atmosfera (DPVfa: F) durante o período experimental. As barras verticais representam o desvio-padrão das médias.

Potencial hídrico do xilema antemanhã, Potencial hídrico do xilema foliar, Conteúdo Relativo de água, e Condutividade Hidráulica.

Na primeira avaliação (dia 0) não houve diferença significativa nos valores registrados entre as plantas controle e alagadas nas variáveis potencial hídrico do xilema antemanhã, potencial hídrico do xilema foliar, conteúdo relativo de água, e condutividade hidráulica. O potencial hídrico do antemanhã nas plantas controle e sob alagamento variou na amplitude, de -0,27 MPa a -0,40 MPa, registrando decréscimos contínuos nas plantas estressadas quando comparadas com as irrigadas, exibindo valores de 3,67%, 33,58%, 35,25% e 47,79% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 3: A). O potencial hídrico do xilema foliar variou de -0,82 Mpa (controle) a -1,85 Mpa (alagadas), registrando decréscimos contínuos nas plantas alagadas aos 7, 14, 21 e 28 dias, da ordem de 75,61%, 89,92%, 91,78% e 120,28 % (figura 3: B). O conteúdo relativo de água apresentou valores médios no controle de 91,07% e exibiram continuamente diminuição nas plantas alagadas em todos os dias do experimento, em relação ao controle, da ordem de 0,94%, 7,19%, 9,95%, e 10,29% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 3: C). A condutividade hidráulica apresentou nas plantas controle e alagadas os valores de $0,31 \text{ mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ e $0,01 \text{ mol.m}^2.\text{s}^{-1}$, respectivamente, exibiram decréscimo contínuo de valores nas plantas estressadas em relação ao tempo de alagamento, ao final do experimento foi registrado o decréscimo de 97,80% nas plantas alagadas quando comparadas ao controle (Figura 3: D).

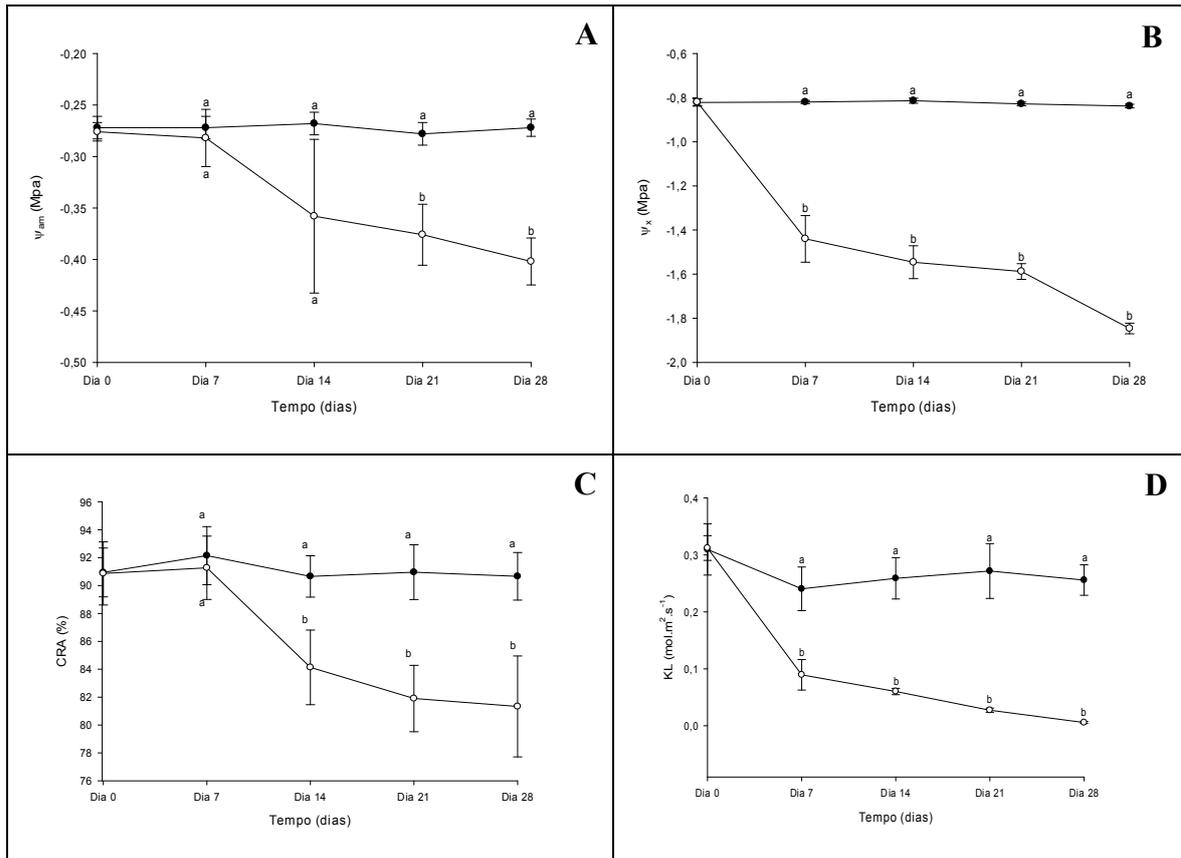


Figura 3. Potencial hídrico do antemanhã (ψ_{am} : A), Potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x : B), Conteúdo relativo de água (CRA: C) e Condutividade Hidráulica (K_L :D) de *C. grandiflora* submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$).

A redução do potencial hídrico do xilema foliar de *C. grandiflora* já tinha sido observado por Islam; MaC Donald, (2004) em *L. laricina*, Gilmeno et al., (2012) em *J. curcas* e Alves, et al., 2012 em *T. serratifolia*, que atribuem essa redução, provavelmente á diminuição da respiração aeróbia e conseqüentemente a queda de energia, redução na quantidade de pêlos e do sistema radicular (ALVES, et al., 2012 TAIZ; ZEIGER, 2013), o espessamento da membrana celular que aumentaria a resistência ao fluxo de água, e conseqüentemente na menor absorção de água pelas raízes (PRYOR, 2006). Em *C. gradiflora* a redução do potencial hídrico do xilema foliar foi constante nas plantas alagadas, que pode ser explicado pela redução do comprimento das raízes, todavia, essa tendência de redução não foi superada pelo surgimento das raízes adventícias, que também ocorreu nas plantas controle, ou o surgimento de lenticelas hipertróficas e rachaduras caulinares nas alagadas. O conteúdo relativo de água foi superior nas folhas das plantas controle quando comparado ao tratamento, que sugere estar relacionado com o fechamento dos estômatos, provocado por alterações metabólicas, esse resultado

concorda com Coelho et al (2013) em plantas plentas milho, porém difere do o encontrado por Freitas et al. (2007) em açazeiros sob alagamento.

Em *C. grandiflora* no regime alagado foi constatada a diminuição da condutividade hidráulica, que é relacionada por alguns autores com a redução da condutividade estomática, como observado em experimentos de alagamento em *P. mariana* e *L. laricina* (ISLAM E MACDONALD, 2004), cuja correlação está evidenciada na tabela 1. Calvo-Polanco et al. (2012) observaram ao final de 6 meses de alagamento em *L. laricina*, as taxas de E e de Ψ_x apresentaram valores semelhantes aos das plantas irrigadas, que lhes permitiu inferir que a retomada do suprimento adequado de água nas plantas alagadas ocorreu devido o aumento da condutividade hidráulica em função do surgimento das raízes adventícias.

Resistência estomática, Fotossíntese, Condutância estomática e Transpiração.

As variáveis, resistência estomática, fotossíntese, condutância estomática e transpiração apresentaram valores médios parecidos na primeira medição (dia 0) não diferindo significativamente nos tratamentos controle e alagado. A resistência estomática nas plantas controladas apresentou valor médio de $3,41 \text{ s.m}^{-1}$ e nas alagadas o valor médio de $9,74 \text{ s.m}^{-1}$, as plantas sob estresse apresentaram incremento de valores em todas as medições, apresentando percentuais de variação da ordem de 35,74%, 96,59%, 350,07% e 421,03% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 7: A). A fotossíntese apresentou valores médios de $8,40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas controles e uma variação de $8,53 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a $2,49 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ aos 7 e 28 dias do experimento, exibiu valores de fotossíntese sempre menores que as controle e em relação aos dias estressados, cujos decréscimos percentuais correspondem á 28,50%, 34,33%, 64,08% e 69,93% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 7: B). A condutância estomática demonstrou diferença significativa de valores em relação aos tempos e tratamentos, da ordem de $0,31 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a $0,28 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas controladas e $0,23 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a $0,02 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas alagadas, exibiu continua redução de valores no tratamento alagados, expressos percentualmente em 23,33%, 49,66%, 77,78% e 80,77% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 7: C). A transpiração exibiu valores médios da ordem de $7,58 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas controle e $4,89 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas alagadas, a transpiração apresentou valores médios continuamente decrescentes com o tempo de alagamento, exibindo valores percentuais de decréscimo da ordem de 16,41%, 25,66%,

43,51%, e 56,45% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias de alagamento (figura 7: D). As transpiratória apresentaram continuamente valores decrescentes com a evplução dos tempos, as menores taxas transpiratórias (Figura 4 D) foram observadas aos 21 e 28 dias, em comportamento totalmente independente das variáveis ambientais (Figura 2), o que permite indicar que a condutância estomática e consequentemente a transpiração não sofreram influência da UR, T_{fol} , T_{ar} , e DPV_{fa} .

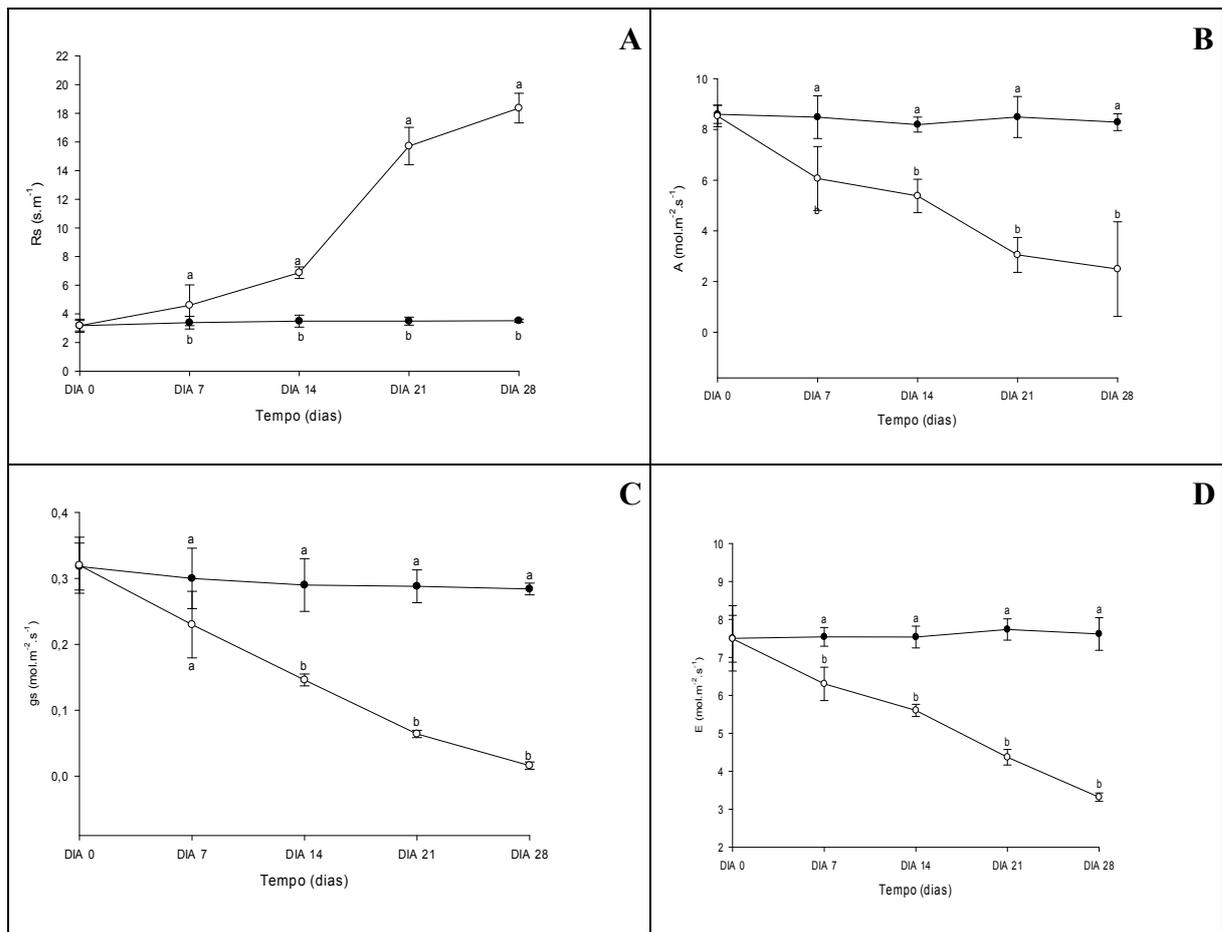


Figura 4. Resistência estomática (Rs: A), Fotossíntese (A:B), Condutância estomática (gs: C), Transpiração (D: E) de *C. grandiflora* submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

O alagamento pode provocar variações na respiração aeróbia, no nível nutricional e na fotossíntese, podendo afetar o crescimento e desenvolvimento das diferentes partes da planta em ambientes alagados, tornando a sobrevivência da planta dentre outras variáveis, dependente de um balanço na distribuição de fotoassimilados entre as suas várias partes (WIEDENROTH, 1993; ARMSTRONG; BRAENDLE; JACKSON, 1994). Alguns estudos

sobre plantas submetidas ao alagamento relatam respostas de redução da taxa fotossintética, condutância estomática e respiração, como em *B. gasipaes* (CARVALHO E ISHIDA, 2002), *G. americana* (MIELKE et al, 2003), *C. pachystachya* (BATISTA et al, 2008), *T. cacao* , BERTOLDE et al.. 2012) *L. sericeus* (LIRA et al, 2013) e *G. Spruceana* (GONÇALVES et al, 2013). Em espécies de ambientes de várzea Amazônica foi registrado em *C. latiloba* e *S. reticulata*, redução de 10% nas taxas de fotossíntese máxima, todavia em *P. glomerata* foi observado que a atividade fotossintética permaneceu constante entre 8 e 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e em *L. corymbulosa* foi maior na fase terrestre (13 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), sendo após seis meses de alagamento acentuadamente reduzida para 3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ARMBRÜSTER et al., 2004). Redução significativa na respiração foi observada em plantas jovens de *T. serratifolia* aos 9 dias de alagamento (ALVES et al., 2012), por outro lado, Lira et al (2013) observaram redução de 48,20% da taxa fotossintética em *L. sericeus* e Gonçalves et al. (2013), 51% em relação á fotossíntese máxima de *G. Spruceana*.

Em *C. grandiflora* foram registradas significativas reduções de taxa fotossintética, condutância estomática, e transpiração quando submetida ao alagamento, que pode ser associado a limitações não estomáticas, como a degradação de pigmentos e alterações em enzimas do Ciclo de Calvin como causas principais do declínio fotossintético (PEZESHKI, 2001), pela redução do numero de folhas, área foliar, esclerofilia e distribuição de fotoassimilados (BATISTA et al, 2008), e por fatores estomáticos e não estomáticos (MIELKE, et al.,2003), assim o declínio registrado nas trocas gasosas de *C. grandiflora* submetidas ao alagamento parecem refletir a redução da condutância estomática, limitações estomáticas e alterações do aparelho fotossintético.

Correlação entre variáveis fisiológicas

Visando estabelecer se as variáveis fisiológicas estão correlacionadas foi realizada análise de correlação de Pearson cujos resultados estão configurados na tabela 1.

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (A), Transpiração (E), Conteúdo relativo de água (CRA), Resistência estomática (Rs) Potencial hídrico do antemanhã (Ψ_{am}), Potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Condutância Estomática (gs), e condutividade hidráulica (K_L) de *C. grandiflora* Splitz., nos tratamentos, controle e alagado por 28 dias.

Tratamento		Variáveis fisiológicas			
		A	CRA	E	Rs
Controle	Ψ_{am}	-0,343 ^{ns}	-0,145 ^{ns}	-0,233 ^{ns}	0,197 ^{ns}
	Ψ_x	-0,014 ^{ns}	0,075 ^{ns}	0,020 ^{ns}	-0,217 ^{ns}
	gs	0,118 ^{ns}	0,211 ^{ns}	-0,048 ^{ns}	-0,996 ^{**}
	K_L	0,155 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,061 ^{ns}	-0,765 ^{**}
Alagado	Ψ_{am}	0,741 ^{**}	0,793 ^{**}	0,773 ^{**}	-0,772 ^{**}
	Ψ_x	0,866 ^{**}	0,685 ^{**}	0,881 ^{**}	-0,771 ^{**}
	gs	0,895 ^{**}	0,799 ^{**}	0,955 ^{**}	-0,934 ^{**}
	K_L	0,846 ^{**}	0,655 ^{**}	0,848 ^{**}	-0,729 ^{**}

* significativa a 5% (p<0,05)

** significativa a 1% (p<0,01)

Nas plantas controle foi verificada correlação negativa em nível de 1% ($p < 0,001$) entre resistência estomática, condutividade hidráulica e condutância estomática. Nas plantas alagadas houve significativa interação positiva entre A, CRA, E, Ψ_{am} , Ψ_x , gs e K_L e, significativamente negativa com a resistência estomática (Tabela 1), Taiz e Zeiger, (2013), afirmam haver uma correlação positiva entre a gs e E, desse modo assim, a diminuição do Ψ_x no tecido foliar, pode ter causado o fechamento estomático e, conseqüentemente, a redução da gs (Figura 4: C), que diretamente influenciou na diminuição da E (Figura 4: D) em *C. grandiflora*. Horchani et al. (2010) e Martinazo et al (2013) correlacionaram a redução das taxas transpiratórias, devido a diminuição da condutância estomática, respectivamente em *S. lycopersicum* e *P. salicina* expostas a anóxia. A interação significativamente positiva da condutância hidráulica com a fotossíntese, conteúdo relativo de água (Figura 3: C) e transpiração (Figura 4: D), e significativamente negativa, com a resistência estomática (Figura 4: A) permite indicar que a diminuição da K_L pode ter influenciado na redução do potencial hídrico do xilema foliar, e no fechamento estomático de *C. grandiflora*.

Altura do caule, número de folhas diâmetro do caule, área foliar, comprimento da raiz, comprimento e diâmetro de raízes adventícias, e área de lenticelas hipertróficas.

Como esperado, no primeiro dia os dois tratamentos apresentaram valores similares, não diferindo um do outro (Figura 5: A-H), nas medições aos 7, 14, 21 e 28 dias, as plantas

controle apresentaram aumento contínuo de número de folhas (Figura 1A), altura do caule (Figura 2B), diâmetro do caule (Figura 3C), área foliar (Figura 4D), comprimento de raízes (5E), esses parâmetros foram continuamente inferiores nas plantas (A) nessas mesmas fases experimentais, todavia, o diâmetro do coleto não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. As plantas alagadas apresentaram valores superiores de crescimento de raízes adventícias (Figura 3F), diâmetro das raízes adventícias (Figura 3G) e formação de lenticelas hipertróficas (Figura 3H). O número médio de folhas no regime controle e alagado foi de 25,44 e 21,15 respectivamente, as plantas alagadas apresentaram decréscimo de valores da ordem de -8,93%, -17,19%, -27,40% e -32,72% em relação aos tratamentos controle aos 7, 14, 21 e 28 dias. Os valores médios das alturas dos caules das plantas controle e alagadas foi expressa em 34,29 cm e 28,22 cm, as plantas alagadas exibiram decréscimo de altura em valores de -9,17%, -24,08%, -24,13% e -33,26%, respectivamente menores que as plantas controle, aos 7, 14, 21 e 28 dias. Os valores do diâmetro do caule apresentaram valores que demonstram não haver diferença significativa entre os tratamentos, aos 28 dias as plantas controle apresentaram 1,07 cm contra 1,09 cm das alagadas. A área foliar apresentou diferença significativa entre os tratamentos com valores médios respectivamente nas plantas controle e nas alagadas de 2.068,79 cm² nas plantas controle e 1.644,80, as plantas alagadas exibiram valores percentuais de decréscimo da ordem de -9,68%, -30,38%, -31,11%, -32,02% em relação às plantas controle, respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias. As plantas controle e alagadas apresentaram valores médios de comprimento de raízes de 45,03 cm e 38,07 cm, as plantas alagadas apresentaram decréscimos contínuos de comprimento de raízes quando comparadas com as plantas controle, da ordem de -13,95%, -22,18%, -21,51% e -19,74% aos 7, 14, 21 e 28 dias. Em contraposição aos valores de baixo crescimento acima expressado, as plantas alagadas apresentaram em relação às plantas controle ganhos percentuais médios de comprimento de raízes adventícias em 19,49%, 20,25%, 31,80% e 53,85%, e, em diâmetro de raízes adventícias, em 23,89%, 37,12%, 65,76% e 62,43% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias, em todas as fases alagadas as plantas estressadas apresentaram formação de lenticelas hipertróficas com valores médios de 21,64 cm², as plantas alagadas apresentaram rachaduras caulinares logo acima da formação de lenticelas hipertróficas, as plantas controle não apresentaram formação de lenticelas hipertróficas ou rachaduras caulinares.

