



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

**TAMIRES BORGES DE OLIVEIRA**

**MECANISMOS ECOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLANTAS JOVENS  
DE *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp Urb. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA  
HÍDRICA**

**BELÉM  
2016**



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

**TAMIRES BORGES DE OLIVEIRA**

**MECANISMOS ECOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLANTAS JOVENS  
DE *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp Urb. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA  
HÍDRICA**

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

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

**BELÉM  
2016**

**TAMIRES BORGES DE OLIVEIRA**

**MECANISMOS ECOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLANTAS JOVENS  
DE *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp Urb. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA  
HÍDRICA**

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

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto - Orientador

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

---

Dr. Roberto Lisboa Cunha – 1º Examinador

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

---

Dr. Raimundo Thiago Lima da Silva – 2º Examinador

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA/CAPITÃO POÇO

---

Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição – 3º. Examinador

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA/CAPITÃO POÇO

---

Dr. Raimundo Lazaro Moraes da Cunha – Suplente

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

**Figura 1.** Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....31

**Figura 2.** Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das média.....32

**Figura 3.** Concentrações de Sacarose em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....34

**Figura 4.** Altura de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....35

**Figura 5.** Diâmetro da Altura do Caule de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....36

**Figura 6.** Número de folhas e folíolos de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....37

**Figura 7.** Comprimento da raiz de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....38

## Capítulo II

**Figura 1.** Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....56

**Figura 2.** Concentrações de Nitrato em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas

comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....57

**Figura 3.** Atividade da Redutase do Nitrato em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....59

**Figura 4.** Concentrações de Amônio Livre em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....60

**Figura 5.** Concentrações de Aminoácidos Solúveis Totais em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....61

**Figura 6.** Concentrações de Proteínas Solúveis Totais em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....62

**Figura 7.** Concentrações de Glicina Betaína em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....64

**Figura 8.** Concentrações de Prolina Livre em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....65

**Figura 9.** Atividade da SOD em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....67

**Figura 10.** Atividade da APX em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....68

**Figura 11.** Atividade da Catalase em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.....70

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

**Tabela 1.** Resultado da Análise química do substrato utilizado.....26

**Tabela 2.** Composição química da solução nutritiva conforme HOAGLAND e ARNON, (1950)

modificada.....2

7

### Capítulo II

**Tabela 1.** Resultado da Análise química do substrato utilizado.....48

**Tabela 2.** Composição química da solução nutritiva conforme HOAGLAND e ARNON, (1950)

modificada.....4

9



## RESUMO

A *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. é uma espécie florestal que quando submetida a condições edafoclimáticas adversas, desenvolve mecanismos fisiológicos e bioquímicos de tolerância ao estresse hídrico. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi ampliar os conhecimentos sobre os mecanismos de respostas do Visgueiro, mediante o estudo de aspectos ecofisiológicos e bioquímicos visando uma melhor compreensão das estratégias desenvolvidas por esta espécie em processo de deficiência hídrica. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), sendo as análises fisiológicas e Bioquímicas realizadas no Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), ambos pertencentes ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA), campus Belém, Pará. As mudas utilizadas foram compradas na AIMEX, com aproximadamente sete meses de idade, medindo 10-15 cm de altura, sendo acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 7,5L. O substrato usado foi terra preta argilosa. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas 2 x 3 (duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica, e três tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando verificado diferenças significativas as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. O conteúdo relativo de água nas plantas submetidas à deficiência hídrica reduziu significativamente ao longo do tempo, quando comparados às plantas submetidas ao fornecimento de água. A suspensão da irrigação por 10 dias foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas de Visgueiro, aumentando as concentrações de carboidratos solúveis totais e as concentrações de sacarose nas folhas e nas raízes, concentrações de amônio livre, glicina e prolina, como nas concentrações dos aminoácidos solúveis totais e as enzimas antioxidantes nas partes avaliadas reduzindo suas medidas de crescimento, as concentrações de proteínas solúveis totais, nitrato e a atividade da redutase do nitrato nos tecidos foliares e nas raízes. Contudo, pode-se observar que a espécie em estudo mesmo apresentando a redução no seu conteúdo relativo de água manteve ativo seu metabolismo do carbono. Os indicadores do Metabolismo do Nitrogênio e o sistema oxidativo analisados foram eficientes para avaliar o estado metabólico das plantas de Visgueiro submetidas à deficiência hídrica.