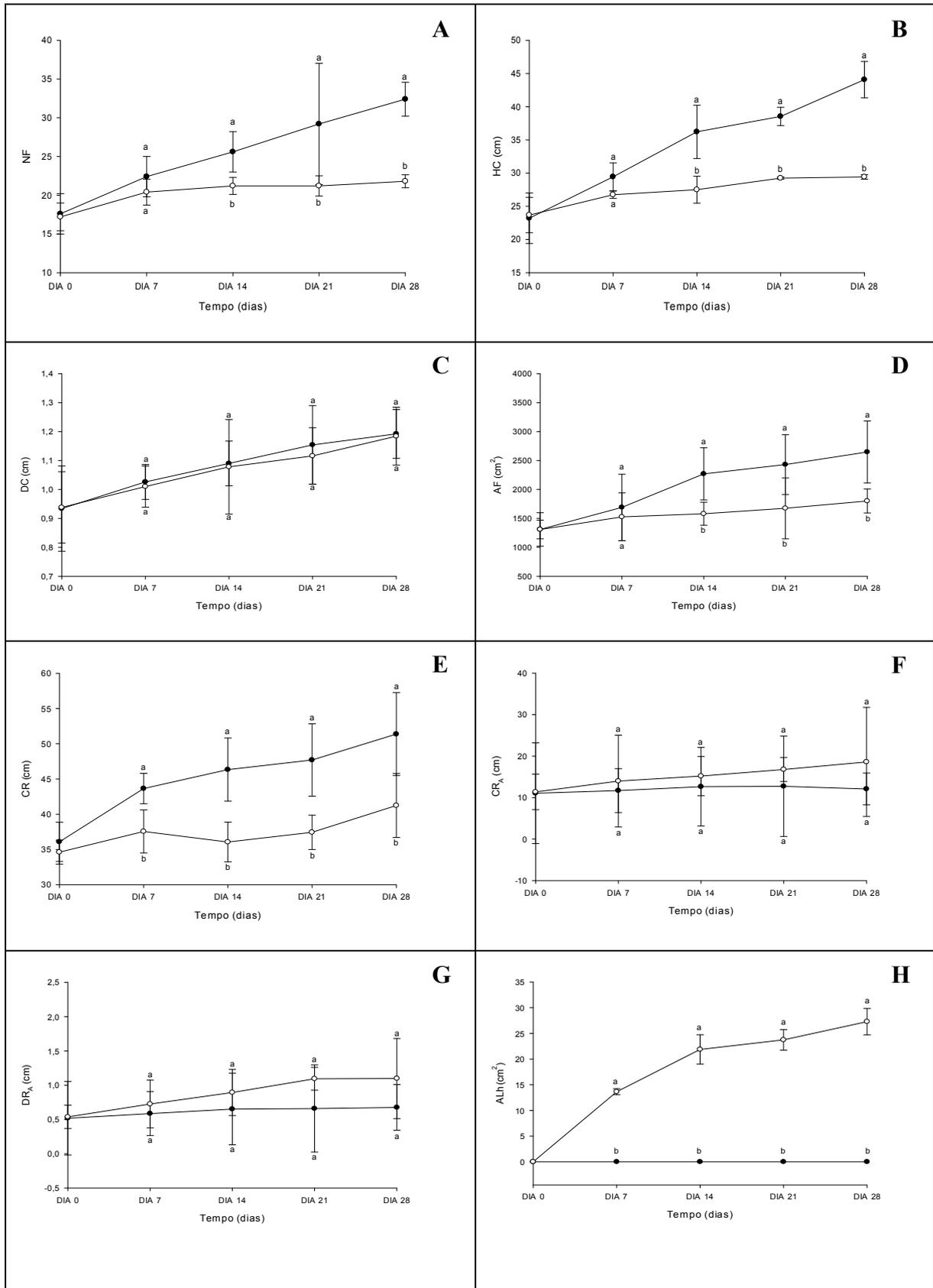


Figura 5. Número de folhas (NF: A), Altura do caule (HC: B), Diâmetro de coleto (DC: C), Área foliar (AF: D), Comprimento das raízes (CR: E), Área de lenticelas hipertroóficas (ALh: F), Comprimento de raízes adventícias (CR_a: G), Diâmetro das raízes adventícias (DR_a: H) de *C. grandiflora* submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

Corroborando com o encontrado neste trabalho para *C. grandiflora*, Silveira et al (2015) estudando *S. membranifolia* submetidas ao alagamento encontraram aumento contínuo de altura, número de folhas e ramos das plantas controle ao longo do período experimental de 90 dias, ao final do experimento observaram uma expressiva redução dos valores médios de altura e do número de folhas nas plantas alagadas, porém, não observaram diferença significativa no crescimento em diâmetro do coleto. Andrade (1999), Casimiro (2006) e Lira et al (2013) trabalhando com *G. Americana*, *C. glandulosa*, e *L. sericeus* respectivamente, observaram redução no incremento em altura em condição de alagamento, nesta última os autores registraram que a altura sofreu redução de 65,07% aos 90 dias, e que o alagamento não afetou o número de folhas até os 75 dias de experimento. Em *G. spruceana* submetidas a 90 dias de alagamento apresentaram valores médios de crescimento relativo, menores que o tratamento controle, nos parâmetros diâmetro ($0,0035 \text{ mm.mm}^{-1} / 0,0023 \text{ mm.mm}^{-1}$), em altura (-36%), as taxas de crescimento absoluto em diâmetro do coleto apresentaram valores inferiores em 46%, os índices de ganho foliar foram -4,00, as taxas de crescimento absoluto em altura apresentou redução de 46%, o valor em ganho foliar foi 68% menor (GONÇALVES et al, 2013), Martinez et al (2011) encontraram para *H. crepitans* submetidas a 90 dias de alagamento diminuição da taxa crescimento em altura, redução do número de folhas de até 76%, redução da área foliar de até 32%, todavia o diâmetro do coleto não sofreu interferência do alagamento, entretanto Lenhard et al (2010) estudando o crescimento de *C. férrea* submetidas a vários tratamentos inclusive alagado não encontraram interação significativa entre os dias de tratamentos e a disponibilidade de água, para as características diâmetro do colo, teor relativo de água, área foliar, área foliar específica, taxa assimilatória líquida, taxa de crescimento relativo e peso específico da planta, em outro experimento similar, Batista et al (2008) observaram redução na altura e área foliar, todavia não provocou efeito sobre o diâmetro da base de *C. Pachystarchya* sob alagamento. MIELKE et al., (2003) estudando plântulas de *G. americana* submetidas ao alagamento, durante 63 dias, observaram uma diminuição de 30% tanto em altura como em número de folhas, todavia, não foram observadas diferenças para o diâmetro do coleto, entretanto, em outro experimento, MIELKE et al., (2005) estudando plântulas de *A. glabra* alagadas por 56 dias, não verificaram diferenças em altura e número de folhas. Oliveira; Joly (2004) estudando *C. brasiliensis* encontraram como sintomas de estresse ao alagamento redução de altura e de quantidade de folhas, todavia o crescimento em diâmetro das plantas alagadas foi superior ao das plantas controle. Em *C. grandiflora* não houve paralização de crescimento, todavia, evidenciou-se uma redução geral de crescimento nas alagadas sugerindo ser essa estratégia, uma forma de

economizar energia, contribuir para o equilíbrio metabólico, e permitir uma expressão de mecanismo de tolerância da espécie ao alagamento.

Correlação entre Variáveis ambientais, fisiológicas e morfológicas.

Nas plantas controle registrou-se forte correlação de g_s com K_L a 1% ($p < 0,01$), e a 5% ($p < 0,05$) com o número de folhas, entre g_s e Tar a 5%, e correlação significativa indireta a 5% entre a área foliar e Ψ_x , não houve interação significativa entre as demais variáveis. Nas plantas alagadas a condutância hidráulica, apresentou correlação significativa a 1% com A, E, Ψ_x e g_s , no entanto o número de folhas e altura do caule apresentou forte correlação negativa com essas mesmas variáveis. A área foliar apresentou correlação negativa em nível de 1% com E, e em nível de 5% com A, Ψ_x e g_s , o comprimento das raízes tem forte correlação negativa com E, e a raiz adventícia apresenta relação negativa com A, em nível de 5%.

Nos dois regimes hídricos não houve correlação significativa entre o DPV_{fa} e A, E, Ψ_x e g_s (tabela 2). A falta de correlação do DPV_{fa} permite sugerir que o fechamento estomático esteja relacionado a fatores endógenos (bioquímicos), bem como na variação hormonal, entre as altas concentrações de etileno e o aumento de produção de ABA nas folhas. Para Mielke; Schaffer (2010) alterações nas taxas de assimilação de carbono em plantas alagadas podem estar relacionadas tanto ao fechamento estomático, como modificações na atividade de enzimas envolvidas no processo de carboxilação e degradação de pigmentos, no entanto Gonçalves et al (2013) indicaram as limitações estomáticas como responsáveis por exercer influência preponderante nas taxas de assimilação de carbono em plantas alagadas de *G. Spruceana*.

Em *P. mariana* e *L. laricina* submetidas a 34 dias de alagamento, Islam e Macdonald (2004) observaram redução significativa na condutividade hidráulica em relação às plantas controle, vinculando a redução da g_s à diminuição da condutividade hidráulica da raiz. Respostas em *L. laricina*, permitiram observar a retomada da condutividade e da condutância estomática nas plantas alagadas, chegando ao final de 6 meses de experimento, em valores próximos aos das plantas controle, os autores concluíram que a manutenção do equilíbrio entre a perda de água e captação de água requer ajustes na condutância hidráulica do tecido, sendo que a maior parte da regulação dinâmica da K_L da raiz tem sido atribuída ao fluxo de água pela membrana celular, regulado pelas aquaporinas que aumentariam com o surgimento das raízes adventícias (CALVO-POLANCO et al. , 2012),

Tabela 2 – Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (A), Transpiração (E), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Condutância estomática (gs), Umidade relativa do ar (UR), Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura do ar (Tar), Temperatura da folha (Tfol), Déficit de pressão de vapor entre folha e ar (DPVfa), condutividade hidráulica (K_L), Altura do caule (HC), comprimento da raiz (CR), e Área da folha (Af) de *C. grandiflora* Spltz., nos tratamentos controle e alagado por 28 dias.

Tratamento	Variáveis ambientais, fisiológicas e morfológicas				
		A	E	Ψ_x	Gs
Controle	UR	0,296 ^{ns}	-0,080 ^{ns}	0,366 ^{ns}	0,031 ^{ns}
	RFA	-0,182 ^{ns}	0,238 ^{ns}	0,524 ^{**}	0,208 ^{ns}
	Tar	-0,317 ^{ns}	0,136 ^{ns}	0,076 ^{ns}	0,482 [*]
	Tfol	0,013 ^{ns}	0,014 ^{ns}	0,216 ^{ns}	0,314 ^{ns}
	DVPfa	0,226 ^{ns}	0,225 ^{ns}	-0,141 ^{ns}	-0,045 ^{ns}
	KL	0,144 ^{ns}	0,066 ^{ns}	-0,007 ^{ns}	0,751 ^{**}
	NF	0,203 ^{ns}	0,100 ^{ns}	-0,368 ^{ns}	-0,464 [*]
	HC	-0,097 ^{ns}	0,028 ^{ns}	-0,379 ^{ns}	-0,381 ^{ns}
	CR	-0,111 ^{ns}	0,050 ^s	-0,142 ^{ns}	-0,248 ^{ns}
	CRA	0,153 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,012 ^{ns}	-0,114 ^{ns}
AF	0,073 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,415 [*]	-0,272 ^{ns}	
Alagado	UR	0,461 [*]	0,601 ^{**}	0,430 [*]	0,580 ^{**}
	RFA	0,287 ^{ns}	0,231 ^{ns}	-0,149 ^{ns}	0,126 ^{ns}
	Tar	0,367 ^{ns}	0,238 ^{ns}	0,417 [*]	0,169 ^{ns}
	Tfol	0,522 ^{**}	0,474 [*]	0,528 ^{**}	0,402 [*]
	DVPf	0,001 ^{ns}	-0,055 ^{ns}	0,301 ^{ns}	-0,067 ^{ns}
	KL	0,834 ^{**}	0,845 ^{**}	0,966 ^{**}	0,889 ^{**}
	NF	-0,722 ^{**}	-0,610 ^{**}	-0,778 ^{**}	-0,654 ^{**}
	HC	-0,745 ^{**}	-0,725 ^{**}	-0,756 ^{**}	-0,747 ^{**}
	CR	-0,430 [*]	-0,507 ^{**}	-0,423 [*]	-0,504 [*]
	CRA	-0,419 [*]	-0,296 ^{ns}	-0,252 ^{ns}	-0,250 ^{ns}
AF	-0,451 [*]	-0,407 [*]	-0,505 [*]	-0,497 [*]	

* significativa a 5% (p<0,05)

** significativa a 1% (p<0,01)

Massa Seca das raízes, Massa Seca do Caule, Massa Seca das Folhas e Massa Seca Total.

A massa seca das raízes apresentou valores médios das plantas controle e plantas alagadas na ordem de 17,56 g e 15,91 g respectivamente, onde restou evidenciado diferenças significativas entre os tratamentos e entre os tempos aos 21 e 28 dias da ordem de -18,66% e -23,58% de decréscimo das plantas alagadas em relação às controle. A massa seca do caule apresentou valores médios de 5,17 g e 4,60 g entre as plantas controle e alagadas respectivamente, houve redução significativa entre os tratamentos e tempos, havendo percentuais de redução de massa das alagadas em relação às plantas controle da ordem de -

7,58%, -11,89%, -21,35% e -5,13%, respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias, havendo um declínio acentuado na perda de massa aos 28 dias, todavia, mesmo em pequeno percentual as plantas alagadas apresentaram incremento de massa ao longo do experimento. A massa seca das folhas apresentou valores médios de 21,28 g e 18,20 g respectivamente nas plantas controle e nas controladas, registrou-se diferença significativa entre tempos e tratamentos nos dias 7 (-12,05%), 14 (-31,75%) e 21(-20,23%), ao final do tratamento os valores tenderam a se estabilizaram e apresentaram diferença percentual entre o controle e alagadas de -1,62%. A massa seca total apresentou valores médios de 44,00 g e 38,71 g nas plantas controle e alagadas, que representa uma variação de 12,04 %, as plantas alagadas exibiram diferença de valores significativos entre os dois tratamentos, com decréscimos contínuos de valores das alagadas na ordem de -5,10%, -16,85%, -19,77%, e 11,79% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias.

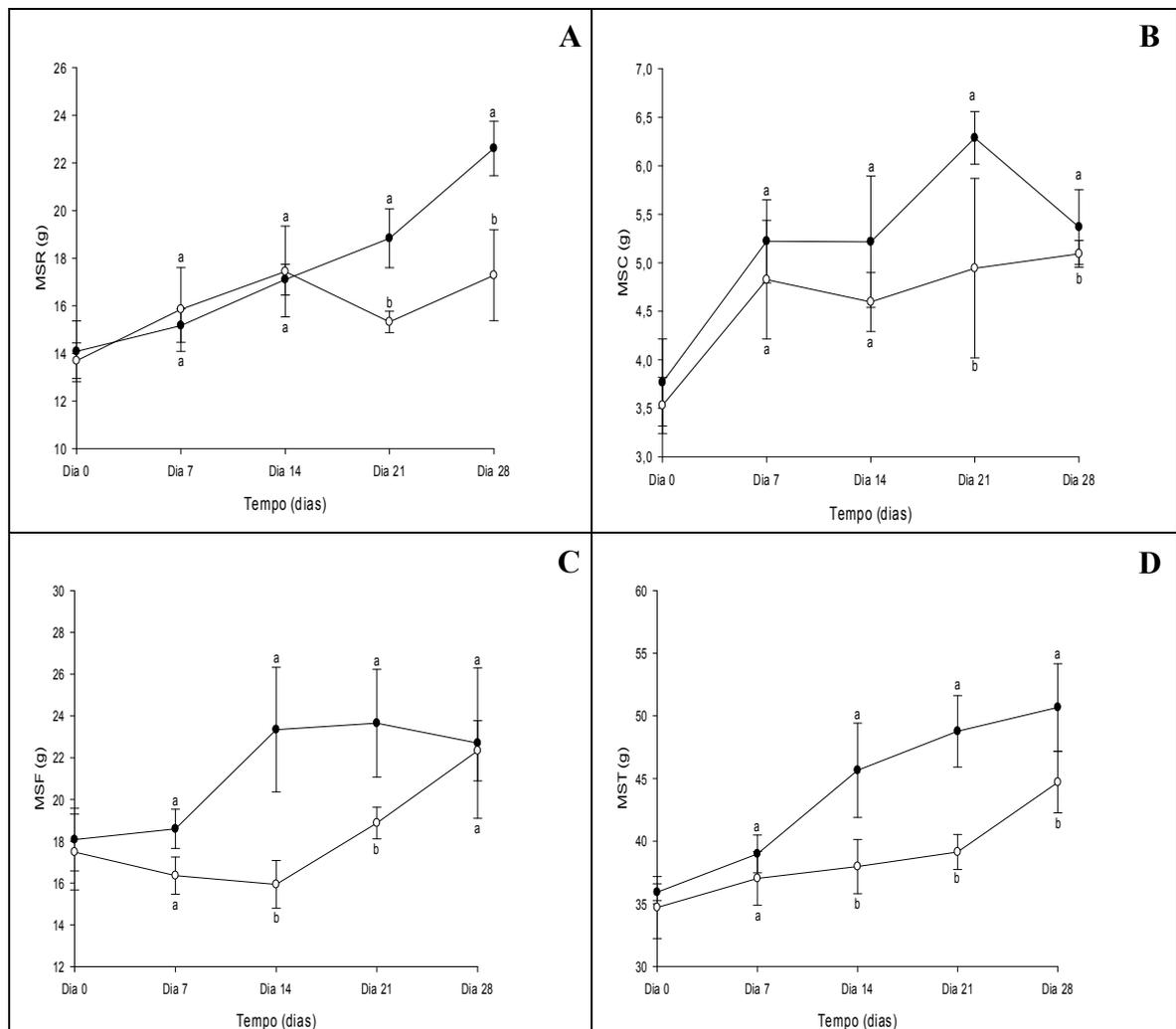


Figura 6. Massa Seca das Raízes (MSR: A), Massa Seca do Caule (MSC: B), Massa Seca das Folhas (MSF: C), Massa Seca Total (MST: D) de *C. grandiflora* submetidas continuamente a 0, 7, 14, 21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

A proliferação de raízes secundárias e adventícias são fortes indicadores de que podem ter contribuído para o aumento da biomassa total dos tecidos registradas neste trabalho em *C. grandiflora*, outros autores registraram tanto aumento quanto redução de biomassa, como à redução da massa seca do sistema radicular em *B. gasipaes* e *R. palustris* (CARVALHO e ISHIDA, 2002; CHEN et al., 2011), concordando com a tendência de redução de biomassa em plantas alagadas, Lira et al (2013) estudando plantas alagadas de *L. sericeus* encontraram aos 30 dias de experimento, redução na massa seca da raiz, e redução da massa seca da parte aérea aos 15 dias, a partir dos 30 dias não foram mais observadas diferenças entre os tratamentos, Zanandrea et al. (2010) estudando o efeito do alagamento em plantas de *S. virgata*, observaram maior produção de massa seca de folhas e raízes quando submetidas ao alagamento das raízes, todavia, Silveira et al. (2015) registraram redução no número de folhas a partir dos 24 dias de alagamento nas raízes, que também justificaria também a redução da massa seca desse tecido.

Percentual de biomassa de raiz, e biomassa da parte aérea

A média percentual alcançada na biomassa de raiz (MSR), caule (MSC) e folhas (MSF) correspondeu respectivamente a 39,75%, 11,76%, e 48,49% da biomassa total, no alagamento os percentuais foram 41,19%, 11,87% e 46,94%. Relacionando os percentuais de MSR e MSPA (MSC+MSF) em relação à MST, obteve-se a média entre os tratamentos, na alocação de biomassa das plantas controles de 44,61 % (MSR) e 55,21 % (MSPA), contra 41,19% (MSR) e 58,83%(MSPA) nas alagadas. Ao final do experimento as plantas controle apresentaram uma evolução de 13,85% de alocação percentual de MSR, nas plantas alagadas a alocação de biomassa a MSR apresentou declínio de 39,44% para 38,65% e evolução em MSPA, de 60,49% para 61,41% (Figura 7: A, B)

A razão MSR/MSPA nas plantas controle apresentou o valor médio de 0,82 e de 0,63 nas alagadas. Comparando o início e final do experimento a relação MSR/MSPA nas plantas controle evoluiu de 0,65 para 0,82 e nas plantas alagadas houve ligeiro declínio, de 0,65 para 0,63.

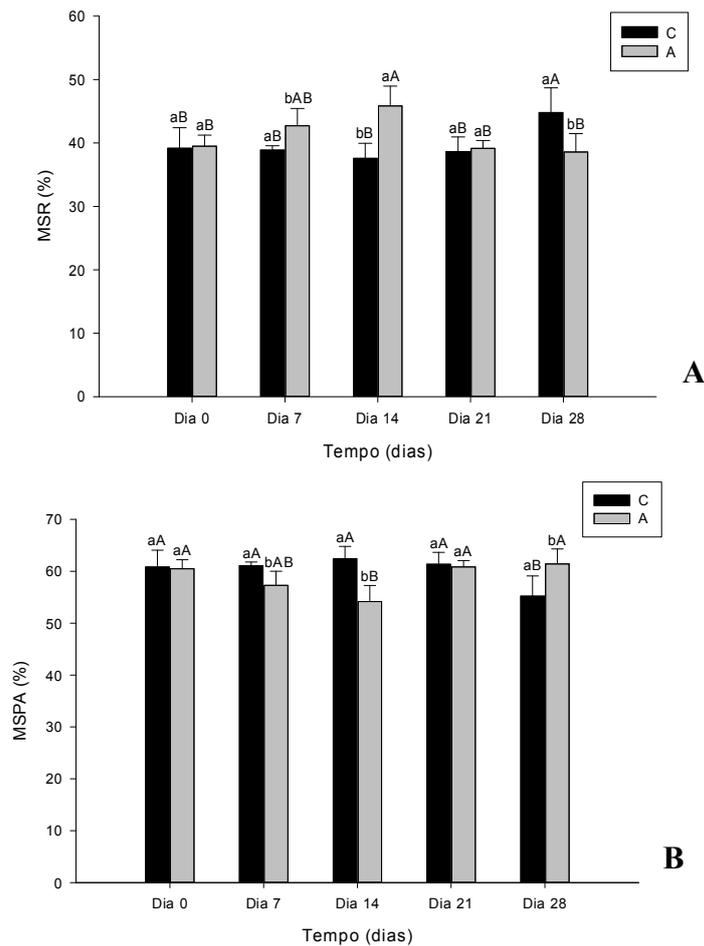


Figura 7: Comparativo percentual de Massa Seca da Raiz (MSR) e Massa Seca da Parte Aérea em relação á Massa Seca Total de plantas de *C. grandiflora* submetidas continuamente a 0, 7, 14, 21 e 28 dias de controle (C): colunas de áreas escuras e alagamento (A): colunas de áreas cinza. Letras maiúsculas (regime hídrico) e letras minúsculas (tempo de alagamento) iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$), barras representam o erro padrão da média de cinco repetições.

Lira et al (2013) investigando *L. sericeus* por 63 dias, encontraram no tratamento alagadas uma razão massa seca raiz/parte aérea de 0,35 e 1,10 nas plantas controle aos 90 dias, em *G. americana* submetidas a 90 dias de alagamento houve redução de porcentagem de biomassa da raiz e folhas, e aumento do caule, todavia, Ghanbary et al. (2012), trabalhando com plantas jovens de *A. subcordata*, verificaram aumento significativo na razão massa seca raiz/parte aérea das plantas alagadas em relação ao controle, contrariamente, Oliveira e Joly (2010) constataram em plantas de *C. brasiliense* (Clusiaceae) a redução da razão raiz/parte aérea aos 90 dias após de alagamento. Comparando-se ao primeiro dia do tratamento, aos 7 e 14 dias houve variação nos percentuais e razão de MSR e MSPA nos dois regimes hídricos, as plantas controle apresentaram redução de MSR de 39,18% para 38,9% e 37,44%, e conseqüentemente maior alocação de biomassa em MSPA, a relação MSR/MSPA reduziu de 0,65 para 0,64 e

0,60, ao final do experimento essa relação evoluiu para 0,82, contrariamente, nas plantas alagadas o percentual de MSR evoluiu de 39,44% (dia 1) para 39,44% e 42,79%, conseqüentemente a razão MSR/MSPA evoluiu de 0,65, para 0,75 e 0,85, ao final do experimento a relação declinou para 0,63. Essas alterações de alocação de biomassa em *C. grandiflora* pode ser explicado pela necrose de raízes, na emissão de raízes adventícias em ambos regimes hídricos, e pela formação de lenticelas hipertróficas nas alagadas, que provavelmente contribuíram na captação de oxigênio para as raízes, permitindo a realização de reações metabólicas, liberação de substâncias tóxicas, e na expansão dos tecidos de crescimento da parte aérea e das raízes.

CONCLUSÃO

Após os resultados e discussão respondemos aos questionamentos: Plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* são tolerantes ao alagamento? O crescimento e a biomassa de *C. grandiflora* é afetado pelo alagamento? Plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* desenvolvem mecanismos fisiológicos, bioquímicos e morfo-anatômicos, que permitam tolerar as condições de alagamento?

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que o alagamento produziu em *C. grandiflora* mecanismos para combater ao estresse produzido, que se manifestaram pela redução geral do crescimento, da biomassa e das trocas gasosas, esses mecanismos proporcionaram plena tolerância, e podem também estar relacionados ao tempo de exposição a esse tipo de estresse, vez que, após os primeiros tempos de alagamento aos 7, 14 e 21 dias, exibiram diminuição gradual dos efeitos de redução, e tenderam a se estabilizar a partir dos 28 dias de alagamento.

C. grandiflora exibiu plena tolerância ao alagamento de 28 dias, apresentou taxas de crescimentos e de biomassa em níveis menores que as plantas controle, todavia, demonstrou plena capacidade para continuar crescer e acumular biomassa.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. C. S. et al. **Flooding effects in seedlings of *Cytherexylum myrianthum* Cham. And *Genipa americana* L.: responses of two neotropical lowland tree species.** Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 281-285, out. 1999.
- ALVES, G. A. R.; SANTOS FILHO, B. G. DOS.; LOBATO, A. K. DA SILVA. YUEN TAN, D. K.; OLIVEIRA NETO, C. F. DE.; COSTA, R. C. L. DA.; ÁVILA F. W.; MARQUES, D. JOSÉ.; GALATE, R. DOS SANTOS. Water relations, nitrogen compounds and enzyme activities in leaf and root of young Yellow Lapacho (*Tabebuia serratifolia*) plants subjected to flooding. **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 3, p. 216-222, 2012.
- ARRUDA, G. M. T.; CALBO, M. E. R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carna ba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore). **Acta Botanica Brasilica**. [online]. v.18, n.2, p. 219-224, 2004.
- ASHRAF, M. A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.
- ASHTON, P.M.S., BERLYN, G.P., 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. **New Phytologist**. v. 121, p. 587-596.
- ARMBR STER, N.; M LLER, E.; PAROLIN, P. Contrasting responses of two Amazonian floodplain trees to hydrological changes. **Ecotropica**, Frankfurt, v. 10, n. 2, p. 73-84, Apr. 2004.
- ARMSTRONG, W.; BRAENDLE, R.; JACKSON, M. B. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v. 43, n. 4, p. 307-358. 1994.
- BAILEY-SERRES J.; VOESENEK L.A.C.J. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 313–339, 2008.
- BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; MEDRI, E. B.; PIMENTA, C, J. A. Tolerância   inundação de *Cecropia pachystachya*Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanat micos. **Acta Bot nica Brasilica**, v. 22, n. 91-98, p. 2008.
- BERTOLDE, F.Z.; ALMEIDA, A.-A.F.; PIROVANI, C.P. GOMES, F.P.; AHNERT, D.; BALIGAR, V.C.; VALLE R.R. Physiological and biochemical responses of *Theobroma cacao* L. genotypes to flooding. **Photosynthetica**, v. 50, n. 3, p. 447-457, 2012.
- BOURANIS, D.L.; CHORIANOPOULOU, S.N.; KOLLIAS C.; MANIOU, P.; PROTONOTARIOS, V.E.; SIYIANNIS, V.F.; HAWKESFORD, M.J. Dynamics of aerenchyma distribution in the cortex of sulfate -deprived adventitious roots of maize. **Annals of Botany**, v. 97, p. 695-704, 2006.

- BURROWS, F.J., MILTHORPE, F.L., 1976. Stomatal conductance in the control of gas exchange. In: KOZLOWSKY, T.T. (Ed.) *Waterdeficits in plant growth*. New York: **Academic Press**. v. 47, p. 103-152.
- CASIMIRO, E. L. N. et al. Efeitos da saturação hídrica, idade, volume radicular no crescimento inicial de quatro espécies florestais. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 5, n. 2, p. 13-20, 2006.
- CARVALHO, C. J. R. et al. Respostas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) jovens ao alagamento. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1231-1237, set. 2002.
- CARVALHO, F. A.; NASCIMENTO, M. T.; BRAGA, J. M. A. Composição e riqueza florística do componente arbóreo da Floresta Atlântica submontana na região de Imbaú, Município de Silva Jardim, RJ. **Acta Botanica Brasilica** 20(3):727-740, 2006.
- CARVALHO, F. A.; NASCIMENTO, M. T.; FILHO, A. T. O. Composição, riqueza e heterogeneidade da flora arbórea da bacia do rio São João, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 22(4):929-940, 2008
- CHRISTO, A. G.; GUEDES-BRUNI, R.; SOBRINHO, F. A. P.; SILVA, A. G.; PEIXOTO, A. L. Structure of the shrub-arboreal component of an atlantic forest fragment on a hillock in the central lowland of Rio de Janeiro, Brazil. **Interciencia**. 34(4):232-239, 2009
- CHEN, X. et al. Fitness consequences of natural variation in flooding induced shoot elongation in *Rumex palustris*. **New Phytologist**, v. 190, p. 409-420, 2011.
- CALVO-POLANCO, M.; SEÑORANS, J.; ZWIAZEK, J. J. Role of adventitious roots in water relations of tamarack (*Larix laricina*) seedlings exposed to flooding. **Plant Biology**, p. 12-99, 2012.
- COELHO, C.C. R. ; SILVA, J. N. ; NEVES, M. G.; CONCEIÇÃO A. G. C.; SILVA, R.T. L.; OLIVEIRA NETO, C. F. Aspectos ecofisiológicos e crescimento em plantas de milho submetidas ao alagamento. **Revista Agroecossistemas**, v. 5, n. 2, p. 41-46, 2013.
- COOK, C. D. K. The number and kinds of embryobearing plants which have become aquatic: a survey. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics** v. 2, n. 1, p. 79–102, 1999.
- COSTA, A. M. et al. O efeito da inundação do solo sobre o crescimento inicial de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, guapuruvu. **Natureza On Line**, v.4, n.1, p.7-13, 2006. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>. Acesso em: 12 mar. de 2015.
- DAT, J. F.; CAPELLI, N.; FOLZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT, P. M. Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 273-282, 2004.
- EZIN, V.; DE LA PENA, R.; AHANCHEDE, A. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 1, p. 131-142, 2010.

- FREITAS, J. M. N.; CARVALHO, K. S.; LOBATO, A. K. S.; CASTRO, D. S.; MAIA, P. S. P.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C. L. Atividade da Redutase do Nitrato, Conteúdo relativo de Água e teores de Clorofilas Solúveis totais em Folhas de Açazeiro (*Euterpe edulis* Mart.) submetidas ao Déficit Hídrico e ao Alagamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 924-926, 2007.
- GHANBARY, E.; TABARI, M.; GONZÁLEZ, E.; ZARAFSHAR, M. Morphophysiological responses of *Alnus subcordata* (L.) seedlings to permanent flooding and partial submersion. **International Journal of environmental sciences**, v. 2, n. 3, 2012.
- GIMENO, V.; SYVERTSEN, J. P.; SIMÓN, S. I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47-55, 2012.
- GONCALVES, J. F. C. et al. Crescimento, partição de biomassa e fotossíntese em plantas jovens de *Genipa spruceana* submetidas ao alagamento. **CERNE**, Lavras, v. 19, n. 2, p. 193-200, June 2013.
- GRAFFMANN, K.; GROSSE, W.; JUNK, J.; PAROLIN, P. Pressurized gas transport in Amazonian floodplain trees. **Environmental and Experimental Botany**, v. 62, n. 3, p. 371-37, 2008.
- GREGÓRIO, T. A.; GOBBO, L. G.; CARDOSO, J. F.; DEMUNER, V. G.; HEBLING, S. A. Efeito do alagamento sobre o crescimento inicial de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (Ipê-rosa), **Natureza on line**, v. 6, n. 2, p. 91-98, 2008.
- HERRERA, A. et al. Estomatal and non estomatal limitations of photosynthesis in trees of a tropical seasonally flooded forest. **Physiologia Plantarum**, v. 134, n. 1, p. 41-48, 2008.
- HOFFMAN, N.E.; HANSON, A.D. Purification and properties of hypoxically induced lactate dehydrogenase from barley roots. **Plant Physiology**, v.82, n.3, p.664-670, 1986.
- HUBBARD, R. M.; BOND, B. J.; RYAN, M.G. Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. **Trees Physiology**, 19, 165-172, 1999
- ISLAM, M. A.; MACDONALD, S. E. Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. **Trees**, v. 18, p.35-42, 2004.
- JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: **McGraw-Hill Book**, 1940. 523p.
- KLICH, M.G., 2000. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 44, p. 171-183.
- KOLB, R.M.; JOLY, C.A. Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: metabolic, morphological and growth responses. **Flora**, v. 204, p. 528-535, 2009.

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. Stomatal response of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings during and after flooding. *Physiologia Plantarum*, Lund, v. 46, n. 2, p. 155-158, 1979.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph*, v.1 p.1-29, 1997.

LANDSBERG, J.J. Physiological ecology of forest production. **Academic Press**, London, 1986, p.198.

LEMOES-FILHO, J. P. Photoinhibition in three “cerrado” species (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* and *Campomanesia adamantium*), in the dry and rainy seasons. **Revista Brasileira de Botânica**, 23(1):45-50, 2000.

LENHARD, N. R.; SCALON, S. P. Q.; NOVELINO, J. O. CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE PAU FERRO (*Caesalpinia ferrea* MART. ex Tul. var. *leiostachya* Benth.) SOB DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS. **Ciência Agrotécnica**, v. 34, n. 4, p. 870-877, 2010.

LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**. v.25, p.148-157, 2001.

LIRA, J. M. S. ; FERREIRA, R. A. ; SILVA JUNIOR, C. D. ; SANTOS NETO, E. M.; SANTANA, W. Silva. Análise de crescimento e trocas gasosas de plantas de *Lonchocarpus sericeus* (poir.) D.C. sob alagamento para uso na recuperação de matas de ciliares. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 4, p. 655-665, out.-dez., 2013

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 3ª edição, Editora UFV- 2009.

MARTINEZ, G. B.; MOURÃO, M.; BRIENZA JUNIOR, S. Respostas Morfofisiológicas de Plantas de açacu (*Hura crepitans* L.) provenientes de várzeas do rio Amazonas: Efeito da anóxia do solo. **Revista Árvore**, v. 35, n. 6, p. 1155-1164, 2011.

MEDRI, C.; MEDRI, M. E.; RUAS, E. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN, S.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A. Morfoanatomia de órgãos vegetativos de plantas juvenis de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae) submetidas ao alagamento do substrato. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 2, p. 445-454, 2011.

MEDRI, C.; PIMENTA, J. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN S.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E. O alagamento do solo afeta a sobrevivência, o crescimento e o metabolismo de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? Soil flooding affects the survival, growth and metabolism of *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 123-134, 2012.

MEDINA, C. L.; SANCHES, M. C.; TUCCI, M. L. S.; SOUSA, C. A. F.; CUZZUOL, G. R. F.; JOLY, C. A. *Erythrina speciosa* (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. **Annals of Botany**, Oxford, v. 104, p. 671-680, Sept. 2009.

MIELKE, M. S.; ALMEIDA, A. F.; GOMES, F. P.; AGUILAR, M. A. G.; MANGABEIRA, P. A. O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environment and Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 3, p. 221-231, Dec. 2003.

MIELKE, M. S.; MATOS, E. M.; COUTO, V. B.; ALMEIDA, A. F.; GOMES, F. P.; MANGABEIRA, P. A. O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedling to soil flooding. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 905-911, jul. 2005.

MIELKE, M. S.; SCHAFFER, B. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and pigment indexes of *Eugenia uniflora* L. in response to changes in light intensity and soil flooding. **Tree Physiology**, Oxford, v. 30, n. 1, p. 45-55, Jan. 2010.

MIRANDA, L. A. P.; VITÓRIA, A. P.; FUNCH, L. S. Leaf phenology and water potential of five arboreal species in gallery and montane forests in the Chapada Diamantina; Bahia; Brazil. *Environmental and Experimental Botany* 70:143–150. 2011.

MURCHIE, E.H., HORTON, P., 1997. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: Chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. **Plant, Cell and Environment**. 20:438-448.

OLIVEIRA NETO, C.F. Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) submetidos à deficiência hídrica e ao alagamento. Belém, 2010. 93p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

OLIVEIRA, V. C.; JOLY, C. A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth responses. **Trees**, Berlin, v. 24, n. 1, p. 185-193, Feb. 2010.

PAROLIN, P. Fugitive and possessive establishment strategies in Amazonian floodplain pioneers. **Flora**, London, v. 198, n. 6, p. 436-443, 2003.

PAROLIN, P. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 2, p. 359- 376, Jan. 2009.

PEIXOTO, G. L.; MARTINS, S. V.; SILVA, A. F.; SILVA, E. Floristic survey of the tree layer in an area of Atlantic Rainforest in Serra da Capoeira Grande Environmental Protection Area, Rio de Janeiro State, Brazil. **Acta Botânica Brasilica** 18(1):151-160. 2004.

PEZESHKI, S.R. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 46, p. 299-312, 2001.

PIEDEDE, M.T.F.; JUNK, W.W.; PAROLIN, P. 2000. The flood pulse and photosynthetic response of trees in a white water floodplain (várzea) of Central Amazon, Brazil. **Verh. Internat. Verein. Limnol.**, 27: 1734-1739.

PINHEIRO, K.A.O.; CARVALHO, J.O.P.; QUANZ, B.; FRANCEZ, L.M. B.; SCHWARTZ, G. Fitossociologia de uma área de preservação permanente no leste na Amazônia: indicação de espécies para recuperação de áreas alteradas. **Revista Floresta**, v.37, p. 175-187, 2007.

PIRES, J. L. F. et al. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 1, p. 41-50, jan. 2002.

PISICCHIO, C. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; SERT, M. A.; DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, M. E. *Heliocarpus popayanensis* Kunth (Malvaceae) tolera a hipoxia do substrato? **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 2, p. 201-209, 2010.

PORTES, M. T.; ALVES, T. H.; SOUZA, G. M. Time-course of photosynthetic induction in four tropical woody species grown in contrasting irradiance habitats. **Photosynthetica** 46(3):431-440, 2008.

PRYOR, R.J.; DAVISON, N.J.; CLOSE, D.C. 2006. Waterlogging duration; Interspecific comparison of *Leptospermum scoparium* (Forst et Forst.f.), *Acacia melanoxylon* (R. Br.), *Nothofagus cunninghamii* (Hook.) and *Eucalyptus abliqua* (L'Herit). **Austral Ecology**, v. 31, n.4, p. 408-416, 2006.

REICH, P. B; WRIGHT, I. J.; CAVENDER-BARES, J.; CRAINE, J. M.; OLEKSYN, J.; WESTOBY, M.; WALTERS, M. B. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. **International Journal of Plant Science** 164(3):143-164, 2003

RÔÇAS, G.; BARROS, C. F.; SCARANO, F. R. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rainforest. **Trees** 11:469-473, 1997

RODRIGUES, H. J. B.; COSTA, R. F. DA; RIBEIRO, J. B. M.; SOUZA FILHO, J. D. DA C.; RUIVO, M. L. P.; SILVA JUNIOR, J. A. Seasonal variability of the stomatal conductance in amazonian mangrove 33 ecosystem and their relationships with meteorological variables. **Revista Brasileira de Meteorologia** 26(2):189-196, 2011.

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DEHMUKH, P. S.; SRIVASTAVA, G. C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, v.52, n. 3, p. 401-412, 2008.

SANTIAGO, Etenaldo F.; PAOLI, Adelita A.S.. Respostas morfológicas em *Guibourtia hymenifolia* (Moric.) J. Leonard (Fabaceae) e *Genipa americana* L. (Rubiaceae), submetidas ao estresse por deficiência nutricional e alagamento do substrato. **Rev. bras. Bot.**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 131-140, Mar. 2007. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010084042007000100013&lng=en&nrm=iso>. access on 07 Jul. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042007000100013>.

SILVEIRA, Neidiquele Maria et al. Crescimento e partição de carboidratos em plantas de *sebastiania membranifolia* submetidas ao alagamento. **CERNE**, Lavras, v. 21, n. 1, p. 67-74, Mar. 2015

- SILVA, W.S., 1993. Carbon and nitrogen assimilation in cacao (*Theobroma cacao* L.) leaves. Influences of environmental stimuli and abscisic acid.. 246p. **Thesis (Doctor Science) – Faculty of Sciences. University of Bristol**, Bristol.
- SHIMAMURA, S.; YAMAMOTO, R.; NAKAMURA, T.; SHIMADA, S.; KOMATSU, S. S. hypertrophic lenticels and secondary aerenchyma enable oxygen transport to roots of soybean in flooded soil. **Annals of Botany**, v. 106, p. 277-284, 2010.
- SCHUTZ W., MILBERG P., LAMONT B.B. Seed dormancy, after-ripening and light requirements of four annual Asteraceae in south-western Australia. **Annals of Botany** 90, 707–714, 2002.
- SWAINE, M. D.; WHITMORE, T. C. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. **Vegetation** 75:81-86, 1988.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 819p.
- TARDIEU, F. Growth and functioning of roots and of root systems subjected to soil compaction: towards a system with multiple signaling. **Soil Tillage Research**, v. 30, p. 217-243, 1994.
- TARDIEU, F.; SIMMONEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, p. 419-432, 1998.
- TOBE, K.; ZHANG, L. & OMASA, K. Seed germination and seedling emergence of three *Artemisia* species (Asteraceae) inhabiting desert sand dunes in China. **Seed Science Research** 16: 61-69, 2006.
- VARTAPETIAN, B. B. Plant Anaerobic Stress as a Novel Trend in Ecological Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology: 2. Further Development of the Problem. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 53, n. 6, p. 711-738, mar.2006.
- VAN DEN BERG, M.E. 1984. Ver-O-Peso: the ethnobotany of an Amazonian market. In: Prance, G.T.; Kallunki, J.A. (Eds.). **Advances in Economic Botany. Ethnobotany in the Neotropics**. New York Botanical Garden, Bronx, New York. p. 140-149.
- WIEDENROTH, E. M. Responses of roots to hypoxia: their structural and energy relations with the whole plant. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 33, n. 1, p. 45-51, 1993.
- ZANANDREA, I.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; GOULART, P. F. P.; HENRIQUE, P. C.; SILVEIRA, N. M. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 57, n. 8, p. 661-669, Feb. 2010.

ANEXO 1:

Australian Journal of Crop Science

ISSN 1835-2707 (Online) ISSN 1835-2693 (Print)

AJCS is an international fully open access peer-reviewed publication that gathers and disseminates fundamental and applied knowledge in almost all area of plant and particularly crop sciences.

Instruction for Authors

Very Important: Authors must provide a Cover letter, which will be inserted as the first page of manuscript, including manuscript's information, name and contact details (brief affiliations, reviewing interests, Telephone number and emails are necessary) of at least 3 qualified- active referees. Reviewers must be in different universities or institutions than author's. In the cover letter, authors must clearly indicate that they (and their institution) have read and are fully aware of the journal policy (read below carefully).

Editorial policy:

- 1) All submitted manuscripts will be rigorously reviewed by 2-5 external peer-reviewers.
- 2) An initial decision will be made **within 5 days** from the submission date to see whether the manuscript should be proceeded further to the peer-reviewing process or not, after checking the the minimum English language and scientific quality of content.
- 3) After receiving all reviewer comments, a final decision will be made and notified to authors (by editor) exactly based on reviewers recommendations.
- 4) It is entirely authors responsibility to check their institutional requirements (with the research department) to find whether the AJCS does match with their criteria for publication. Upon submission, AJCS presumes that authors are fully aware and agree with this editorial policy and; therefore, does not accept any responsibility after submission.
- 5) AJCS does not guarantee inclusion or index of published materials in any major or minor databases, third parties or companies.

1) The journal language is English.

British English or American English spelling and terminology may be used in article. Please provide your manuscript in double-spaced (or 1.5), Times and New Roman font (size 12) left alignment, Word format. Contributors who are not native English speakers are strongly encouraged to ensure that a colleague fluent in the English language, if none of the authors is so, has reviewed their manuscript. The journal has an option to facilitate language correction on manuscripts if the Authors are not sure about the correctness of manuscript grammar and spelling.

English Language Editing Service: Prior to submission, authors who believe their manuscripts would benefit from professional editing, especially from non-English speaking countries, are encouraged to use a language-editing service. A sample list of English language editing companies can be found here: <http://www.cropj.com/english.html>.

2) Style of papers: Original research papers should generally not exceed 12 pages of printed text, excluding references, tables and figures legends (one page of printed text = approx. 600 words). A manuscript for a research paper should be assembled in the following order: Title, Author (s), Affiliation(s) (if the senior author is not the corresponding order, this is indicated) Keywords, Abbreviations, Abstract, Introduction, Results, Discussion (results and discussion may be combined), Materials and methods, Conclusion, Acknowledgments, References. Tables and figures (JPEG/75 DPI or even higher) should be placed at the end of manuscript, after reference section, and numbered consecutively (eg. for figures, Fig 1., Fig 2..... and for tables Table 1., Table 2. etc.). Please place tables and figures at the end of manuscript consecutively. Please make sure that the total size of your manuscript is not more than 2-3 MB for review purposes.

-----IMPORTANT FOR SUBMISSION PROCESS-----

- 1) During the submission process, when authors entered the abstract and clicked OK to proceed, if submission system asked to enter the abstract again, please ignore that message and click OK again to proceed.
- 2) The file size SHOULD NOT be more than 2 MB, otherwise you will encounter problems to submit. If so, please submit figures as supplementary data or turn your MS to PDF. This will reduce the file size.
- 3) Authors will be asked to download, sign and submit the copyright form as soon as they received the review report, when revisions requested. Upon receipt of consent to publisher (the signed copyright form) authors cannot withdraw their submission.
- 4) Papers are only considered for publication on the understanding that no substantial part has been, or will be, submitted/published elsewhere. Publication of a paper in *Australian Journal of Crop Science* implies that papers will be distributed freely to researchers, for non-commercial purposes without any limitations. By submission of manuscripts to AJCS authors agree to transfer consent to the publisher although a signed copyright form will be sought later (upon acceptance).

Research notes should not exceed six pages of printed text (one page of printed text = approx. 600 words), including references, tables and figures. A manuscript for a research note should be assembled in the following order: Title, Author(s), Affiliation(s) (if the senior author is not the corresponding order, this is indicated) Key words, Abstract, Abbreviations , Manuscript text, Acknowledgments, References. Tables and figures (JPEG) should be cited in the appropriate area in the text with the legend and numbered consecutively (eg. for figures, Fig 1., Fig 2..... and for tables Table 1., Table 2. etc.) Review papers should not exceed 15 pages of printed text, including references, tables and figures. A manuscript for a review should be assembled in the following order: Title, Author(s), Affiliation(s) (if the senior author is not the corresponding order, this is indicated) Keywords, Abstract, Abbreviations, Manuscript text, Acknowledgments, References. Tables and figures (JPEG) should be cited in the appropriate area in the text with the legend and numbered consecutively (eg. for figures, Fig 1., Fig 2. and for tables Table 1., Table 2. etc.).

Key Words: Please provide 5 to 10 key words in alphabetical order separated with semicolons, not included in the title. Scientific or systematic name of plants and fungi etc. should be written in italic. eg. *Oryza sativa*; *in vitro*; *in vivo*.

Abbreviations: Abbreviations and their explanations should be collected alphabetically arranged in a list. Examples: BA- 6-benzylaminopurine; NAA-naphthaleneacetic acid. Some commonly used abbreviations (e.g., DNA; PCR) do not have to be explained.

Abstract: Please provide a short abstract between 150- 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references. Usually, the abstract summarizes the work reported and does not contain background information or speculative statements.

Introduction: This section should argue the case for your study, outlining only essential background, but should not include either the findings or the conclusions. It should not be a review of the subject area, but should finish with a clear statement of the question being addressed. Please provide a context for the report with respect to previous work done in the field. The literature should be cited.

Results: This should highlight the results and the significance of the results and place them in the context of other work. The final paragraph ought to provide a resume of the main conclusions.

Discussion: A comprehensive discussion section is required to justify the results. Normally a comparison between your results and results from previous works should be given in the Discussion

Materials and methods: Please provide sufficient methodological details to allow a competent person to repeat the work.

Tables, Graphs and Figures: Tables, Graphs and Figures should be placed at the end of manuscript, after reference section, with the legends and numbered consecutively. For Figures and Graphs or illustrations just use Fig 1., Fig 2.etc. For Tables Just use Table 1., Table 2.etc.

Acknowledgments

Just mention a quick thanks to the fund providers, supporters, etc.

Cross-referencing In the text, a reference identified by means of an author's name should be followed by the date of the reference in parentheses like Xue et al. (2011). In the text when there are more than two authors, only the first author's name should be mentioned, followed by 'et al.,'. In the event that an author cited has had two or more works published during the same year, the reference, both in the text and in the reference list, should be identified by a lower case letter. All the below examples can be used in the text: According Mark (1986); (Smith, 1987a, b), (Jones, 1986; Elders et al., 1988), (Bullen and Bennett, 1990).

References

1. Journal article:

Smith J, Jones MJ , Houghton LD (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med.* 965:325–329.

2. Journal issue with issue editor:

Smith J (ed) (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J.* 14(6):126–233.

3. Book chapter:

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York.

4. Paper presented at a conference:

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. Paper presented at the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978.

5. Proceedings as a book (in a series and sub-series):

Zowghi D et al (1996) A framework for reasoning about requirements in evolution. In: Foo N, Goebel R (eds) *PRICAI'96: topics in artificial intelligence*. 4th Pacific Rim conference on artificial intelligence, Cairns, August 1996. *Lecture notes in computer science (Lecture notes in artificial intelligence)*, vol 1114. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 157.

6. Proceedings with an editor (without a publisher):

Aaron M (1999) The future of genomics. In: Williams H (ed) *Proceedings of the genomic researchers*, Boston, 1999.

CAPÍTULO 3

METABOLISMO DO CARBONO E NITROGENIO DE *Clusia grandiflora* Splitz. SUBMETIDAS A ANOXIA

RESUMO

Visando elucidar aspectos da tolerância à anoxia de *Clusia grandiflora* Splitz. plantas de 1 ano de idade foram submetidas a 28 dias de inundação das raízes, sob dois tratamentos, controle (C) e inundação da raiz (A), aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Foram avaliados: Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), conteúdo relativo de água (CRA), transpiração, condutividade hidráulica (K_L), concentração de nitrato (CN), atividade da redutase do nitrato (ARN), amônio livre (AM), glutamina sintetase (GS), aminoácidos solúveis totais (AST), proteínas solúveis totais (PST), amido, prolina, glicina betaína (GB), álcool desidrogenase (ADH), lactato desidrogenase (LDH), concentração de amido (CA), sacarose (AS) e carboidratos solúveis totais (CST) na raiz e na folha. Houve redução contínua e significativa do Ψ_x , Ψ_{am} e K_L nas plantas alagadas. Nas folhas das plantas alagadas, as variáveis bioquímicas CN, CAL, GS, PST, e CA reduziram significativamente, enquanto AST, PRO, GB, LDH, ADH, SA E CST cresceram significativamente. Nas raízes o alagamento aumentou acentuadamente os teores de AST, PRO, GB, LDH, ADH, CA, SA, e CST. Nas plantas alagadas evidenciou-se correlação significativamente positiva entre prolina da folha e da raiz com AST, LDH, ADH, SA, CST, e GB, com exceção de SA e LDHr essas mesmas substancia apresentaram, correlação inversa com as concentrações de amido. As concentrações de amido apresentaram correlação positiva com CN, CAL, GS, PST, no entanto essas mesmas substâncias apresentaram correlação negativa com a prolina de folha e raiz. Registrou correlação significativa entre a RN das folhas controle com as alagadas. Os resultados permitem sugerir que as plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora* foram capazes de tolerar o período em que foram submetidas ao alagamento.