**Palavras – Chave:** Visgueiro. Deficiência hídrica. Metabolismo do Nitrogênio. Metabolismo do Carbono.

## **ABSTRACT**

The *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. is a forest species that when subjected to adverse conditions, develops physiological and biochemical mechanisms of tolerance to water stress. Thus, the objective was to increase knowledge about the mechanisms of Visgueiro responses by studying aspects physiological and biochemical eco seeking a better understanding of the strategies developed by this species under water stress process. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia, and the physiological and Biochemical analyzes performed on Biodiversity Studies Laboratory in Higher Plants, Belém, Pará. The young plants used were bought at AIMEX, approximately seven months of age, measuring 10-15 cm in height, and placed in plastic pots with a capacity of 7,5L. The substrate used was loamy black soil. The experimental design was completely randomized in subdivided plots 2x3 (two water conditions: control and water stress, and three evaluation times) totaling 30 experimental units, in which each experimental unit consisted of a plant / pot. The experimental results were submitted to analysis of variance, and when found significant differences in means were compared by Tukey test at 5% significance level. The relative water content in plants subjected to water stress significantly reduced over time, compared to plants subjected to water supply. The suspension of irrigation for 10 days was sufficient to alter the metabolism of plants Visgueiro, increasing the total soluble carbohydrate concentrations and sucrose concentrations in leaves and roots, free ammonium concentrations, glycine and proline as the amino acid concentrations and total soluble antioxidant enzymes in shares valued reducing their growth measures, the concentrations of total soluble protein, nitrate and nitrate reductase activity in the leaves and roots. However, it can be seen that the species under test even with a reduction in its water content held on its active carbon metabolism. However, it can be seen that the species under test even with a reduction in its water content held on its active carbon metabolism. Nitrogen Metabolism indicators and oxidative system analyzed were efficient to evaluate the metabolic state of Visgueiro plants subjected to water stress.

**Keywords:** Visgueiro. Water deficit. Nitrogen metabolism. Carbon Metabolism.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1. CONTEXTUALIZAÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVO GERAL</b>	<b>18</b>
<b>2.1. Objetivos Específicos</b>	<b>19</b>
<b>3. HIPOTESES</b>	<b>19</b>
<b>4. REFERÊNCIAS</b>	<b>20</b>
<b>5. CAPÍTULO I – BIOMETRIA E METABOLISMO DO CARBONO EM PLANTAS JOVENS DE <i>Parkia pendula</i> (Willd.) Benth. ex Walp. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA</b>	<b>23</b>
<b>RESUMO</b>	<b>23</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>24</b>
<b>5.1. Introdução</b>	<b>25</b>
<b>5.2. Material e Métodos</b>	<b>26</b>
<b>5.2.1. Local e Montagem do Experimento</b>	<b>26</b>
<b>5.2.2. Delineamento e Condução Experimental</b>	<b>27</b>
<b>5.2.3. Coleta e Armazenamento do Material</b>	<b>27</b>
<b>5.2.4. Variáveis Biométricas</b>	<b>28</b>
<b>5.2.5. Determinação do Conteúdo Relativo de Água</b>	<b>28</b>
<b>5.2.6. Determinação dos Carboidratos Solúveis Totais</b>	<b>28</b>
<b>5.2.7. Determinação de Sacarose</b>	<b>29</b>
<b>5.2.8. Análises dos Dados Estatísticos</b>	<b>29</b>
<b>5.3. Resultados e Discussão</b>	<b>29</b>
<b>5.3.1. Conteúdo Relativo de Água</b>	<b>29</b>
<b>5.3.2. Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais</b>	<b>31</b>
<b>5.3.3. Concentrações de Sacarose</b>	<b>33</b>
<b>5.3.4. Variáveis Biométricas</b>	<b>34</b>
<b>5.3.4.1. Altura</b>	<b>34</b>
<b>5.3.4.2. Diâmetro à Altura do Colo</b>	<b>35</b>
<b>5.3.4.3. Número de Folhas e Folíolos</b>	<b>36</b>
<b>5.3.4.4. Comprimento da Raiz</b>	<b>37</b>

Conclusão	39
REFERÊNCIAS	40
6. CAPÍTULO II – METABOLISMO DO NITROGÊNIO E SISTEMA ANTIOXIDATIVO EM PLANTAS JOVENS DE <i>Parkia Pendula</i> (WILLD.) BENTH. EX WALP SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA	44
RESUMO	44
ABSTRACT	45
6.1. Introdução	46
6.2. Material e Métodos	47
6.2.1. Local e Montagem do Experimento	47
6.2.2. Delineamento e Condução Experimental	49
6.2.3. Coleta e Armazenamento do Material	49
6.2.4. Determinação do Conteúdo Relativo de Água	50
6.2.5. Determinação das Concentrações de Nitrato	50
6.2.6. Determinação da Atividade da Redutase do Nitrato	51
6.2.7. Determinação de Amônio Livre	51
6.2.8. Determinação de Aminoácidos Solúveis Totais	52
6.2.9. Determinação de Proteínas Solúveis Totais	52
6.2.10. Determinação de Glicína-Betaina	53
6.2.11. Determinação de Prolina Livre	53
6.2.12. Sistema Oxidante	54
6.2.12.1. Extração	54
6.2.12.1.1. Dismutase do Superóxido	54
6.2.12.1.2. Ascobarto Peroxidase	54
6.2.12.1.3. Catalase	55
6.2.13. Análises dos Dados Estatísticos	55
6.3. Resultados e Discussão	55
6.3.1. Conteúdo Relativo de Água	55
6.3.2. Concentrações de Nitrato	56
6.3.3. Atividade da Redutase do Nitrato	58
6.3.4. Concentração de Amônio Livre	59
6.3.5. Concentração de Aminoácidos Solúveis Totais	60
6.3.6. Concentração de Proteínas Solúveis Totais	61
6.3.7. Concentração de Glicína-Betaina	62