Palavras-chave: Trocas gasosas, amido, prolina, álcool desidrogenase, carboidratos solúveis totais.

ABSTRACT

To elucidate aspects of anoxia tolerance of *Clusia grandiflora* Splitz. 1 year old plants were subjected to 28 days of flooding of the roots under two treatments: control (C) and flood the root (A), at 0, 7, 14, 21 and 28 days. Were evaluated: water potential of predawn (Ψ_{am}), the foliar xylem water potential (Ψ_x), relative water content (CRA), sweats, hydraulic conductivity (KL), nitrate concentration (CN), nitrate reductase activity (NRA), free ammonium (AM), glutamine synthetase (GS), total soluble amino acids (AST) and total soluble proteins (PST), starch, proline, glycine betaine (GB), alcohol dehydrogenase (ADH), lactate dehydrogenase (LDH), starch concentration (CA), sucrose (AS) and total soluble carbohydrates (CST) at the root and leaf. There was continuous and significant reduction in Ψ_x , Ψ_{am} and KL in flooded plants. The leaves of flooded plants, the biochemical variables CN, CAL, GS, PST, and CA reduced significantly, while AST, PRO, GB, LDH, ADH, SA AND CST grew significantly. Roots flooding sharply increased AST levels, PRO, GB, LDH, ADH, CA, SA, and CST. In the flooded plants showed significantly positive correlation between proline leaf and root with AST, LDH, ADH, SA, CST, and GBR, except for SA and LDHr those same substance presented, inverse correlation with the starch concentrations. The starch concentrations showed positica correlation with CN, CAL, GS, PST, however these same substances were negatively correlated with proline leaf and root. Recorded significant correlation between the RN leaves control with flooded. The results suggest that the plant 1 year old *C. grandiflora* were able to tolerate the period in which they were subjected to flooding.

Keywords: Gas exchange, starch, proline, alcohol dehydrogenase, total soluble carbohydrates.

INTRODUÇÃO

Beneficiada por condições climáticas favoráveis de iluminação, temperatura e regularidade de chuvas, a floresta Amazônica destaca-se como o bioma de maior riqueza do Brasil e do mundo, muitas regiões dessa floresta se destacam por alterações sazonais da disponibilidade de água do solo. Nesse particular as áreas quando secas ou inundadas desempenham papel importante na dinâmica ambiental dos ecossistemas, que irá repercutir no desempenho, disponibilidade e qualidade da flora e fauna, todavia, além da água, outros fatores são relevantes quando se avaliam variações sazonais como a temperatura (LEMOS-FILHO, 2000), umidade (MIRANDA et al., 2011) e a disponibilidade de luz.

O alagamento do solo exerce profundo efeito nos organismos que nele habitam, especialmente nas plantas, por serem sésseis (PIEIDADE et al., 2000), elimina os espaços ocupados pelo ar, limitando as trocas gasosas com a atmosfera podendo criar no solo um ambiente de baixa disponibilidade, ou ausência de O₂, assim, como respostas fisiológicas ao alagamento, as plantas tendem a mobilizar reservas para suprir a demanda de carbono necessário para a manutenção do metabolismo, diminuição geral do potencial de crescimento e formação de estruturas anatômicas adaptativas, cujos resultados serão influenciados pelas interações nas condições ambientes de CO₂ e temperatura, para Marengo & Lopes, (2005) a intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO₂, o teor de nitrogênio da folha e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais.

As plantas que toleram inundações periódicas necessitam readaptar seu metabolismo e ciclo de vida modificando a via respiratória de forma a suportar as alterações entre condições aeróbicas e hipóxicas ou até mesmo anóxicas, impostas pelo alagamento (KOZLOWSKI, 1997; LIAO, LIN, 2001, DAT et al., 2004), sofrem queda imediata na respiração das raízes, tanto em plantas tolerantes como nas intolerantes, provocando inibição da atividade metabólica e, conseqüentemente redução na produção de ATP (LIAO; LIN, 2001).

Alguns compostos contribuem para o ajustamento do potencial osmótico como o acúmulo de aminoácidos solúveis e sacarose (MERCHANT et al., 2010), carboidratos solúveis (ISLAM; MACDONALD, 2004; HENRIQUE et al., 2010; BERTOLDE et al., 2012), prolina e a glicina-betaína (OLIVEIRA NETO, 2010), especialmente no citoplasma, reduzem o potencial osmótico das células do tecido foliar, e conseqüentemente o seu potencial hídrico (JALEEL et

al., 2007) contribuindo para a manutenção do turgor celular, como os ajustes no metabolismo celular que contribuem para manutenção da turgência celular, via acúmulo de substâncias orgânicas. Silva et al (2004) citam a prolina, que contribui para a osmorregulação, Silveira et al, (2015) evidenciaram que plantas de *S. membranifolia* aumentaram o consumo de carboidratos, expressos pelos maiores valores de AST na imersão parcial e degradação de amido, já para Kreuzwieser et al. (2004), a principal característica de tolerância contra enchentes e alagamentos de árvores parece ser o fornecimento regular de carboidratos para as raízes. Oliveira Neto (2010) observou aumento significativo da prolina e glicina-betaína em raízes e folhas das plantas jovens de *H. courbaril*, todavia, Alves et al (2012) verificaram redução desses compostos em raízes e folhas de plantas jovens de *T. serratifolia*.

Foi relatado que a prolina atua na estabilização de membranas e estruturas subcelulares, fonte de carbono e nitrogênio (SILVA-ORTEGA, et al., 2008), e a glicina-betaína seria importante para formar moléculas de piruvato e compostos ligados a síntese de hormônio, como por exemplo, o etileno, além de servir como fonte de carbono (MUNÔZ-CLARES; VELASCO-GARCIA, 2004). Como consequência da diminuição ou parada da respiração aeróbia e nesta circunstância, as vias fermentativas como as fermentações láctica e alcoólica são ativadas e as atividades das enzimas álcool desidrogenase (ADH) e lactato desidrogenase (LDH) são induzidas para sustentar a glicólise e compensar a baixa produção de ATP (SATO et al., 2002), conforme comprovado em *Melaleuca cajuputi* Powell (KOGAWARA et al., 2006), *Himatanthus sucuuba* Wood (FERREIRA et al., 2009) e *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012). A indução da síntese de diversas proteínas em plantas submetidas à deficiência de oxigênio, é associada a glicólise e a fermentação (SAIRAM, et al., 2008), que permitem superar a deficiência de oxigênio, sintetizando polipeptídeos anaeróbicos (ADH e LDH) como forma de compensar a depleção de proteínas aeróbicas (ZABALZA et al., 2009). O alagamento pode reduzir a atividade do nitrato redutase (ALLÈGRE et al., 2004; ALVES et al., 2012) e glutamina sintetase (HORCHANI; ASCHI-SMITI., 2010; ALVES et al., 2012), influenciando no balanço de nitrogênio total e de diversos aminoácidos (LIAO; LIN, 2001).

Para Horchani; Aschi-Smiti., (2010) a glutamina sintetase parece exercer um importante controle na concentração de NH_4^+ e a sua inibição poderá resultar em acúmulo deste íon, podendo assim causar a morte da planta, Silveira, et al, (2015) estudando o alagamento de *S. membranifolia*, concluíram que os teores de açúcares solúveis totais, redutores e amido foram

significativamente inferiores nas plantas alagadas e totalmente alagadas, tanto nas folhas quanto nas raízes.

O ambiente hipóxico ou anóxico induzem que as plantas respondam com maior ou menor eficiência á baixa disponibilidade de O₂ (ARMSTRONG, 1994), em função de características próprias, algumas espécies demonstraram ter relativa tolerância ao alagamento como, *Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore (ARRUDA, 2004), *C. pachystachya* Trec. (BATISTA et al., 2008), *H. courbaril* L. (OLIVEIRA NETO, 2010), *H. crepitans* L. (MARTINEZ et al., 2011), *S. membranifolia* (SILVEIRA et al, 2015), outras tiveram seu crescimento ou até mesmo sua sobrevivência comprometida quando alagadas, *S. parahyba* (Vell.) S.F. Blake, (COSTA et al., 2006), *A. sellowiana* Cham. (MEDRI et al., 2012) e *T. serratifolia* (Vahl) Nicholson (ALVES, et al, 2012).

Clusia grandiflora Splitz, pertence a família Clusiaceae, é conhecida pelo nome vulgar cebola brava, é uma espécie do tipo heliófita, semidecídua, árvore lactescente, pioneira, perene podendo alcançar 20 m de altura. A espécie se distribui na bacia amazônica predominantemente em áreas de restinga, cujo solo é rico em areia e pobre em nutrientes, sendo facilmente encontrada em terra firme, nas dunas ou habitando pequenas áreas alagadas, com duração permanente ou por cerca de seis meses. A espécie desperta grande interesse no paisagismo, recuperação de áreas degradadas, propriedades medicinais, produção de biomassa, e pelo valor fitoterápico atribuído a seu látex (VAN DEN BERG, 1984), das flores extrai-se uma resina amarela-avermelhada, muito aromática, usada com banha de cacau, para curar as rachas do bico do peito, as flores e frutos, também são indicadas para combater a tosse.

O objetivo desse trabalho foi avaliar as respostas ecofisiológicas e metabólicas de plantas de 1 ano de idade de jovens de *C. grandiflora* Splitz, em condições de anoxia.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo e instalação do experimento

O experimento foi conduzido no período de 03/03/2013 a 30/07/2014, inicialmente em casa de vegetação do horto de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental (48°26'45"W e

1°26'31"S), sob condições de campo, onde foi realizada a semeadura, emergência, e o envasamento das espécies em potes de 1,3 m³, após 4 meses foram transplantadas para vasos plásticos de 12 l, posteriormente foram levados para a casa de vegetação do Laboratório de Solos da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA (01° 28' 03"S, 48° 29' 18"W), para aclimação por 90 dias. As sementes foram coletados de 20 frutos, que apresentaram média de 121 sementes/fruto, oriundos de 10 de árvores de *C. grandiflora* situadas ao acaso, na restinga do Crispim (00°37'06" a 00°34'42"S e 47°40'24" a 47°38'00" W), localizada próximo da praia do Crispim, município de Marapanim, distante 86 km de Belém capital do Pará, Amazônia, Brasil.

As sementes foram lavadas em água corrente, em seguida submetidas á tratamento fungicida por imersão em NaClO por 2 minutos, em seguida lavadas em água corrente e semeadas em bandejas com tubetes de polietileno de 40 mm x 140 mm, submetidas a 4 substratos, casca de castanha do Brasil triturada (CCPT), areia lavada (AL) esterilizada com água á 100 ° C, caroço de açaí triturado (CAT), e terra preta (TP) peneirada, com delineamento experimental de 1 x 4 x 100 (1 espécie x 4 substratos x 100 sementes) sendo mantido em condições de casa de vegetação durante todo o seu desenvolvimento, com irrigações diárias e temperatura e umidade relativa do ar em média respectivamente de $30,83 \pm 2$ °C e $77,79 \pm 4$ %.

Após a aclimação as plantas foram submetidas a dois tratamentos hídricos: 1) Controle (C), irrigadas diariamente mantendo o substrato próximo a capacidade de campo, e 2) alagadas (A), com manutenção de lâmina d'água de cerca de 5 cm acima do nível do substrato, os baldes das plantas foram instaladas individualmente sobre baldes vedados, de maior capacidade e altura. Foram efetivadas 5 medições, aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, com cinco plantas por tratamentos, perfazendo 50 unidades experimentais. A água dos vasos sob alagamento foi trocada a cada medição, para evitar potenciais interferências, que viessem a modificar o efeito da disponibilidade de oxigênio, ou de promoverem alterações oxido reductivas inerentes a presença dos solos alagados. Todos os vasos foram instalados ao acaso, com distancia de 50 cm para evitar possíveis interações entre plantas.

Variáveis avaliadas

Ambientais e Biofísicas: As variáveis ambientais Temperatura do ar (Tar), temperatura máxima (Tmax), Umidade relativa do ar (UR) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA)

foram obtidos por termohigrometro digital dotado de data logger, as variáveis biofísicas, Fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) foram obtidas por meio do aparelho IRGA (Infra-red Gas Analyser/ADC equipments - mod. LCI 6400, Hoddesdon, UK) no horário de 09:00 – 10:00h, o potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) e potencial hídrico do xilema (Ψ_x) foram obtidos respectivamente, entre 4:30 e 5:30 h, e 09:00 h e 10:00 h por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co., Albany, USA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2007), como amostras foram avaliadas folhas maduras e completamente expandidos, do terceiro par contados a partir do ápice. A condutividade hidráulica foi calculada de acordo com Hubbard et al. (1999) e Donovan et al. (2000): $K_L = (gs \times DPVfa) / (\Psi_{am} - \Psi_x)$, e o Conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado entre 04:00 e 05:00h em cada coleta. Foi utilizado o método segundo Slavick (1979): foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de 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 6-7 horas. Posteriormente os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida (MF2). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (70° C) por 24 h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula abaixo: **CRA = (MF1 – MS / MF2 – MS) x 100 (%)**, em que: MF1= Massa fresca 1; MF2= Massa fresca 2; MS= Massa seca.

Bioquímicas

Concentrações de nitrato (CN): Foi utilizado o método de Cataldo et al., (1975). Amostras de 50 mg de folhas e raízes previamente liofilizadas, foram pesadas e adicionadas em tubos de ensaio contendo 5,0 mL de água destilada, e estes incubados em banho-maria por 30 minutos a 100 oC. 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, os tubos foram adicionados lentamente 4700 µL de NaOH 2N. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso até atingirem a temperatura ambiente por cerca de 20 minutos.

Após este processo, foram feitas leituras em espectrofotômetro na absorvância de 410 nm. O branco foi feito usando no ensaio água deionizada em substituição ao extrato. A concentração de nitrato foi obtida a partir de uma curva padrão com concentrações crescentes de NO₃⁻ (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 μmol mL⁻¹). Os resultados foram expressos em mmol de NO₃⁻. kg⁻¹ MS de tecido.

Atividade da Redutase do Nitrato (RN): foi utilizado o método *in vivo* preconizado por Hageman; Hucklesby (1971). 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), KNO₃ mM e estes cobertos com papel alumínio (tratamento escuro). Em seguida, os tubos foram evacuados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Posteriormente, 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 NO₂⁻ no meio de reação, sendo expressa em μmoles de NO₂⁻. g.MF⁻¹ . h⁻¹, a partir de uma curva-padrão obtida com KNO₂ p.a (Sigma).

Concentrações de Amônio livre (CAL): 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 oC. 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 μL de extrato total + 2,5 mL da solução A (5 g de fenol + 0,025 g de nitroprussiato de sódio/ 500 mL de água destilada) e homogeneizado em vortex, acrescentando 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 oC. 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 NH_4^+ / Kg de MS. Para isso utilizou-se o método descrito por (WEATHERBURN, 1967).

Concentrações de Glutamina Sintetase (GS): Foram adicionados 0,2 g de massa seca das raízes e das folhas em pó em 5 mL (2mL + 2 mL + 1mL/ 2 minutos cada) de tampão de extração TRIS-HCl 25 mM, pH 7,6, contendo: 10 mM de $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 10 mM de β -2-mercaptoetanol + PVP 5% (p/v) + 5 mM de EDTA-Na. Depois de trituradas, foram filtradas em pano fino de seda e centrifugadas a 30.000 g (21.000 rpm), em centrífuga refrigerada à 0°-4 °C, por 30 minutos. O sobrenadante foi congelado para posterior análise.

A reação foi preparada em tubo de ensaio, com 600 μL de tampão de reação TRIS-HCl 0,25 M, pH 7 + 200 μL de glutamato de sódio 0,3 M, pH 7 + 200 μL de ATP 30 mM, pH 7 + 200 μL de $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 M + 500 μL de extrato de folhas + 200 μL de solução de hidroxilamina (NH_2OH 1,0 M + NaOH 1,0 M na proporção 1:1). Foi misturado rigorosamente, em vortex e incubado em banho-maria à 30°C, por 30 minutos. Em seguida, foram removidos os tubos do banho-maria e adicionados 500 μL de solução férrica [$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 % (p/v) em HCl 0,2 M + ácido tricloroacético (TCA.) 24 % (p/v) + HCl 50 % (v/v) na proporção 1:1:1] e centrifugado em centrífuga de mesa a 7.000 g, durante 10 minutos. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 540 nm, usando-se água destiladas + reagentes (exceto solução de hidroxilamina) como branco. A atividade da glutamina sintetase (GS) foi determinada a partir da curva padrão de γ - glutamil-hidroximato e os resultados foram expressos mmoles de γ - glutamil-hidroximato/ kg MS de tecido/hora. A atividade da glutamina sintetase foi determinada pelo método —in vitro‖ segundo (KAMACHI et al., 1991).

Concentrações de aminoácidos solúveis totais (AST): foi determinada segundo método descrito por Peoples et al., (1989). Foram pesados 50mg de tecido vegetal liofilizado das folhas e 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 x g, por 10 minutos. Após a extração o sobrenadante foi coletado e desenvolvido a reação para dosagem dos aminoácidos. Aliquotas de 0,1 mL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio e acrescidas água destilada. 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 em vortex os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em —banho-marial, 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 isso, os tubos permaneceram por 20 minutos em temperatura ambiente e, em seguida, foram efetivadas leituras em espectrofotômetro, a 570nm, 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.

Concentrações das proteínas solúveis totais (PST): utilizou-se o método de Bradford (1976). Foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL 100 mg de pó da matéria seca (MS) das raízes e das folhas em 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25 mM pH 7,6). Em seguida os tubos, devidamente lacrados, ficaram sobre o processo de agitação durante 2 horas no agitador de mesa. Após esse processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 minutos). Em seguida, foram colocados nos tubos de ensaios 100 µL do sobrenadante após a centrifugação + 2,5 mL do reagente de Bradford.

Após este processo os tubos manualmente foram agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Com 15 min de repouso as leituras foram realizadas no espectrofotômetro a 595 nm, contra o branco que encerra 100 µL de água + 2,5 mL do reagente de Bradford. As concentrações de proteínas solúveis totais foram estimadas a partir da curva-padrão construída com soro albumina bovina p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mg proteína/g MS.

Concentrações de Prolina (PRO): Foram pesados 50 mg de massa seca das raízes e das folhas (MS) em pó e, em seguida, levados para tubos de ensaio de 15 mL onde foram adicionados 5 mL de água destilada e colocados em —banho-marial durante 30 min a 100 °C. Após a extração, as amostras foram centrifugadas durante 20 minutos em centrífuga de bancada (1.000 rpm), logo após o processo de centrifugação, foram retirados 1 mL do sobrenadante coletado de cada amostra e transferido imediatamente para os tubos de ensaios, nos quais foram adicionados + 1,0 mL de ninhidrina ácida + 1,0 mL de ácido acético glacial (99,5%) (os tubos foram fechados hermeticamente) e agitados em vortex e colocados novamente em —banho-marial a 100° C por 1 hora.

Em seguida, a reação com banho de gelo e adicionando 2,0 mL de tolueno e agitado vigorosamente em vortex por 20 s (o tolueno extraiu a substância cromófora formando um complexo colorido = róseo para vermelho). Assim que atingiu a temperatura ambiente,

realizou-se o processo de aspiração com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de plástico a fase não-aquosa (cromóforo + tolueno = parte superior). A leitura foi efetivada em espectrofotômetro a 520 nm usando tolueno como branco. As concentrações de prolina foram determinadas a partir da curva-padrão com L-prolina p.a (Sigma) e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol prolina/g MS}$, utilizado-se o método descrito por (BATES; WALDREN; TEARE, 1973).

Concentrações de Glicina Betaína (GB): Foram transferidos 25 mg de massa seca das folhas e das raízes para tubos eppendorfs de 2 mL, sendo adicionados 2 mL de água destilada e agitado por 4 h no —shackerll a 25 oC (extração a frio), e centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos a 25 oC, após a centrifugação, foi coletado o sobrenadante para obtenção do extrato aquoso e descartado o precipitado. No eppendorfs de 2 mL foram adicionados 250 μL do extrato aquoso +250 μL de H_2SO_4 2N (diluição da amostra 1:2) e os eppendorfs permanecerão durante 1h no banho de gelo (na geladeira de - 0 a 4 oC), e adicionado 200 μL de KI-I2 gelado, mantido durante 16h a 0o C (banho de gelo na geladeira – 0 a 4 oC). O processo de centrifugação foi de 15 minutos, 10.000 rpm a 0o C. Foi eliminado o sobrenadante. Foi lavado o precipitado 2 vezes com 2 mL de H_2SO_4 1N gelado com centrifugações por 5 minutos, 10.000 rpm, 0 oC para cada lavagem (não agitar enquanto estiver lavando). Após as lavagens, foi dissolvido o precipitado em 3 mL de 1,2-dicloroetano agitando vigorosamente e realizando-se diluições 1:6 (diluição para a curva) ou testadas outras maiores (1:12, 1:24 ou 1:48 para as amostras - a diluição vai depender da quantidade de glicina-betaína precipitada). Assim, depois de 2 a 2,5 h de descanso, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 365 nm, usando-se água destilada + reagentes, como branco. Durante todo o ensaio foram mantidas as amostras entre as temperaturas de 0 oC a 4 oC. Para os cálculos, uma curva padrão de glicina-betaína foi preparada e os resultados foram expressos em $\text{mmol.Kg}^{-1} \text{ MS}$, sendo utilizado o método segundo (GRIEVE; GRATTAN, 1983).

Atividades da álcool desidrogenase (ADH) e Lactato desidrogenase (LDH): Para a extração das enzimas, os tecidos vegetais foram homogeneizados em meio extrator, com a seguinte composição em mol.m^{-3} : tampão Tris-HCl (pH 6,8), 50 ; Na^+ 110; EDTA, 1; tiamina pirofosfato (TPP), 0.5; Mg^{+2} , 2,5 e ditioneitol (DTT), 2. Em seguida, foram centrifugados a 20000 g por 10 minutos a 4 0C. Alíquotas de 100 mL do sobrenadante foram adicionadas à mistura de incubação específica para cada enzima, cujo volume final será de 3

mL. A mistura de incubação para a álcool desidrogenase foi composta em mol.m⁻³ por tampão Tris-HCl (pH 8,9), 50; ditioneitol (DTT) 2; bNAD 0,25; e 100 mL de etanol a 96%. A reação foi quantificada na direção da oxidação do etanol (BERTANI et al., 1980).

A mistura de incubação para a lactato desidrogenase foi composta em mol.m⁻³ por tampão Tris-HCl (pH 9,9), 50; glicina, 100; sulfato de hidrazina, 5; e 100 mL de lactato de sódio, 60. A reação foi quantificada na direção da oxidação do lactato (HOFFMAN; HANSON, 1986). Após três minutos a 25 °C, as 38 atividades das enzimas foram quantificadas a 340 nm, utilizando-se NAD + H⁺ como padrão.

Concentrações de amido (CA): Foi utilizado o método descrito por Dubois et al., (1956). Foi feita uma extração etanólica de 50 mg da massa seca das raízes e das folhas em 5,0 mL de etanol 80%, por 30 min a 80 °C), depois foi feita uma nova extração com 5,0 mL de HClO₄ 30% por 30 minutos a 25 °C. A partir da primeira e da segunda extração foram levadas para centrifugar (2000 rpm por 10 minutos) e coletados os sobrenadantes.

Os sobrenadantes de cada extração foram 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 H₂O destilada e posteriormente agitando-os em vortex, em seguida adicionando-se 0,5 mL de fenol 5% e agitando no vortex, logo depois foi adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado e novamente agitado os tubos em vortex e levado após 20 min de repouso ao espectrofotômetro a 490 nm. Para o cálculo das concentrações de amido foi utilizado uma curva-padrão de glicose e os resultados mmol de glicose/g de resíduo.

Concentrações de sacarose (SA): A determinação das concentrações de sacarose foi realizada segundo o método de Van Handel (1968). Foram pesados 30 mg de massa seca das raízes e das folhas, e homogeneizadas em tubos de eppendorf de volume de 2,0 mL, contendo 1,5 mL de solução de MCW (metanol, clorofórmio e água; 12:5:3 v/v/v), e agitado em agitador de massa durante 30 minutos a temperatura ambiente. O homogeneizado foi centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos e coletado o sobrenadante, e os resíduos foram novamente extraídos com igual volume de MCW, seguindo-se uma nova centrifugação e coleta dos sobrenadantes, na qual os mesmos foram reunidos para obtenção do extrato total.

A cada 2,0 mL do sobrenadante foram adicionados 0,5 mL de clorofórmio e 750 µL de água deionizada, seguindo-se sob agitação e centrifugação (2000 rpm, por 10') para a separação da fase aquosa. Após esse processo foi retirada com uma pipeta de Pasteur a fração aquosa

metanólica (superior) e transferida para tubos de ensaio, a partir daí os tubos com a fração aquosa metanólica foram levados ao banho-maria e aquecidos a 35o C por um período de 30 minutos a 45 minutos para evaporação do clorofórmio residual e então foi determinado o volume restante. A quantificação da amostra foi realizada tomando-se alíquotas de 100 µL da fase aquosa adequadamente diluída adicionando 100 µL de KOH 30%. Após a vigorosa agitação a mistura foi aquecida a 100 0C por 10 minutos e, após resfriamento, foi adicionado imediatamente 3,0 mL de solução de antrona 0,2 %, em ácido sulfúrico e a mistura ficou sob agitação e aquecida a 40 0C por 20 minutos. Após resfriamento, as amostras foram agitadas por 10 segundos e foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 620 nm. Para os cálculos, uma curva padrão de sacarose foi preparada e os resultados serão expressos em mg de sacarose/g MS.

Concentrações de carboidratos solúveis totais (CST): Foi utilizado o método de Dubois et al., (1956). Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das raízes e das folhas, e colocadas em tubos de ensaio de 15 mL e homogeneizados com 5 mL de água destilada e colocados em banho-maria por 30 min a 100 oC. Os tubos de ensaio supracitados foram retirados do —banho-maria e levados para extração das amostras através da centrifugação em centrífuga de bancada (1.000 rpm) durante 10 minutos, em que, foram retirados uma alíquota de 100 mL do sobrenadante (realizando o teste de diluição) junto com 400 mL de H₂O em tubos de ensaio e sob agitação e homogeneização através do vortex.

Depois disso, foram adicionados 0,5 mL de fenol 5% e agitando novamente vortex e adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado. Assim, foram agitados os tubos e colocados na bancada para repouso por 20 minutos e sua leitura foi feita no espectrofotômetro a 490 nm, tendo como o branco a utilização de água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes, que foram colocados na seguinte proporção de 0,5 mL de água destilada + 0,5 mL de fenol 5% + 2,5 mL de H₂SO₄. Para o cálculo das concentrações de carboidratos solúveis totais foi utilizado uma curva-padrão de glicose e os resultados serão expressos mmol de glicose/ g MS.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%, os gráficos foram elaborados pelo programa Sigma Plot 12.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variáveis ambientais

As variáveis ambientais Tar, Tmax, Ur e RFA variaram significativamente entre os diferentes dias do experimento, independente do tratamento, com médias registradas foram respectivamente de 30,64°C e 32,67°C (Tar), e 32,32°C e 34,60°C (Tmax), as menores médias de Tar e Tmax foram registradas aos 7 e 14 dias do experimento. A UR variou de 80,44% no dia 0, a 73,44 % aos 28 dias, final do experimento. A RFA variou de 311,11 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a 459,94 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ respectivamente aos 28 e 21 dias.

Potencial hídrico foliar, conteúdo relativo de água, condutividade hidráulica, condutância estomática, e transpiração.

No dia 0 não foi registrada diferença significativa nos valores registrados entre as plantas controle e alagadas nas variáveis potencial hídrico do xilema antemanhã, potencial hídrico do xilema foliar, conteúdo relativo de água, e condutividade hidráulica. O potencial hídrico do antemanhã nas plantas controle e sob alagamento variou na amplitude, de -0,27 MPa a -0,40 MPa, registrando decréscimos contínuos nas plantas estressadas quando comparadas com as irrigadas, exibindo valores de 3,67%, 33,58%, 35,25% e 47,79% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 1: A). O potencial hídrico do xilema foliar variou de -0,82 Mpa (controle) a -1,85 Mpa (alagadas), registrando decréscimos contínuos nas plantas alagadas aos 7, 14, 21 e 28 dias, da ordem de 75,61%, 89,92%, 91,78% e 120,28 % (figura 1: B). O conteúdo relativo de água apresentou valores médios no controle de 91,07% e exibiram continuamente diminuição nas plantas alagadas em todos os dias do experimento, em relação ao controle, da ordem de 0,94%, 7,19%, 9,95%, e 10,29% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (figura 1: C). A condutividade hidráulica apresentou nas plantas controle e alagadas os valores de 0,31 $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e 0,01 $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, respectivamente, exibiram decréscimo contínuo de valores nas plantas estressadas em relação ao tempo de alagamento, ao final do experimento foi registrado o decréscimo de 97,80% nas plantas alagadas quando comparadas ao controle (Figura 1: D).

As variáveis, resistência estomática, fotossíntese, condutância estomática e transpiração apresentaram valores médios parecidos na primeira medição (dia 0) não diferindo

significativamente nos tratamentos controle e alagado. A fotossíntese apresentou valores médios de $8,40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas controles e uma variação de $8,53 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a $2,49 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ aos 7 e 28 dias do experimento, exibiu valores de fotossíntese sempre menores que as controle e em relação aos dias estressados, cujos decréscimos percentuais correspondem á 28,50%, 34,33%, 64,08% e 69,93% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias.

A condutância estomática demonstrou diferença significativa de valores em relação aos tempos e tratamentos, da ordem de $0,31 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a $0,28 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas controladas e $0,23 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a $0,02 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas alagadas, exibiu continua redução de valores no tratamento alagados, expressos percentualmente em 23,33%, 49,66%, 77,78% e 80,77% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias (Figura 1: E). A transpiração exibiu valores médios da ordem de $7,58 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas controle e $4,89 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nas plantas alagadas, a transpiração apresentou valores médios continuamente decrescentes com o tempo de alagamento, exibindo valores percentuais de decréscimo da ordem de 16,41%, 25,66%, 43,51%, e 56,45% respectivamente aos 7, 14, 21 e 28 dias de alagamento (Figura 1: F).

O decréscimo de potencial hídrico do xilema foliar constatado em outros experimentos de plantas sob alagamento por Islam; Macdonald (2004); Folzer et al. (2006); Islam et al. (2010); Gimeno et al. (2012); Alves, et al. (2012), Andrade Junior (2013) tem sido atribuído à diminuição da respiração aeróbia e conseqüentemente a queda de energia (TAIZ; ZEIGER, 2013), o que levaria a redução na quantidade de pêlos e do sistema radicular (ALVES, et al., 2012) e ao espessamento da membrana celular que aumentaria a resistência ao fluxo de água, e conseqüentemente na menor absorção de água pelas raízes (PRYOR, 2006).

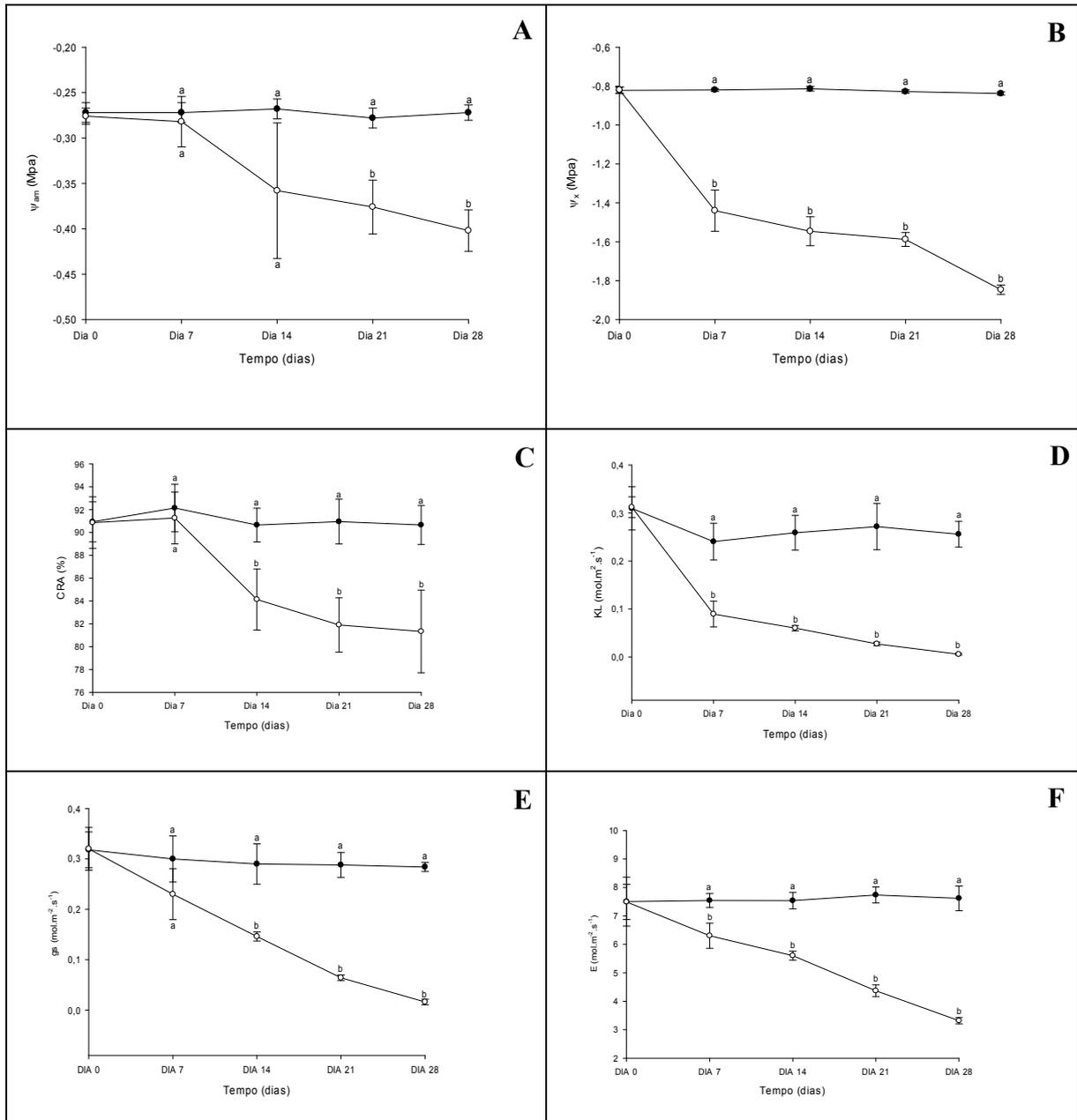


Figura 1. Potencial hídrico do antemanhã (ψ_{am} : A), Potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x : B), Conteúdo relativo de água (CRA: C), Condutividade Hidráulica (K_L : D), Condutância estomática (g_s : E) e Transpiração (E: F) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

A redução do potencial hídrico do xilema foliar de *C. grandiflora* já tinha sido observado por Islam; MaC Donald, (2004) em *L. laricina*, Gilmeno et al., (2012) em *J. curcas*, Alves, et al., (2012) em *T. serratifolia*, Andrade Junior (2013) em *P. gigantocarpa* que atribuem essa redução, provavelmente á diminuição da respiração aeróbia e consequentemente a queda de energia, redução na quantidade de pêlos e do sistema radicular (TAIZ; ZEIGER, 2013), o espessamento da membrana celular que aumentaria a resistência ao fluxo de água, e consequentemente na menor absorção de água pelas raízes (PRYOR, 2006). Em *C. gradiflora*

a redução do potencial hídrico do xilema foliar foi constante nas plantas alagadas, que pode ser explicado pela redução do comprimento das raízes, todavia, essa tendência de redução do potencial hídrico não foi superada pelo surgimento das raízes adventícias, que também ocorreu nas plantas controle, ou o surgimento de lenticelas hipertróficas e rachaduras caulinares nas plantas alagadas.

A diminuição da transpiração pela saturação de água no solo pode estar relacionada com o decréscimo da condutividade hidráulica das raízes ou a redução do crescimento e morte de raízes, que causariam queda no Ψ_x em função da menor absorção de água (FRANCO; LÜTTGE, 2004). As taxas transpiratórias apresentaram continuamente valores decrescentes com a evolução dos tempos, os menores valores foram observados aos 21 e 28 dias (Figura 1: F), em comportamento totalmente independente das variáveis ambientais, o que permite indicar que a condutância estomática e conseqüentemente a transpiração não sofreram influência da Tar ou UR. Redução significativa na respiração também foi observada em plantas jovens de *T. serratifolia* aos 9 dias de alagamento (ALVES et al., 2012) e Andrade Junior (2013) em *P. gigatocarpa* aos 16 dias de alagamento. O conteúdo relativo de água foi superior nas folhas das plantas controle quando comparado ao tratamento, que sugere estar relacionado com o fechamento dos estômatos, provocado por alterações metabólicas, esse resultado concorda com Coelho et al (2013) em experimento com plantas de milho, no entanto, difere do encontrado por Freitas et al. (2007) em açaizeiros sob alagamento.

Plantas submetidas ao alagamento relatam respostas de redução da taxa fotossintética, condutância estomática e respiração, como em *B. gasipaes* (CARVALHO E ISHIDA, 2002), *G. americana* (MIELKE et al, 2003), *C. pachystachya* (BATISTA et al, 2008), *T. cacao* , BERTOLDE et al. 2012) *L. sericeus* (LIRA et al, 2013) e *G. Spruceana* (GONÇALVES et al, 2013)., por outro lado, Lira et al (2013) observaram redução de 48,20% da taxa fotossintética em *L. sericeus* e Gonçalves et al. (2013), 51% em relação à fotossíntese máxima de *G. Spruceana*, a maioria desses estudos correlacionam a atividade fotossintética com a condutância estomática, o que também foi observado em *C. grandiflora* correlação significativa em nível de 1% entre A e gs (tabela 1).

Correlação entre variáveis fisiológicas

Visando estabelecer se as variáveis fisiológicas estão correlacionadas foi realizada análise de correlação de Pearson cujos resultados estão configurados na tabela 1.

No alagamento o aparato fotossintético pode ser prejudicado em função do fechamento dos estômatos, e pode provocar variações na respiração aeróbia, no nível nutricional e na fotossíntese podendo afetar o crescimento e desenvolvimento das diferentes partes da planta em ambientes alagados, tornando a sobrevivência da planta dentre outras variáveis, dependente de um balanço na distribuição de fotoassimilados entre as suas várias partes (WIEDENROTH, 1993; ARMSTRONG; BRAENDLE; JACKSON, 1994).

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (A), Transpiração (E), Conteúdo relativo de água (CRA), Resistência estomática (Rs) Potencial hídrico do antemanhã (Ψ_{am}), Potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Condutância Estomática (gs), e condutividade hidráulica (K_L) de *C. grandiflora* Splitz., nos tratamentos, controle e alagado por 28 dias.

Tratamento		Variáveis fisiológicas			
		A	CRA	E	Rs
Controle	Ψ_{am}	-0,343 ^{ns}	-0,145 ^{ns}	-0,233 ^{ns}	0,197 ^{ns}
	Ψ_x	-0,014 ^{ns}	0,075 ^{ns}	0,020 ^{ns}	-0,217 ^{ns}
	gs	0,118 ^{ns}	0,211 ^{ns}	-0,048 ^{ns}	-0,996 ^{**}
	K_L	0,155 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,061 ^{ns}	-0,765 ^{**}
Alagado	Ψ_{am}	0,741 ^{**}	0,793 ^{**}	0,773 ^{**}	-0,772 ^{**}
	Ψ_x	0,866 ^{**}	0,685 ^{**}	0,881 ^{**}	-0,771 ^{**}
	gs	0,895 ^{**}	0,799 ^{**}	0,955 ^{**}	-0,934 ^{**}
	K_L	0,846 ^{**}	0,655 ^{**}	0,848 ^{**}	-0,729 ^{**}

* significativa a 5% ($p < 0,05$)

** significativa a 1% ($p < 0,01$)

Nas plantas controle foi verificada correlação negativa em nível de 1% ($p < 0,001$) entre resistência estomática, condutividade hidráulica e condutância estomática. Nas plantas alagadas houve significativa interação positiva entre A, CRA, E, Ψ_{am} , Ψ_x , gs e K_L e, significativamente negativa com a resistência estomática. Taiz e Zeiger, (2013), afirmam haver uma correlação positiva entre a gs e E, desse modo assim, a diminuição do Ψ_x no tecido foliar, pode ter causado o fechamento estomático e, conseqüentemente, a redução da gs (Figura 1: E), que diretamente influenciou na diminuição da E (Figura 4: F) em *C.*

grandiflora. Horchani et al. (2010) e Martinazo et al (2013) correlacionaram a redução das taxas transpiratórias, devido a diminuição da condutância estomática, respectivamente em *S. lycopersicum* e *P. salicina* expostas a anóxia. A interação significativamente positiva da condutância hidráulica com a fotossíntese, conteúdo relativo de água e transpiração, e significativamente negativa com a resistência estomática, permitem inferir que a diminuição da KL pode ter influenciado na redução do potencial hídrico do xilema foliar, e no fechamento estomático de *C. grandiflora*.

Concentrações de nitrato (CN) e atividade da redutase do nitrato (RN)

As CN apresentaram decréscimos significativos em nível de $P < 0,001$, entre os tratamentos, continuamente entre os tempos de exposição ao estresse (Figura 2: A, B). A variação de valores das plantas controle e alagadas entre o primeiro e último dia experimental foram de redução de 0,47 para 0,13 $\mu\text{moles de NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ nas folhas (Figura 2: A), e de 0,63 para 0,14 $\mu\text{moles de NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ na região da raiz (Figura 2: B) resultando uma redução de 71,40% (folha) e 77,22% (raiz). Aos 21 dias de experimento registrou-se o maior decréscimo, na folha 0,117 $\mu\text{moles de NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, e 0,113 $\mu\text{moles de NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$ na raiz.

As RN apresentaram redução significativa na raiz das plantas alagadas, o que, no entanto, não ocorreu na folha (Figura 2: C e D). Os valores obtidos para a raiz mostraram efeitos significativos contrários entre os tratamentos e para os períodos de exposição em nível de 1%. Na folha houve interação, não se registrando diferença significativa entre os regimes hídricos e os tempos de avaliação nos teores das plantas alagadas e controladas.

Nas folhas de plantas controle e alagadas a RN foi respectivamente de 0,40 e 0,37 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$, com redução de 6,66% nas plantas alagadas em comparação ao controle (Figura 2: C), na região da raiz variou de 0,66 e 0,46 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$, respectivamente, com redução de 29,95% nas plantas alagadas, comparadas ao controle (Figura 2:D).

Esses resultados de decréscimo para as concentrações de nitrato são semelhantes aos que foram observados por Oliveira Neto (2010), Alves et al. (2012), em respectivamente *H. combaril*, *T. serratifolia*, todavia diferem em relação aos resultados da redutase do nitrato, que apresentam semelhante aos obtidos por Andrade Junior (2013) em *P. gigantocarpa*.

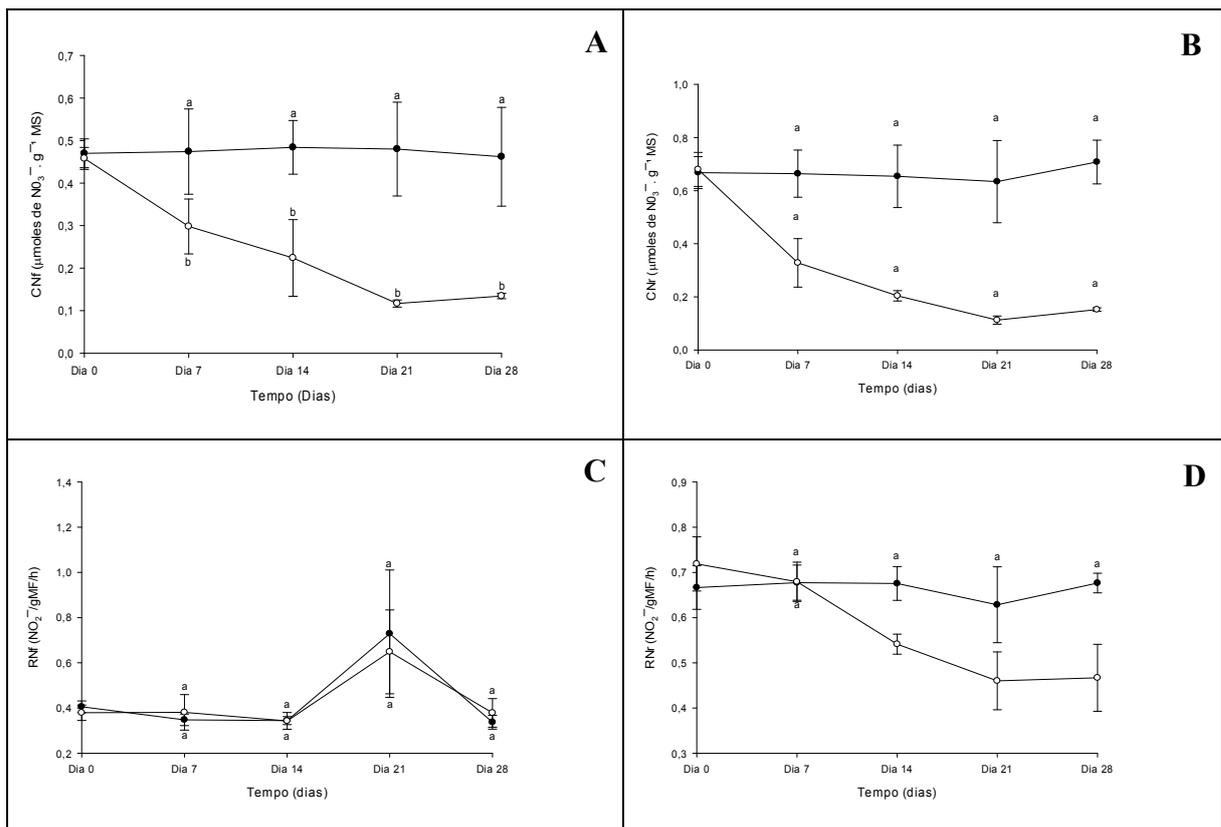


Figura 2. Concentração de nitrato (CNf; A), (CNr; B) e atividade da redutase do nitrato (RNf; C), (raiz; D) de *C. grandiflora* Spltz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

Estudos apontam que o alagamento do solo provoca redução do oxigênio para o sistema de raiz, o que contribuiria para a redução da respiração das raízes e, como consequência, haveria mudança da rota aeróbia para anaeróbia, resultando na menor síntese de ATP (PARENT et al., 2008). Oliveira Neto (2010) e Horchani e Aschi-Smiti (2010) verificaram redução significativa de NO₃⁻ nas plantas jovens de *S. Lycopersicum* e *H. coubaril* sob hipóxia. Em *T. serratifolia* submetidas ao alagamento, Alves et al. (2012) indicaram que esse processo deve ter interferido na absorção de NO₃⁻ ocasionando redução significativa deste composto nitrogenado na raiz e consequentemente nas folhas.

A redutase do nitrato (RN) é a enzima chave no processo global de assimilação de NO₃⁻ pelas plantas (BRANDÃO; SODEK, 2009; HORCHANI; ASCHI-SMITI, 2010). O NO₃⁻, principal forma nitrogenada absorvida pelas raízes, em condições de normóxia, pode ser armazenado no vacúolo e isso representaria a maior parte do nitrato endógena (BRANDÃO; SODEK, 2009) ou reduzido a NO₂⁻ (esse processo ocorre no citoplasma) pela atividade da redutase do nitrato. A ativação ou desativação da redutase do nitrato é altamente regulada por meio de sua

degradação, ativação ou inativação (ALLÈGRE et al., 2004) por mecanismo de fosforilação e desfosforilação, a ativação está relacionada com a sua dissociação da proteína 14-3-3, assim como a sua desfosforilação (BUCHANAN et al., 2001). A fosforilação da redutase do nitrato no resíduo serina é o passo inicial para a inativação da enzima e a inativação completa ocorre quando a forma fosforilada se associa com a proteína 14-3-3 e Mg^{2+} . Em plantas de *L. esculentum* Allègre et al. (2004) observaram predomínio da forma desfosforilação da RN, diminuição da quantidade total do complexo RN e proteína 14-3-3 e, conseqüentemente, aumento da atividade desta enzima em relação ao controle.

O alagamento em *C. grandiflora*, causou diminuição acentuada da RN, no entanto sem afetar-lhes a sobrevivência, todavia, permitindo inferir que a saturação de água no solo, pode ter provocado aumento do fosfato inorgânico em função da queda de ATP e promovido a fosforilação da RN, favorecendo a sua ligação com a proteína 14-3-3 o que causou diminuição da atividade dessa enzima. Azcon; Tobar, (1998) associaram o aumento da RN com a tolerância ao alagamento, todavia, tal não ocorreu em *C. grandiflora*.

Em *C. grandiflora* a redução observada da RN em folhas e raízes das plantas alagadas pode estar relacionada à baixa translocação do NO_3^- a partir da raiz (ALAOUI-SOSSE et al., 2005), que demonstraram dependência da RN pela quantidade de NO_3^- trazida pelo fluxo transpiratório, provavelmente, pela redução do potencial hídrico do xilema foliar, da condutância estomática, transpiração, conteúdo relativo de água, e da condutividade hidráulica (Figura 1) nas plantas alagadas.

Concentração de amônio livre (CAL) e atividade da glutamina sintetase (GS).

As concentrações de amônio livre apresentaram diferença significativa em nível de 1% ($P < 0,01$) entre os tratamentos, entre os tempos de avaliação e interação entre fatores. Na região da folha e da raiz de plantas controle e alagadas os valores respectivamente observados foram de 0,6 a 0,34 mmoles de NH_4^+ /Kg de MS, respectivamente (Figura 3: A), ocasionando uma redução de 42,93%, e nas raízes os valores foram de 0,60 a 0,52 mmoles de NH_4^+ /Kg de MS, que demonstra uma redução de 13,17%% (Figura 3: B). Houve uma redução drástica no dia 21, nas folhas e raízes alagadas que apresentaram valores de 0,11 mmoles de NH_4^+ /Kg de MS, porém com tendência de se estabilizar á partir do 28º dia.

A atividade da GS em folhas e raízes de plantas alagadas em relação as controladas (Figura 3: C e D) apresentou diferença significativa ($P < 0,001$) entre os tratamentos, entre o período de avaliação, e entre estes fatores. Na região da folha e raiz, respectivamente foram observados os valores de 25,33 e 16,0 mmoles GGH.Kg-1MS, com redução de 36,57% nas folhas (Figura 3: C), e nas raízes variou de 23,28% para 16,99 com redução de 26,99% (Figura 3: D).

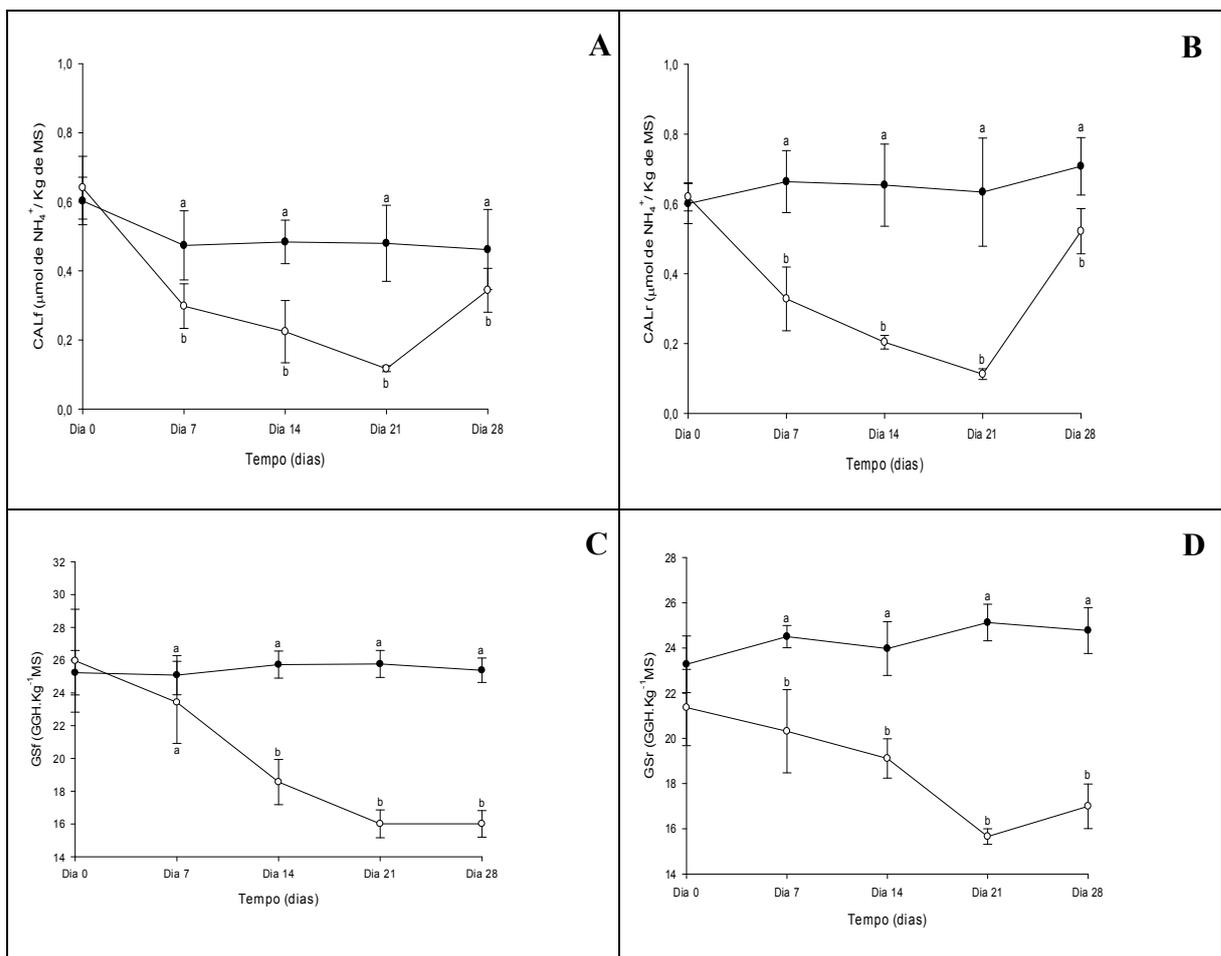


Figura 3. Concentração de amônia (folha; A), (raiz; B) e glutamina sintetase (folha; C), (raiz; D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

Em *C. grandiflora* o decréscimo dos teores de amônio pode ser explicado provavelmente pela redução da GS, que se infere da afirmação da existência de uma forte relação entre atividade da GS e o acúmulo de íons amônio nos tecidos da planta (CHIEN et al., 2000), o aumento do teor de amônia também pode ser explicado pela diminuição da desidrogenase do glutamato (GDH)/NADH que deixaria de catalisar a incorporação da NH₄⁺ em forma orgânica. O íon

NH_4^+ na planta pode ter se originado da fotorrespiração, do catabolismo de compostos nitrogenados, especialmente os aminoácidos e pela desaminação (DEBOUBA et al., 2007).

Horchani e Aschi-Smiti (2010), Oliveira Neto (2010) em *S. Lycopersicum* e *H. coubaril* registraram aumento significativo de amônia, nas raízes e nas folhas, e associaram o aumento da NH_4^+ a diminuição da GS. Horchani e Aschi-Smiti (2010) também relacionaram o acúmulo da NH_4^+ ao aumento da atividade da GDH e sugeriram que o acréscimo desta enzima, induzida pela NH_4^+ , poderia ser importante na desintoxicação da NH_4^+ e restabelecimento dos níveis do glutamato que é fundamental para a síntese de osmoprotetores, como a prolina e a glicina betaína. Concordando com os resultados obtidos para *C. grandiflora*, Alves et al. (2012) observaram redução dos teores de amônio livre em *T. serratifolia*, no entanto Gimeno et al. (2012) trabalhando com plantas jovens de *J. curcas* submetidas ao alagamento por 10 dias, não evidenciaram diferenças significativas de NH_4^+ nas folhas e raízes de plantas alagadas em relação ao controle.

A redução acentuada da atividade da GS nas plantas alagadas de *C. grandiflora* pode está relacionada à menor disponibilidade de ATP, pois esta enzima é fortemente dependente da energia proveniente do ATP fosforilado em nível de substrato, produzido na via glicolítica, do ATP produzido na fosforilação oxidativa mitocondrial e do ATP produzido durante a atividade fotossintética nas folhas, no entanto, para Taiz; Zeiger (2013) a GS é uma enzima precursora na formação de todos os aminoácidos na raiz e folhas de plantas superiores.

Foi observada a redução significativa da atividade de GS nas plantas alagadas em *H. courbaril* (Oliveira Neto, 2010) e *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012) nas raízes e folhas, atribuíram o decréscimo da atividade desta enzima a menor síntese de ATP nos tecidos celulares, que para Horchani e ASCHI-Smiti, (2010) em plantas submetidas à deficiência de oxigênio também tem sido associada à diminuição da sintase do glutamato (GOGAT) e consequentemente do glutamato, no cloroplasto ou nos plastídios celular

Para Horchani; Aschi-Smiti (2010) a diminuição da atividade da GS na folha pode estar relacionada à redução do glutamato, que deve ter sido utilizado para a síntese de prolina e glicina betaína, como alternativa para a manutenção do metabolismo e ajustamento osmótico, no entanto, Masclaux-Daubresse et al. (2010) afirmaram que principal rota de assimilação da NH_4^+ nas plantas se dá por meio da atividade da GS, visto que a GS, dependente de ATP,

catalisa a união do NH_4^+ com ácido glutâmico para formar a glutamina, para Okumoto; Guillaume, (2010) este aminoácido é a principal fonte de nitrogênio orgânico transportado das raízes para as folhas através do xilema para a biossíntese de todos os compostos nitrogenados. Com efeito, de indica que a redução da GS em *C. grandiflora* levaria simultaneamente ao acúmulo de NH_4^+ e a redução de compostos nitrogenados, como os aminoácidos e PST.

Concentração de aminoácidos solúveis totais (AST) e proteínas solúveis totais (PST)

As concentrações de AST (Figura 4: A e B) e PST (Figura 4: C e D) variaram contrariamente, nas plantas alagadas quando comparadas com as plantas controladas, houve aumento de concentrações AST e diminuição de PST. As concentrações de aminoácidos solúveis totais em folhas e raízes de *C. grandiflora* variaram significativamente ($P < 0,001$) entre os regimes hídricos e entre os tempos, assim como a interação entre os tratamentos e os períodos de avaliação. Na região da folha e raiz, das plantas alagadas e controladas foram observados respectivamente concentrações de 50,95 μmol de AA/g MS e 66,52 μmol de AA/g MS (figura 4: A), com aumento de 130,55%, nas raízes (Figura 4: B) foram obtidos valores de 35,94 e 56,14 μmol de AA/g MS com aumento de 156,18%.

Nas concentrações de PST foram evidenciadas diferença significativa ($P < 0,001$) entre os tratamentos, e entre os tempos de avaliação, com evidencia de interação entre estes fatores. Na região da folha e da raiz das plantas controle em relação às alagadas, a concentração variou respectivamente de 2,65 e 0,72 mg de proteína g-1 MS com redução de 72,67% (Figura 4: C) , e de 2,26 mg de proteína g-1 MS para 0,77 mg de proteína g-1 MS, com redução de 65,66% (Figura 4: D).

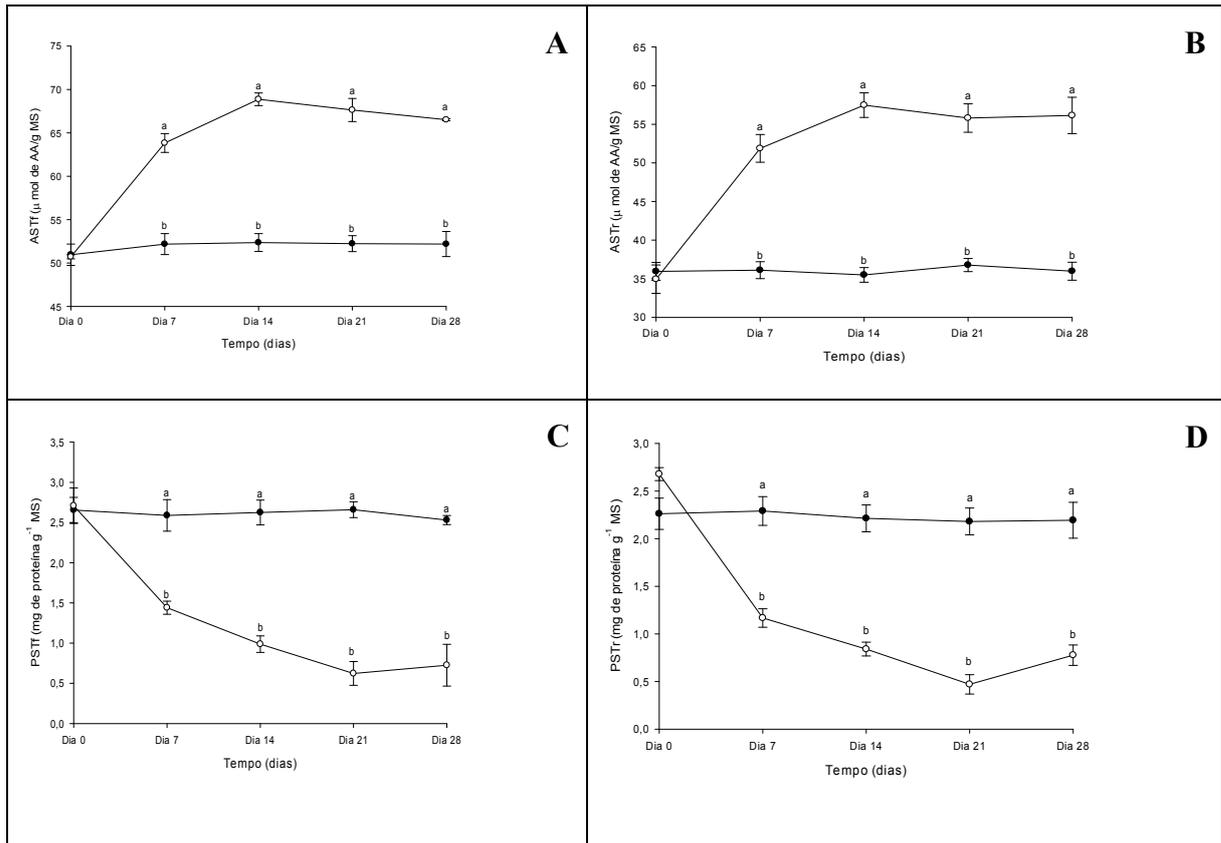


Figura 4. Concentração de aminoácidos solúveis totais (folha; A), (raiz; B) e proteínas solúveis totais (folha; C), (raiz; D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

Em *C. grandiflora* o aumento observado na concentração de AST pode ser explicado pela correlação positiva ($P < 0,001$) com a prolina tanto na flha quanto na raiz (Tabela 3), contrariamente, Oliveira Neto (2010) e Alves et al (2012) verificaram reduções significativas de AST e PST em raízes e folhas de *H. courbaril* alagadas por 30 dias, e *T. serratifolia* alagadas por 9 dias, todavia, associaram este resultado a diminuição da atividade da GS.

Alguns estudos como de Kreuzwieser (2009) sugerem que a redução dos aminoácidos em plantas sob alagamento se deve frequentemente a mudanças dinâmicas dos níveis transcricionais que codificam enzimas envolvidas no seu metabolismo, todavia, a redução dos aminoácidos ocorridos em *H. coubaril* e *T. serratifolia* podem ter ocorrido, em função do alagamento nas plantas ter provocado queda na síntese de ATP, resultando na menor absorção de nitrato, principal forma de nitrogênio absorvido pela planta e elemento essencial para a formação de aminoácidos.

Segundo Bailey-Serres e Chang. (2005) plantas submetidas a baixa disponibilidade de oxigênio, normalmente reduzem a síntese de proteínas, em função da inibição de certas enzimas, sintetizando apenas proteínas relacionadas ao alagamento, como, a ADH e a LDH. O alagamento também pode ter causado a ativação de enzimas proteolíticas que degradam as proteínas de reservas das plantas liberando aminoácidos, os quais sofrem interconversão para biossíntese de aminoácido específico (REGGIANI et al., 2000), essas afirmações corroboram com os resultados de redução de PST verificados em plantas alagadas de *C. grandiflora*.

O aumento da AST pode parecer estar relacionadas a capacidade da planta em sintetizar proteínas em condições de anoxia com a manutenção de carga energética de adenilato, que manteria o ATP para suprir a demanda de energia utilizada no processo de crescimento, no entanto, a redução da PST pode ser atribuída á queda de ATP, diminuição do metabolismo do nitrogênio e redução de fotoassimilados para respiração celular.

Concentração de prolina (PRO) e glicina betaína (GS)

As concentrações de prolina e glicínia betaina aumentaram significativamente na folha e raiz de plantas alagadas quando comparadas com as plantas controladas (Figura 6: A, B, C, D). Os resultados demonstraram diferença significativa ($P < 0,001$), entre os regimes hídricos, e entre os tempos do experimento, e interação entre estes fatores. Em folha e raiz das plantas controladas em relação ás alagadas, as concentrações variaram nas folhas de 1,36 para 6,2 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}\text{ MS}$, com aumento de 356,78% (Figura 6: A) , na raíz foram encontrados valores que variaram de 1,26 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}\text{ MS}$ para 7,14 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}\text{ MS}$, um acréscimo de 463,74% (Figura 6: B)

Em glicina-betaína o evidenciou-se diferença significativa ($P < 0,01$) entre os tratamentos, entre os tempos de avaliação, e interação entre estes fatores (Figura 6: C e D). Na região da folha e raiz das plantas controle e alagadas, os valores variaram nas folhas de 4,68 e 6,32 $\mu\text{g glicina-betaína. g}^{-1}\text{ MS}$, com aumento de 35,07% , e, em raíz os valores variaram de 6,55 e 8,09 $\mu\text{g glicina-betaína. g}^{-1}\text{ MS}$, com aumento de 23,48%.

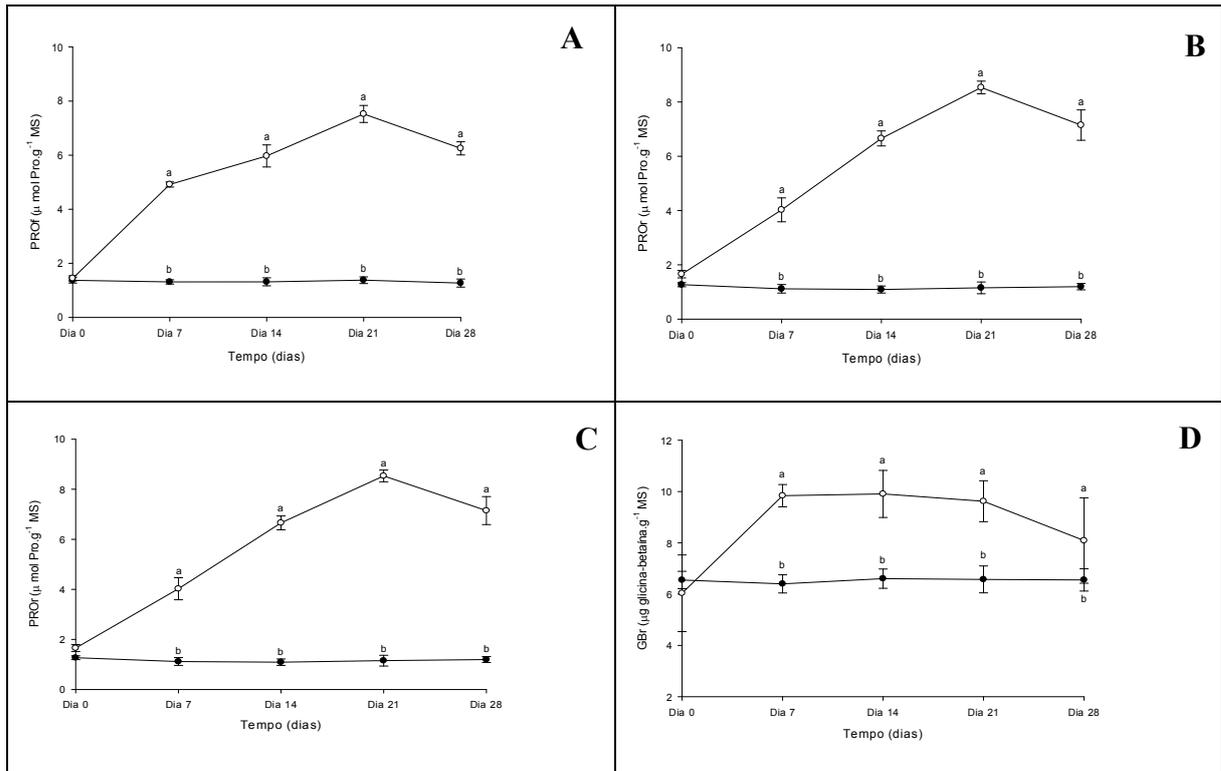


Figura 5. Concentração de prolina (folha; A), (raiz; B) e glicina betaína (folha; C), (raiz; D) de *C. grandiflora* Spltz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

Em *C. grandiflora* alagada com excessão de RNf, RNr e GBF ocorreu correlação significativa em nível de 1%, indiretamente entre prolina com CAf, CAr, CNf, CNr, CALf, CALr, GSF, GSr, PSTf e PSTr, e diretamente com ASTf, ASTr, GBr, LDHf, LDHr, ADHf, ADHr, SAF, SAR, CSTf, CSTr (Tabela 3). Assim, nas plantas sob alagamento, o aumento ou redução dessas concentrações, ou a degradação de proteínas por enzimas proteolíticas, pode ter sido responsável pelo alto teor de prolina livre, que são importante na proteção de estruturas celulares contra danos oxidativo causados pelos radicais livres (KAVI KISHOR et al., 2005). Por acréscimo o aumento da prolina pode ter servido como fonte de carbono e nitrogênio para o crescimento da planta (SILVA-ORTEGA, et al., 2008) ou por ser um aminoácido osmoprotetor pode ter ajudado a diminuir o potencial hídrico dos tecidos, evitando a desidratação. Os resultados obtidos em *C. grandiflora* guardam semelhança com os trabalhos realizados por Horchani et al. (2010) em *S. lycopersicum*, Oliveira Neto (2010) em *H. coubaril*, Andrade Junior (2013) em *P. gigantocarpa* e Silveira (2015) em *S. membrannifolia*, no entanto esses resultado diferem de Alves (2010) em *T. serratifolia*.

Além de seu papel como osmoprotetor em espécies de plantas tolerantes ao estresse ambiental (REZAEI; KAVIANI; KHARABIAN, 2012) a Gb tem sido relacionada com a proteção do aparato fotossintético, como a manutenção do complexo do fotossistema II, estabilização da estrutura das proteínas extrínsecas do complexo PSII e a manutenção da síntese de ATP, assim como a proteção das membranas celulares e ativação de certas enzimas (RAHMAN et al., 2002). Também tem sido relatado que a Gb pode ser utilizada em rota metabólica, para formação de compostos relacionados a síntese de etileno e da molécula do piruvato, além de servir como fonte de carbono (MUNÔZ-CLARES; VELASCO-GARCIA, 2004).

No alagamento de *C. grandiflora* foi evidenciada significativa correlação ($P < 0,001$) direta entre GBr com PROf e PROr, e inversamente com CAf, CAr, A, ψ_x e K_L (Tabela 3). O aumento da GB em *C. grandiflora* pode ter contribuído para o acúmulo de prolina, também parece estar também relacionada ao ajustamento osmótico do hialoplasma de plantas submetidas a situações de estresse (JALEEL et al., 2007), assim, o acúmulo da Gb contribuiria para a redução do Ψ_x celular durante os períodos de estresse osmóticos (TAIZ; ZEIGER, 2013), favorecendo a absorção e transporte de água do solo à parte aérea da planta, podendo, proteger os tecidos das plantas e os processos fisiológicos. O aumento nas concentrações de Gb pode ser explicado provavelmente pela biossíntese de aminoácidos devido a quebra das proteínas e do aumento das concentrações de amônia vindo, possivelmente, da fotorrespiração e processos de desaminações.

Atividades lactato desidrogenase (ADH) e da álcool desidrogenase (ADL)

O alagamento apresentou aumentos diretamente significativos ($P < 0,001$) na atividade da ADH e LDH em folhas e raízes quando comparados com o controle (Figura 6: A, B e C, D) diferença significativa entre as condições hídricas, entre o tempo de exposição, e de interação entre esses fatores.

Na folha e raiz das plantas controladas em relação às alagadas, a atividade da LDH variou nas folhas de 2,07 e 5,06 moles de NADH H⁺ Kg⁻¹ de proteínas min⁻¹, com um acréscimo de 144,83%, nas raízes a atividade da enzima nas plantas controle e alagado variaram de 3,23 e 5,34 moles de NADH H⁺ Kg⁻¹ de proteínas min⁻¹, um aumento de 65,16% nas plantas alagadas em comparação ao controle.

Na folha e raiz das plantas controladas quando comparadas com as alagadas, a atividade da ADH foi de 2,36 e 5,69 moles de NADH H⁺ Kg⁻¹ de proteínas min⁻¹, com um acréscimo de 140,49% em relação a planta controle, nas raízes a atividade da enzima nas plantas controle e alagado foram de 3,36 e 6,04 moles de NADH H⁺ Kg⁻¹ de proteínas min⁻¹, um aumento de 79,82%.

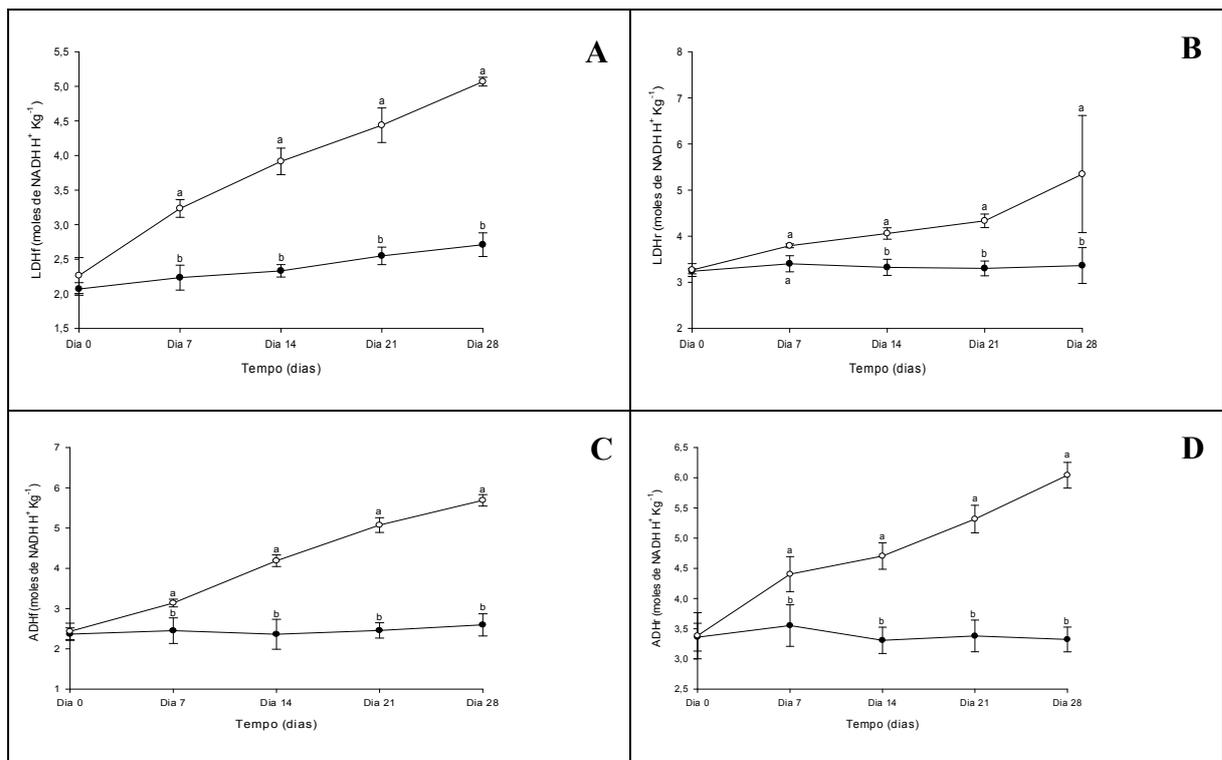


Figura 6. Atividades lactato desidrogenase (folha; A), (raiz; B) e da álcool desidrogenase (folha; C), (raiz; D) de *C. grandiflora* Splitz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey (p < 0,05)

Em condições de anóxia, ocorre a diminuição ou parada da respiração aeróbica, uma vez que cessa o transporte de elétrons. A fosforilação oxidativa nas mitocôndrias e o ciclo do ácido tricarboxílico deixam de operar, havendo queda na síntese de ATP (ZABALZA et al., 2009; ALVES et al., 2012; ASHRAF., 2012). Nesta circunstância a sobrevivência das plantas ocorre caso consigam alterar o seu metabolismo energético, de modo que a manutenção da síntese de ATP e a reciclagem do poder redutor passam a ser obtidos, predominantemente, por meio do processo fermentativo. O aumento das atividades das enzimas fermentativas como a ADH e LDH como ocorreu em *C. grandiflora*, tem sido relacionadas à adaptação metabólica das plantas sob alagamento do solo (DREW, 1997)

As enzimas ADH e LDH, e conseqüentemente, o etanol e o lactato são importantes para a regulação do pH citoplasmático em plantas sob alagamento. As raízes, inicialmente realizam a fermentação láctica por meio da atividade da enzima LDH que transforma piruvato, produzido na glicólise, a lactato, que contribui para a redução do pH, resultando na acidificação citossólica, o que pode causar a morte celular se não for controlada (BAILEY- SERRES; CHANG, 2005). Entretanto, em pH ácido ocorre inibição da própria LDH e ativação da PDC (piruvato descarboxilase) que converte o piruvato a acetaldeído, e este por conseguinte, é convertido a etanol através da atividade da ADH (BAILEY-SERRES & VOESENEK, 2008).

A elevada atividade da ADH em níveis crescentes, com o tempo de exposição ao alagamento (Figura 6: A e B), permite inferir que a *C. grandiflora*, requer, além de outros mecanismos, a utilização rápida e permanente da via fermentativa como forma de manutenção do metabolismo, regeneração do poder redutor e produção de ATP. Possui, portanto, uma eficiente respiração anaeróbica quando submetida a saturação de água nas raízes.

A alta atividade da LDH, e conseqüentemente, do lactato, seria um mecanismo de sinalização necessário para iniciar ou favorecer a atividade da ADH na estimulação da fermentação etanólico que, por consumir mais prótons que a láctica, eleva o pH citossólico aumentando a capacidade de sobrevivência das plantas alagadas (DOLFERUS et al., 2008), o que justifica os resultados obtidos neste trabalho na avaliação da atividade das enzimas ADH e LDH.

A ADH é uma enzima chave para a produção de ATP em plantas sob condições de anóxia ou hipóxia (TOUGOU et al., 2012) e o aumento de sua atividade permite a regeneração do NAD⁺ a partir do NADH o que é de grande importância para a síntese de energia através da fermentação, pois na ausência do NAD⁺ a glicólise cessa (BAILEY-SERRES, 2008). Neste sentido, a síntese de ATP durante a permanência das plantas nessas condições está relacionada à capacidade delas em manter essa via por períodos mais prolongados. No entanto, a fermentação anaeróbia é muito ineficiente, produzindo apenas duas moléculas de ATP por molécula de glicose (DAT et al, 2004). Muito embora o rendimento líquido de ATP na fermentação seja bem menor que o da respiração aeróbia (ASHRAF, 2012), foi suficiente para manter a sobrevivência de *C. grandiflora* pelo menos por um período de 28 dias sob alagamento.

O aumento da atividade de ADH, ADL foi observada por Ferreira et al. (2009) que observaram aumento de ADH nas raízes de *H. sucuuba*, Kogawara et al. (2006) em *M. cajuputi* Powell e *E. camaldulensis* submetidas a hipóxia por 19 dias, Jaeger et al. (2009) observaram aumento significativo de ADH em *F. angustifolia* e *F. excelsior* submetidas ao alagamento, aos 10 dias. Oliveira Neto (2010) verificou aumento da ADH e LDH em *H. courbaril* sob alagamento por 30 dias, e por Alves et al. (2012) em *T. serratifolia* em condições de alagamento por 9 dias.

Concentração de amido (CA), sacarose (SA) e carboidratos solúveis totais (CST)

As respostas em CA, SA e CST foram diferenciadas nas plantas alagadas em relação às plantas controladas, nas plantas alagadas as concentrações de amido na folha e raiz apresentaram decréscimo significativo, contrariamente, os teores de sacarose e de carboidratos solúveis totais apresentaram valores crescente tanto na região da folha e raiz quanto comparadas com as alagadas (Figura 7: A e B, c e D, E e F)

A concentração de amido diferiu significativamente ($P < 0,001$) entre os tratamentos, e entre os tempos de avaliação, assim como a interação entre elas. Na região da folha e raiz das plantas controle em relação às alagadas, a concentração variou nas folhas (Figura 7: A) de 0,23 mmol de GLU g⁻¹ de resíduo nas plantas controle e de 0,06 mmol de GLU/g de resíduo, caracterizando uma redução de 71,80%, nas raízes (Figura 7: B) a concentração de amido decresceu de 0,24 e 0,03 mmol de GLU/g de resíduo respectivamente, com uma redução de 84,96%, todavia, com tendência de estabilização a partir do 28º dia.

A concentração de sacarose diferiu significativamente ($P < 0,001$) entre os tratamentos, entre os tempos de avaliação, e interação entre eles (Figura 7 C, D), na região da folha e raiz a concentração evoluiu nas folhas (Figura 7: C) de 28,47 para 30,55 mg, com aumento de 7,29%, e na raiz (Figura 7: D) variou de 11,25 para 13,96% com aumento de 24,11%. As plantas controle mantiveram as concentrações constante de sacarose, ao longo experimento, no entanto, nas plantas alagadas ocorreu um aumento substancial, especialmente, no 21º dia do experimento (86,50%), seguido de uma queda acentuada, chegando ao final do experimento aos 28º com tendência de se estabilizar.

Os níveis de carboidratos solúveis totais nas folhas diferiram significativamente ($P < 0,01$) entre os tratamentos com interação entre os regimes hídricos, e os tempos de avaliação ($P < 0,05$), não demonstrando diferença entre os tempos de estresse ($P < 0,05$). Na região da folha e raiz respectivamente nas plantas controle e alagadas, as concentrações evoluíram nas folhas (Figura 7: E) de 1,15 e 3,9 mmol de GLU g⁻¹ de resíduo, com aumento de 239,30%, nas raízes (Figura 7: F) houve evolução de 0,85 para 2,17 mmol de GLU g⁻¹ de resíduo, com aumento de 155,44%.

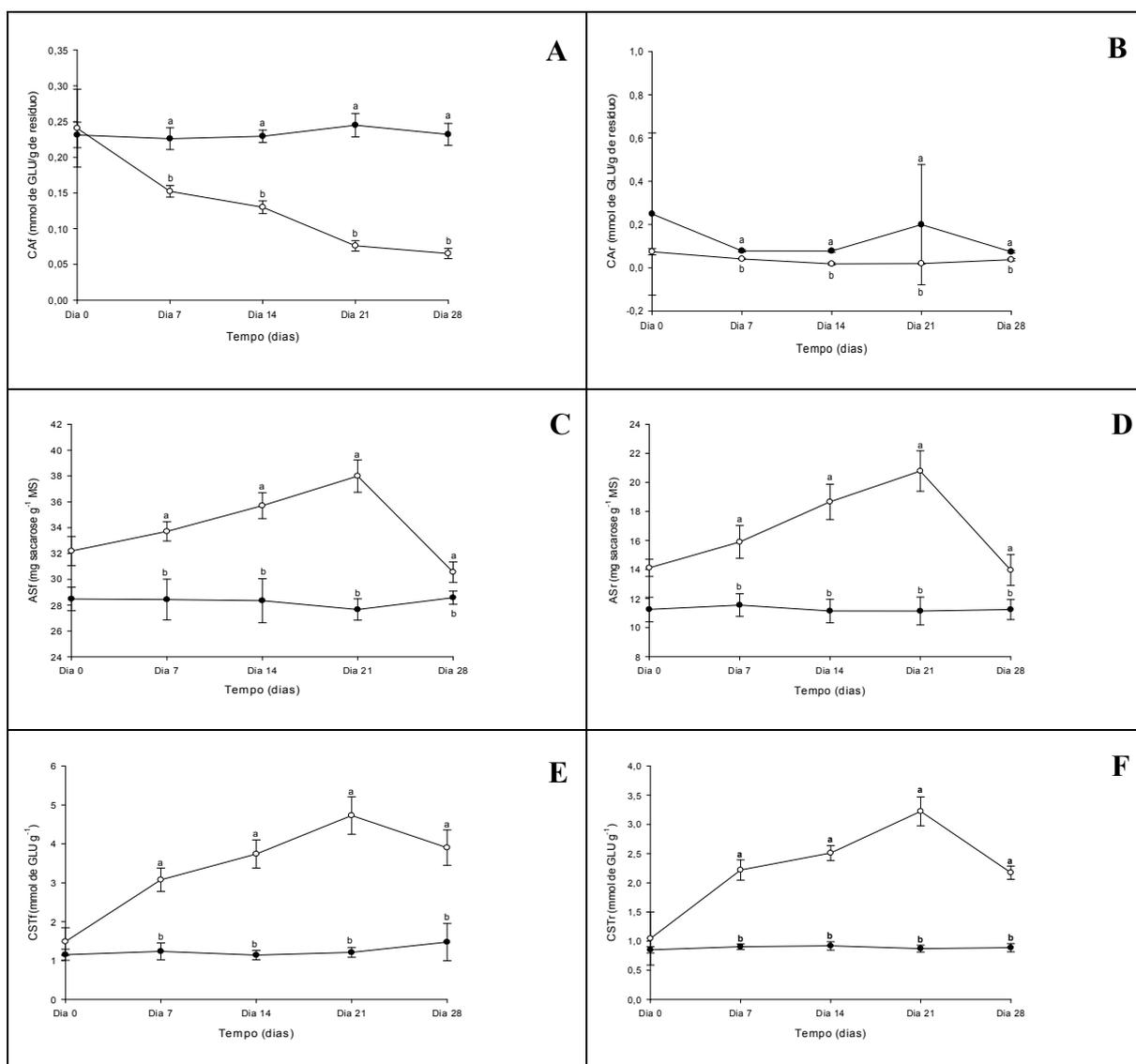


Figura 7. Concentração de amido (folha: A), (raiz: B), concentração de sacarose (folha: C), (raiz: D) e concentração de carboidratos solúveis totais (folha: E), (raiz: F) de *C. grandiflora* Spltz. submetidas continuamente a 0,7,14,21 e 28 dias de alagamento (○) e controle (●). As barras verticais representam o desvio-padrão das médias e as letras representam teste de Tukey ($p < 0,05$)

A redução da concentração de amido nas plantas de *C. grandiflora* sob alagamento está fortemente correlacionada diretamente com A, E, ψ_x , gs, K_L e inderatemnete com PROf e PROr (tabela 3) que deve ter influenciado na aquisição de carbono por meio da fotossíntese

ou pela atividade das enzimas hidrolases α e β amilase que atuam na degradação do amido para a formação de açúcares, especialmente a sacarose que atuaria no ajustamento osmótico das plantas, para a conservação do fluxo interno de água da planta, mantendo assim o potencial hídrico em condições suficiente. Além disso, a redução do amido nas plantas em condições de alagamento seria uma alternativa para suportar o metabolismo fermentativo que requer maior concentração de açúcar (SAIRAM, et al., 2008). Outra possível explicação seria que os carboidratos sintetizados não foram armazenados como amido durante o dia, mas diretamente transportados ao floema para abastecer as raízes como hidratos de carbono adicionais (HERSCHBACH et al., 2005).

Resultados semelhantes aos obtidos em *C. grandiflora* foram encontrados por Henrique et al. (2010), em *C. peltophoroides*, Gimeno et al. (2012) em *J. curcas* submetidas ao alagamento por 10 dias, Bertolde et al. (2012) em dois clones de *T. cacao*, e Andrade Junior (2013) em *P. giganticarpa*. Entretanto, Bertolde et al. (2012), observaram aumento de 10% na concentração de amido nas raízes do genótipo tolerante ao alagamento, TSA-792, em comparação ao controle, que pode ser justificado pela maior translocação de carboidrato para essas raízes ou a diminuição do crescimento e das atividades metabólicas das raízes.

Para Kreuzwieser et al. (2004) a baixa produção de energia produzida na raiz pela respiração anaeróbia reduz o crescimento da raiz e consequentemente a absorção de nutrientes, o que contribui para o fechamento estomático e o declínio da fotossíntese, que pode justificar na queda dos teores de amido.

A sacarose na folha apresentou correlação significativa direta com as concentrações de prolina, e inversamente com as concentrações de amido na raiz, a sacarose da raiz apresentou correlação significativa com a prolina e inversa com o amido da raiz. Na raiz de *C. grandiflora* a demanda por carboidratos necessários para sustentar o metabolismo anaeróbio nas plantas alagadas, parece ter sido compensada pela translocação de sacarose da folha para raiz (KREUZWIESER et al., 2009), no entanto, o aumento no teor de sacarose também pode ter ocorrido em função da atividade das enzimas hidrolases α e β amilase que atuam na degradação do amido.

Contrariando e concordando em parte, com os resultados de *C. grandiflora*, Kreuzwieser et al. (2009) observaram redução na concentração de sacarose na folha e aumento na raiz de plantas

de *G. Poplar* em condições de alagamento por 7 dias, atribuindo esse aumento a maior taxa de translocação de sacarose das folhas para as raízes e a possíveis alterações na enzima invertase, em *H. coubaril*, Oliveira Neto (2010) observou redução de sacarose em folha e raiz e folha em plantas alagadas por 30 dias.

Para Liao; Lin (2001) e HENRIQUE et al., (2010) o aumento na concentração de CST nas raízes de plantas alagadas tem sido relatado como forma de tolerância a esse estresse, e pode está relacionado ao fluxo de sacarose e sua conversão pela enzima invertase ou na redução da demanda por carboidratos em função da diminuição do metabolismo da raiz e do crescimento.

As concentrações de carboidratos solúveis totais apresentaram significativa correlação ($P < 0,001$) direta com prolina e inversa CA, Ψ_x , A, E, gs, K_L (Tabela 3), que permite afirmar que o aumento da CST pela redução observada em CA, Ψ_x , A, E, gs, K_L e pelo aumento da prolina. Contrariamente, Gimeno et al. (2012) em *J. curcas* submetidas ao alagamento encontrou redução de CST nas folhas e raízes acompanhada da diminuição do Ψ_x . Bertolde et al. (2012) verificaram aumento acentuado de CST nas folhas de dois genótipos de *T. cacao*, todavia os genótipos TSH 774 de *T. cacao* (sensíveis ao alagamento) mostraram diminuições significativas na concentração desta substância nas raízes quando comparadas ao genótipo tolerante, e concluirma que a CST produzidos na fotossíntese, tendem a se acumular na parte aérea das plantas alagadas e não são translocados para as raízes

Para Rosa et al., 2009) o alagamento aumenta a concentração de CST, posto que, o acúmulo de carboidratos seria importante na proteção de estruturas celulares como as biomembranas que poderiam ser degradadas com a deficiência hídrica no hialoplasma e pelo aumento na concentração de substâncias iônicas, inativando várias enzimas no citosol (LARCHER, 2006) ou para suprir a demanda de carboidrato da parte aérea e raiz em situações de anóxia como sugerido por Islam e Macdonald (2004) e Herschbach et al. (2005).

O aumento na concentração de CST nas raízes das plantas alagadas de *C. grandiflora* demonstra que a translocação dessas substâncias não foi afetada pelo estresse. Similarmente, Islam e Macdonald (2004) trabalhando com plantas jovens de *P. mariana* e *L. laricina* verificaram aumento significativo de CST nas folhas das plantas alagadas em comparação as plantas controle após 16 dias. Segundo esses autores, concentração desses carboidratos na raiz

das plantas de *L. laricina* foram significativamente maior, sugerindo um transporte contínuo dessas substâncias para as raízes.

Correlação entre variáveis fisiológicas e bioquímicas.

Visando estabelecer se as variáveis fisiológicas estão correlacionadas com as variáveis bioquímicas, e as variáveis bioquímicas correlacionadas entre si, foi realizada análise de correlação de Pearson cujos resultados estão configurados na tabela 2 e 3.

Nas plantas controladas sob irrigação foi observada correlação direta entre concentrações de amônio livre na folha (CALf), com a condutância estomática (gs) e prolina da folha (PROr) em nível de 5% ($p > 0,05$), e com prolina na folha (PROf) em nível de 1% ($p > 0,01$), correlação direta em nível de 1% entre proteínas solúveis totais na folha (PSTf) e a condutância estomática e em nível de 5% com a condutividade hidráulica, e correlações indiretas em nível de 5% entre concentrações de amônio livre na raiz (CALr) e PROr, entre concentrações de amido na raiz (CAr) e giberlina da raiz (GBr), e entre álcool desidrogenase na raiz (ADHr).

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (A), transpiração (E), potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x), condutância estomática (gs), condutância hidráulica (KL), Concentrações de amido (CAf e CAr), Prolina (PROf e PROr), aminoácidos solúveis totais em folha (ASTf), aminoácidos solúveis totais em raiz (ASTr), carboidratos solúveis totais em folha (CSTf), carboidratos solúveis totais em raiz (CSTr), prolina em folha (PROf), prolina em raiz (PROr), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Glicina betaina em folha (Gbf), Glicina betaina em raiz (Gbr), amônio em folha (Amf), amônio em raiz (Amr), glutamina sintetase em folha (Gsf) e glutamina sintetase em raiz (Gsr) em plantas de *C. grandiflora*, no tratamento controle / 28 dias.

Tratamento	A	E	ψ_x	gs	KL	CAf	CAr	PROf	PROr
PROf	-0,160ns	0,117ns	0,128ns	-0,057ns	0,133ns	-0,125ns	0,092ns	1,000**	0,260ns
PROr	-0,005ns	-0,024ns	0,221ns	0,008ns	0,017ns	0,017ns	-0,016ns	0,260ns	1,000**
CAf	-0,057ns	0,167ns	-0,050ns	0,201ns	0,257ns	1,000**	-0,052ns	-0,125ns	0,117ns
CAr	0,208ns	0,137ns	0,050ns	0,265ns	0,511**	-0,052ns	1,000**	0,092ns	-0,016ns
CNf	-0,533**	0,066ns	0,192ns	0,244ns	0,037ns	0,118ns	-0,059ns	0,503*	0,295ns
CNr	0,235ns	0,019ns	-0,380ns	-0,177ns	0,036ns	-0,459*	0,209ns	-0,089ns	-0,275ns
RNf	0,315ns	0,057ns	-0,090ns	-0,121ns	0,034ns	0,114ns	0,099ns	0,135ns	0,115ns
RNr	-0,223ns	0,177ns	0,220ns	0,198ns	0,069ns	0,026ns	0,005ns	0,067ns	-0,196ns
CALf	-0,355ns	0,084ns	0,200ns	0,417*	0,379ns	0,150ns	0,128ns	0,537**	0,413*
CALr	0,203ns	-0,157ns	-0,376ns	-0,254ns	-0,140ns	-0,416*	-0,085ns	-0,193ns	-0,405*
GSf	-0,338ns	0,258ns	-0,125ns	-0,299ns	-0,213ns	0,120ns	-0,339ns	-0,240ns	0,129ns
GSr	0,059ns	0,347ns	-0,397*	-0,230ns	-0,205ns	0,124ns	0,322ns	-0,231ns	-0,098ns
ASTf	-0,211ns	0,221ns	0,130ns	-0,180ns	-0,124ns	-0,084ns	0,231ns	0,297ns	0,017ns
ASTr	-0,253ns	0,214ns	-0,125ns	-0,066ns	-0,107ns	0,143ns	0,296ns	-0,145ns	0,072ns
PSTf	0,384ns	-0,004ns	0,244ns	0,517**	0,404*	0,334ns	0,004ns	-0,093ns	-0,254ns
PSTr	0,078ns	0,070ns	0,264ns	0,320ns	0,020ns	0,190ns	-0,335ns	-0,020ns	-0,052ns
GBf	0,256ns	0,091ns	0,248ns	0,043ns	0,142ns	-0,270ns	0,276ns	0,323ns	0,080ns
GBr	-0,163ns	-0,174ns	-0,085ns	-0,181ns	-0,096ns	0,086ns	-0,407*	0,241ns	0,099ns
LDHf	-0,135ns	0,177ns	-0,370ns	-0,366ns	-0,271ns	0,215ns	-0,186ns	0,010ns	0,046ns
LDHr	0,066ns	-0,162ns	-0,128ns	-0,014ns	-0,318ns	-0,159ns	-0,240ns	-0,139ns	-0,008ns
ADHf	-0,331ns	-0,260ns	-0,279ns	-0,110ns	-0,254ns	0,253ns	-0,110ns	0,036ns	0,227ns
ADHr	-0,396*	0,393ns	0,162ns	0,165ns	0,072ns	-0,027ns	0,097ns	0,225ns	-0,056ns
SAf	-0,308ns	0,031ns	-0,086ns	-0,069ns	-0,035ns	0,045ns	-0,096ns	0,146ns	0,245ns
SAr	-0,002ns	-0,034ns	-0,336ns	-0,130ns	0,014ns	-0,065ns	-0,089ns	-0,189ns	0,015ns
CSTf	-0,228ns	0,153ns	-0,152ns	-0,069ns	0,001ns	-0,105ns	-0,075ns	0,111ns	0,100ns
CSTr	-0,085ns	-0,182ns	0,064ns	-0,252ns	-0,371ns	-0,183ns	-0,174ns	0,320ns	0,072ns

* significativa a 5% ($p < 0,05$)

** significativa a 1% ($p < 0,01$)

Nas plantas alagadas observou-se várias correlações diretas e indiretas, significativamente em nível de 1% e 5%, assim foram registradas correlações significativamente inversas em nível de $p > 0,01$ entre PROf, PROr, CAf, CAr, LDHf, ADHf, ADHr, CSTf e CSTr com A, E, ψ_x , gs, KL, CAf e CAr, e de modo positivo ou diretamente, também em nível de 0,001 entre PROf e PROr com ASTf, ASTR, GBr, LDHf, LDHr, ADHf, ADHr, SAr e CSTf. Registrou-se correlação entre PROf e PROr com SAf e SAr. As variáveis CAf, CAr, CNf, CNr, CALf, GSf, GSr, PSTf e PSTr se correlacionaram positivamente a nível de 1% com A, E, ψ_x , gs, KL, CAf e CAr, e indiretamente com PROf e PROr.

RNr e GBf não se relacionaram com nenhuma das variáveis aqui testadas, todavia RNf se correlacionou positivamente com PROr em nível de 5%, CALr se correlacionou em nível de 1% positivamente com ψ_x , KL, CAf e CAr em 1%, e indiretamente com A, PROf e PROr, no entanto PROf e PROr se relacionaram positivamente com GBr e SAr (1%), e com SAf (5%). PROf e PROr se correlacionaram positivamente com GBr e SAr (1%) e SAf(5%), no entanto

CAr se correlacionou indiretamente em nível de 1% com GBr, SAf e SAr, no entanto GBr(1%) e SAr(5%) apresentaram correlação negativa com KL, e GBr, SAf e SAr SAf se correlacionaram indiretamente com ψ_x (5%), sendo que GBr se correlacionou também indiretamente com A(5%). As variáveis GBr, SAf e SAr não se correlacionaram com E nem com gs. Em resumo, com exceção de RNf, RNr, e GBR, de alguma forma, todas as demais variáveis bioquímicas se relacionaram significativamente com as variáveis fisiológicas, A, E, ψ_x , gs, KL, de modo direto com CAf, CAr, CNf, CNr, CALf, GSf, GSR, PSTf e PSTr, e de modo inverso com PROf, PROr, CALr, ASTf, ASTr, GBr, LDHf, LDHr, ADHf, ADHr, CSTf e CSTR. As variáveis bioquímicas PROf e PROr se correlacionaram diretamente com CSTf e CSTR, e inversamente com CAf e CAr, no entanto CAf e CAr apresentaram correlação inversa com CSTf e CSTR.

Tabela 3. Coeficiente de correlação de Pearson entre Fotossíntese (A), transpiração (E), potencial hídrico do xilema foliar (ψ_x), condutância estomática (gs), condutância hidráulica (KL), Concentrações de amido (CAf e CAr), Prolina (PROf e PROr), aminoácidos solúveis totais em folha (ASTf), aminoácidos solúveis totais em raiz (ASTr), carboidratos solúveis totais em folha (CSTf), carboidratos solúveis totais em raiz (CSTR), prolina em folha (PROf), prolina em raiz (PROr), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Glicina betaína em folha (GBf), Glicina betaína em raiz (GBr), amônio em folha (AMf), amônio em raiz (AMr), glutamina sintetase em folha (GSf) e glutamina sintetase em raiz (GSR) em plantas de *C. grandiflora*, no tratamento alagado / 28 dias.

Tratamento	A	E	ψ_x	gs	KL	CAf	CAr	PROf	PROr	
Alagado	PROf	-0,811**	-0,814**	-0,940**	-0,854**	-0,942**	-0,891**	-0,884**	1,000**	0,950**
	PROr	-0,858**	-0,850**	-0,852**	-0,903**	-0,882**	-0,885**	-0,835**	0,950**	1,000**
	CAf	0,849**	0,880**	0,833**	0,883**	0,877**	1,000**	0,670**	-0,891**	-0,885**
	CAr	0,601**	0,558**	0,879**	0,646**	0,819**	0,670**	1,000**	-0,884**	-0,835**
	CNf	0,815**	0,855**	0,837**	0,901**	0,881**	0,887**	0,771**	-0,911**	-0,922**
	CNr	0,821**	0,838**	0,942**	0,884**	0,961**	0,878**	0,863**	-0,961**	-0,939**
	RNf	-0,280ns	-0,239ns	-0,262ns	-0,265ns	-0,203ns	-0,333ns	-0,318ns	0,414*	0,386ns
	RNr	0,125ns	0,184ns	-0,015ns	0,172ns	-0,015ns	0,072ns	0,002ns	-0,037ns	-0,176ns
	CALf	0,629**	0,582**	0,851**	0,675**	0,831**	0,683**	0,855**	-0,887**	-0,832**
	CALr	0,411*	0,293ns	0,691**	0,386ns	0,600**	0,468*	0,806**	-0,729**	-0,683**
	GSf	0,752**	0,817**	0,750**	0,887**	0,794**	0,790**	0,706**	-0,836**	-0,866**
	GSR	0,799**	0,764**	0,630**	0,764**	0,666**	0,808**	0,600**	-0,769**	-0,854**
	ASTf	-0,737**	-0,727**	-0,961**	-0,787**	-0,953**	-0,817**	-0,910**	0,942**	0,882**
	ASTr	-0,743**	-0,719**	-0,953**	-0,785**	-0,948**	-0,846**	-0,881**	0,916**	0,853**
	PSTf	0,799**	0,840**	0,947**	0,883**	0,960**	0,894**	0,886**	-0,964**	-0,927**
	PSTR	0,793**	0,793**	0,954**	0,841**	0,969**	0,879**	0,879**	-0,977**	-0,929**
	GBf	-0,241ns	0,008ns	-0,278ns	0,000ns	-0,261ns	-0,195ns	-0,245	0,248ns	0,154ns
	GBr	-0,440*	-0,330ns	-0,666**	-0,387ns	-0,646**	-0,508**	-0,589**	0,640**	0,552**
	LDHf	-0,866**	-0,945**	-0,818**	-0,963**	-0,890**	-0,934**	-0,664**	0,863**	0,897**
	LDHr	-0,663**	-0,740**	-0,499*	-0,711**	-0,624**	-0,649**	-0,357	0,563**	0,614**
	ADHf	-0,869**	-0,954**	-0,755**	-0,952**	-0,833**	-0,899**	-0,666**	0,844**	0,900**
	ADHr	-0,821**	-0,931**	-0,760**	-0,908**	-0,854**	-0,939**	-0,594**	0,820**	0,833**
	SAf	-0,149ns	-0,044ns	-0,400*	-0,154ns	-0,282ns	-0,226ns	-0,603**	0,493*	0,459*
	SAr	-0,298ns	-0,190ns	-0,531**	-0,321ns	-0,424*	-0,374ns	-0,683**	0,623**	0,613**
CSTf	-0,797**	-0,782**	-0,860**	-0,858**	-0,901**	-0,816**	-0,831**	0,932**	0,944**	
CSTR	-0,685**	-0,620**	-0,841**	-0,700**	-0,817**	-0,667**	-0,849**	0,898**	0,849**	

* significativa a 5% ($p < 0,05$)

** significativa a 1% ($p < 0,01$)

CONCLUSÃO

O alagamento do solo por 28 dias até o coleto de *C. grandiflora* de 1 ano de idade resultou em diminuições consideráveis no Ψ_x , gs, *E* e KL indicando um eficiente controle estomático das trocas gasosas, e resultando em aumento significativo das concentrações de AST, PRO, GB, SA e CST indicando um possível ajustamento osmótico;

Houve no decréscimo da CN, RN, CAL, GS, PST e CA o que contribuiu para o aumento das concentrações de SA e PRO, e o aumento das atividades da ADH e LDH nas plantas alagadas foi uma estratégia para manter o metabolismo fermentativo e, conseqüentemente, o crescimento e a sobrevivência das plantas sob estresse hídrico.

Plantas de *C. grandiflora* de 1 ano de idade sobreviveram ao período de 28 dias de alagamento do solo, sendo uma espécie promissora para recomposição de áreas sob saturação hídrica.

REFERÊNCIAS

ALAM, I.; SHARMIN, S.; A. KIM, K. H.; KIM, Y.G.; LEE, J. J.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Comparative proteomic approach to identify proteins involved in flooding combined with salinity stress in soybean. **Plant Soil**, v. 346, p. 45-62, 2011.

ALAOUI-SOSSE, B.; GERARD, B.; BINET, Ph.; TOUSSAINT.;M.L.; BADOT, P.M. Influence of flooding on growth, nitrogen availability in soil, and nitrate reduction of young oak seedlings (*Quercus robur* L.). **Annals of Forest Science**, v. 62, n. 593-600, 2005.

ALLÈGRE, A.; SILVESTRE, J.; MORARD, P.; KALLERHOFF, J.; PINELLI, E. Nitrate reductase regulation in tomato roots by exogenous nitrate: a possible role in tolerance to long-term root anoxia. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 408, p. 2625-2634, 2004. 102

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

ANDRADE JUNIOR, W.V. “Fava-atanaã” (*Parkia gigantocarpa*) sob alagamento: respostas ecofisiológicas, bioquímicas, morfoanatômicas e de crescimento. Belém, 2013. 115p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Botânica Tropical). Universidade Federal Rural da Amazônia / Museu Emilio Goeldi.

ARMSTRONG, W.; BRAENDLE, R.; JACKSON, M. B. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v. 43, n. 4, p. 307-358. 1994.

ARRUDA, G. M. T.; CALBO, M. E. R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore). **Acta Botanica Brasilica**. [online]. v.18, n.2, p. 219-224, 2004.

ASHRAF, M. A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.

AZCON, R.; TOBAR, R.M. 1998. Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa*. Effect of drought stress. **Plant Science**, v, 133, p. 1-8.

BAILEY-SERRES, J.; CHANG, R. Sensing and signalling in response to oxygen deprivation in plant cells and other organisms. **Annals of Botany**, v. 96, p. 507-518. 2005.

BAILEY-SERRES J.; VOESENEK L.A.C.J. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 313-339, 2008.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BATISTA, C. U. N., MEDRI, M. E.; MEDRI, E. B.; PIMENTA, C, J. A. Tolerância   inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanat micos. **Acta botanica Brasilica**, v. 22, p. 91-98, 2008.

BERTANI, A.; BRAMBILLA, I.; MENEGUS, F. Effect of anaerobiosis on rice seedlings: growth, metabolic rate and fate of fermentation products. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 31, n.120, p. 325-331, 1980.

BERTOLDE, F.Z. ALMEIDA, A.-A.F. PIROVANI, GOMES, C.P. F.P. AHNERT, D. BALIGAR, V.C. VALLE, R.R. Physiological and biochemical responses of *Theobroma cacao* L. genotypes to flooding. **Photosynthetica**, v.50, n. 3, p. 447-457, 2012.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO, A, D.; SODEK, L. Nitrate uptake and metabolism by roots of soybean plants under oxygen deficiency. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 21, n. 1, p. 13-23, 2009.

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W.; JONES, R.L. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. 3ed. Maryland: American Society of **Plant Physiologists**, 2001, 1367p.

CARVALHO, C. J. R. et al. Respostas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) jovens ao alagamento. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1231-1237, set. 2002.

CATALDO, D. A.; HAROON, S. L. E; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Commum Soil Science Plant Analyse**, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975. 104

CHIEN, HG.; LIN, C. C.; WANG, J-W. CHEN, C.T.; KAO, C. H. Changes in ammonium ion content and glutamine synthetase activity in rice leaves caused by excess cadmium are a consequence of oxidative damage. **Plant Growth Regulation**, p. 1-7, 2000.

COELHO, C.C. R. ; SILVA, J. N. ; NEVES, M. G.; CONCEIÇÃO A. G. C.; SILVA, R.T. L.; OLIVEIRA NETO, C. F. **Aspectos ecofisiológicos e crescimento em plantas de milho submetidas ao alagamento**. Revista Agroecossistemas, v. 5, n. 2, p. 41-46, 2013.

COSTA, A. M.; GOBBI, E. L.; DEMUNER, V. G.; HEBLING, S. A. O efeito da inundação do solo sobre o crescimento inicial de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, guapuruvu. *Natureza On Line*, v.4, n.1, p.7-13, 2006. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>. Acesso em: 20 de março de 2015.

DAT, J. F.; CAPELLI, N.; FOLZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT. P. M. Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 273-282, 2004.

DEBOUBA M.; MAÂROUFI-DGHIMI H.; SUZUKI A.; GHORBEL MH.; GOUIA H. Changes in growth and activity of enzymes involved in nitrate reduction and ammonium assimilation in tomato seedlings in response to NaCl stress. **Annals of Botany**, v. 99, n. 6, p. 1143-1151, 2007.

DONOVAN, L,A,; WEST, J,B,; MCLEOD, K,W. *Quercus* species differ in water and nutrient characteristics in a resource-limited fall-line sandhill habitat, *Tree physiology* v, 20, p, 929-936, 2000.

DOLFERUS, R., WOLANSKY, M., CARROLL, R., MIYASHITA, Y., ISMOND, K.; GOOD, A. Functional analysis of lactate dehydrogenase during hypoxic stress in *Arabidopsis*. **Functional Plant Biology**, v. 35, p.131-140, 2008.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analitical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956. 105

FERREIRA, C. S.; PIEDADE, M. T. F.; FRANCO, A. C.; GONÇALVES, J.F.C.; JUNK W. J. Adaptive strategies to tolerate prolonged flooding in seedlings of floodplain and upland populations of *Himatanthus sucuuba*, a Central Amazon tree, **Aquatic Botany**, v. 90, n. 3, p. 246-252, 2009.

FREITAS, J. M. N.; CARVALHO, K. S.; LOBATO, A. K. S.; CASTRO, D. S.; MAIA, P. S. P.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C. L. Atividade da Redutase do Nitrato, Conteúdo relativo de Água e teores de Clorofilas Solúveis totais em Folhas de Açazeiro (*Euterpe edulis* Mart.) submetidas ao Déficit Hídrico e ao Alagamento. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 924-926, 2007.

FOLZER, H.; DAT, J.; CAPELLI, N.; RIEFFEL, D.; BADOT, PM. Response to flooding of sessile oak: An integrative study. **Tree Physiology**, v, 26, p. 759-766, 2006.

FRANCO, A.C.; LÜTTGE, U. Midday depression in savana trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilaion and water use efficiency. **Oecologia**, Heideberg, v. 201, p. 121-131, 2004.

GHANBARY, E.; TABARI, M.; GONZÁLEZ, E.; ZARAFSHAR, M. Morphophysiological responses of *Alnus subcordata* (L.) seedlings to permanent flooding and partial submersion. **International Journal of environmental sciences**, v. 2, n. 3, 2012.

GIMENO, V.; SYVERTSEN, J P.; SIMÓN, S. I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47–55, 2012.

GONCALVES, J. F. C. et al . Crescimento, partição de biomassa e fotossíntese em plantas jovens de *Genipa spruceana* submetidas ao alagamento. **CERNE**, Lavras , v. 19, n. 2, p. 193-200, June 2013.

GRIEVE C.M.; GRATTAN S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, v.70, p. 303-307, 1983.

HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P., Nitrate reductase from higher plants. In: Methods in enzymology, New York, **Academic Press**, v. 17a, p. 491-503, 1971. 106

HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; GOULART, P. F. P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E. M. de. Physiological and anatomical characteristics of *Sibipiruna* plants under hipoxia. **Ciência Rural** [online], v.40, n.1, p. 70-76, 2010.

HERSCHBACH, C.; MULT, S.; KREUZWIESER. J.; KOPRIVA, S. Influence of anoxia on whole plant sulphur nutrition of flooding-tolerant poplar (*Populus tremula* x *P. alba*). **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 167-175, 2005.

HOFFMAN, N.E.; HANSON, A.D. Purification and properties of hypoxically induced lactate dehydrogenase from barley roots. **Plant Physiology**, v.82, n.3, p.664-670, 1986.

HORCHANI, F.; HAJRI, R.; KHAYATI, H.; ASCHI-SMITI, S. Physiological Responses of *Tomato plants* to the Combined Effect of Root Hypoxia An Nacl –salinity. **Journal of Phytology**, v. 2, n.11, p. 36-46, 2010.

HORCHANI, F.; ASCHI-SMITI, S. Prolonged root hypoxia effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n.12, p. 1583-1589, 2010.

HUBBARD, R,M,; BOND, B,J,; RYAN, M,G, Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees, **Tree Physiology** v, 19, p, 165–172, 1999.

ISLAM, M. A.; MACDONALD, S. E. Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. **Trees**, v. 18, p.35-42, 2004.

ISLAM MR.; HAMID A.; KHALIQ QA.; HAQUE MM.; AHMED JU.; KARIM MA. Effects of soil flooding on roots photosynthesis and water relations in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Journal of Botany**, v. 39, n. 241-243, 2010.

JAEGER, C.; GESSLER, A.; BILLER, S.; RENNENBERG, H.; KREUZWIESER, J. Differences in C metabolism of ash species and provenances as a consequence of root oxygen deprivation by waterlogging. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 15, p. 4335-4345, 2009.

JALEEL, CA.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; PANNEERSELVAM, R. Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. **Comptes Rendus Biologies**. v. 330, n. 9, p. 674-83, 2007.

KAMACHI, K.; YAMAYA, T.; MAE, T.; OJIMA, K. A. Role for glutamine synthetase in remobilization of leaf nitrogen during natural senescence in rice leaves. **Plant Physiology**, v. 96, p. 411-417, 1991.

KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AM RUTHA, R. N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SRE ENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

KOGAWARA, S.; YAMANOSHITA, T.; NORISADA, M.; MASUMORI, M.; KOJIMA, K. Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. **Tree Physiology**, v. 26, p.1413-1423, 2006.

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

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v.1 p.1- 29, 1997.

KREUZWIESER, J.; PAPADOPOULOU, E.; RENNENBERG, H. Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. **Plant Biology** (Stuttg), v. 6, n. 3, p. 299-306, 2004.

KREUZWIESER, J.; HAUBERG, J.; HOWELL, K.; RENNENBERG A. C. H.; MILLAR, A. H.; WHELAN, J. Differential Response of Gray Poplar Leaves and Roots Underpins Stress Adaptation during Hypoxia. **Plant Physiology**, v. 149, P.461-473, 2009. 108

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2006, 532p.

LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, v.25, p.148-157, 2001.

MARTINAZZO, Emanuela Garbin et al . Atividade fotossintética em plantas de ameixeira submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 43, n. 1, p. 35-41, Jan. 2013

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v.105, p. 1141-1157, 2010.

MEDRI, C.; PIMENTA, J. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN S.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E. O alagamento do solo afeta a sobrevivência, o crescimento e o metabolismo de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? Soil flooding affects the survival, growth and metabolism of *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 123-134, 2012.

MIELKE, M. S.; ALMEIDA, A. F.; GOMES, F. P.; AGUILAR, M. A. G.; MANGABEIRA, P. A. O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environment and Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 3, p. 221-231, Dec. 2003.

MIELKE, M. S.; MATOS, E. M.; COUTO, V. B.; ALMEIDA, A. F.; GOMES, F. P.; MANGABEIRA, P. A. O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedling to soil flooding. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 905-911, jul. 2005.

MERCHANT, A.; PEUKE, A. D.; KEITEL, C.; MACFARLANE, C.; WARREN, C. R.; ADAMS, M. A. Phloem sap and leaf $\delta^{13}\text{C}$, carbohydrates, and amino acid concentrations in *Eucalyptus globulus* change systematically according to flooding and water deficit treatment. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 6, p. 1785–1793, 2010.

MIRANDA, L. A. P.; VITÓRIA, A. P.; FUNCH, L. S. Leaf phenology and water potential of five arboreal species in gallery and montane forests in the Chapada Diamantina; Bahia; Brazil. *Environmental and Experimental Botany* 70:143–150. 2011.

MUNÔZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA. R. Genio y figura de la betaína aldehído Deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, v. 28, p. 203-223, 2004.

OKUMOTO, S.; GUILLAUME, P. Amino Acid Export in Plants: A Missing Link in Nitrogen Cycling. *Molecular Plant • Volume 4 • Number 3 • Pages 453–463*, 2011.

OLIVEIRA NETO, C.F. Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) submetidos à deficiência hídrica e ao alagamento. Belém, 2010. 93p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

PARENT, C.; CAPELLI N.; BERGER, A.; CRÈVECOEUR, M.; DAT, J. F.; An Overview of Plant Responses to Soil Waterlogging. **Plant Stress**, v. 2, n. 1, p.20-27, 2008.

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

PIERCE, S. C.; MOORE, M. T.; LARSEN, D.; PEZESHKI, S. R. Macronutrient (N, P, K) and Redoximorphic Metal (Fe, Mn) Allocation in *Leersia oryzoides* (Rice Cutgrass) Grown Under Different Flood Regimes. **Water Air Soil Pollut**, v. 207, p. 73-84, 2010.

PINHEIRO, K.A.O.; CARVALHO, J.O.P.; QUANZ, B.; FRANCEZ, L.M. B.; SCHWARTZ, G. Fitossociologia de uma área de preservação permanente no leste na Amazônia: indicação de espécies para recuperação de áreas alteradas. **Revista Floresta**, v.37, p. 175-187, 2007.

PRYOR, R.J.; DAVISON, N.J.; CLOSE, D.C. 2006. Waterlogging duration; Interspecific comparison of *Leptospermum scoparium* (Forst et Forst.f.), *Acacia melanoxylon* (R. Br.), *Nothofagus cunninghamii* (Hook.) and Eucalyptus abliqua (L'Herit). **Austral Ecology**, v. 31, n.4, p. 408-416, 2006.

RAHMAN, MS.; MIYAKE H.; TAKEOKA, Y. Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.), **Plant Production Science**, v. 5, p. 33-44, 2002.

REGGIANI, R.; NEBULONI, M.; MATTANA, M.; BRAMBILLA I. Anaerobic accumulation of amino acids in rice roots: role of the glutamine synthetase/glutamate synthase cycle. **Amino Acids**, v. 18, p. 207-217, 2000.

REZAEI, MA.; KAVIANI, B.; KHARABIAN, M. A . 'The effect of exogenous glycine betaine on yield of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] in two contrasting cultivars Pershing and DPX under soil salinity stress', **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 2, p. 87-93, 2012.

ROSA, M.; PRADO, C.; PODAZZA,G.; INTERDONATO, R.; . GONZÁLEZ, J. A.; HILAL.; M.; PRADO, F. E. Soluble sugars—Metabolism, sensing and abiotic stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n.5, p. 388-393, 2009.

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DEHMUKH, P. S.; SRIVASTAVA. G. C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, v.52, n. 3, p. 401-412, 2008.

SATO, T; HARADA, T; ISHIZAWA, K. Stimulation of glycolysis in anaerobic elongation of pondweed (*Potamogeton distinctus*) turions. **Journal of Experimental Botany**. v. 53, p.1847–1856, 2002

SILVA, E.C.; Nogueira, R.J.M.C.; Neto, A.D.A.; Brito, J.Z.; Cabral, E.L. 2004. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, 59(2): 201-205.

SILVEIRA, Neidiquele Maria et al . Crescimento e partição de carboidratos em plantas de *sebastiania membranifolia* submetidas ao alagamento. **CERNE**, Lavras , v. 21, n. 1, p. 67-74, Mar. 2015

SILVA-ORTEGA, C.O.; OCHOA-ALFARO, A.E.; REYES-AGUERO, J.A.; SANTA CRUZ, G.A.; JIMÉNEZ-BREMONT. J.F. Salt stress increases the expression of P5CS gene

and induces proline accumulation in cactus pear. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 82-92, 2008.

SLAVIK, B. 1974. Methods of studying plant water relations. New York, Springer-Verlag. 449 p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 819p.

VAN DEN BERG, M.E. 1984. Ver-O-Peso: the ethnobotany of an Amazonian market. In: Prance, G.T.; Kallunki, J.A. (Eds.). Advances in Economic Botany. **Ethnobotany in the Neotropics**. New York Botanical Garden, Bronx, New York. p. 140-149.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Anal Biochemical**, v. 22, p. 280-283, 1968.

ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J.T.; FROEHLICH, A.; OLIVER, S.N.; FAIX, B.; GUPTA, K.J.; SCHMÄZLIN, E.; IGAL, M.; ORCARAY, L.; ROYUELA, M.; GEIGENBERGER, P. Regulation of respiration and fermentation to control the plant internal oxygen concentration. **Plant Physiology**, v. 149, p.1087-1098, 2009.

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

WIEDENROTH, E. M. Responses of roots to hypoxia: their structural and energy relations with the whole plant. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 33, n. 1, p. 45-51, 1993.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As respostas de crescimento, biomassa, morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas, apresentadas pelas plantas de 1 ano de idade de *C. grandiflora*, sob alagamento contínuo durante 28 dias, indicam plena tolerância da espécie a esse tipo de estresse no que concerne as variáveis avaliadas e respectivo período experimental.

Recomenda-se novos experimentos sob as mesmas condições com períodos de estresse maiores, e avaliação das respostas da influência hormonal envolvendo o etileno, auxinas e ácido abscísico, para ampliar o conhecimento das estratégias adaptativas da espécie e, conseqüentemente, adequar seu uso em programas de recuperação e reflorestamento em áreas impactadas e solos inundados da Amazônia.