<b>6.3.8. Concentração de Prolina Livre</b>	<b>64</b>
<b>6.3.9. Sistema Oxidante</b>	<b>66</b>
<b>6.3.9.1. Dismutase do Superóxido</b>	<b>66</b>
<b>6.3.9.2. Ascobarto Peroxidase</b>	<b>67</b>
<b>6.3.9.3. Catalase</b>	<b>68</b>
<b>Conclusão</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>72</b>

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Entre as espécies florestais de potencial econômico pertencentes ao gênero *Parkia*, encontra-se a *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp., popularmente conhecida como Visgueiro, é uma árvore de dossel, apresenta copa plana, formando uma das mais distintas e bonitas formas em árvores da Amazônia. É uma espécie florestal de porte arbóreo, com uma série de características que a tornam de grande interesse econômico e ecológico (PINEDO; FERRAZ, 2008). Também conhecida como Faveira, é uma planta heliófita, da família Fabaceae-mimosoideae sua distribuição geográfica compreende florestas ombrófilas e estacionais, da Amazônia e Mata Atlântica, Norte, Nordeste e Centro-oeste do Brasil; Bolívia, Colômbia, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname e Venezuela (OBERMÜLLER et al., 2011).

No tocante as suas características ecológicas ela é classificada como uma espécie secundária, grande porte com copa larga, aplainada, perenifólia, mesófila ou heliófila com potencial para o plantio em áreas degradadas e de preservação permanente, graças ao seu rápido crescimento em ambientes abertos, na arborização de praças públicas e parques paisagístico e forrageiro para alimentação de ruminantes (ROSSETO et al., 2011).

Em relação as suas características anatômicas, a planta possui tronco cilíndrico e casca externa com depressões e lenticelas dispersas, base do tronco digitada, casca interna creme, com anéis vermelhos, resina vermelha escassa, madeira leve a moderadamente pesada (0,80 a 0,90 g/cm<sup>3</sup>), cerne de cor cinza a creme claro; grã-regular; textura média; superfície lisa ao tato e lustrosa; cheiro e gosto indistintos. Sua madeira é empregada em caxotaria, tábuas, forros, lenha e carvão. Alguns gêneros da *Parkia* apresentam compostos antioxidantes e gastroprotetores (OBERMÜLLER et al., 2011).

Além disso, é considerada espécie-chave na restauração ambiental da Amazônia, devido à sua importância para a comunidade de pássaros e mamíferos que são atraídos pela regular e abundante produção de sementes e de resina exsudada pelas vagens. Muito utilizada na Silvicultura, o Visgueiro, tem como característica a fixação de Nitrogênio, ajudando assim, na recuperação de solos degradados (SALOMÃO; BRIENZA JÚNIOR; SANTANA, 2012).

A associação de estudos morfológicos e anatômicos permite a compreensão de todo o processo de desenvolvimento estrutural, fisiológico e ecológico das plantas florestais nos seus estádios iniciais. O sucesso da atividade florestal, por exemplo, a recuperação de áreas degradadas é altamente afetada pelas condições ambientais, principalmente nos estágios iniciais durante o estabelecimento das plântulas e pela capacidade destas em resistir a estresses. Nesses ambientes, a disponibilidade de luz, de água e de nutrientes varia no tempo e espaço e

são considerados os fatores abióticos que mais afetam o estabelecimento das plântulas (NASCIMENTO et al., 2011). Chaves et al., (2009) afirmam que a disponibilidade hídrica é um dos fatores ambientais que exercem maior influência no desenvolvimento de plantios florestais. É importante ressaltar que, a água exerce importância fundamental no desenvolvimento dos vegetais e um papel essencial nos seus processos ecofisiológicos.

De acordo com Salamoni (2008), estresse é qualquer fator externo que exerça influência desvantajosa sobre a planta, induzindo respostas em todos os níveis do organismo, podendo ser reversíveis ou permanentes, este conceito está diretamente relacionado ao desenvolvimento de mecanismos de tolerância ao estresse, definido como sendo a adaptação da planta para sobreviver a um ambiente desfavorável. Segundo Pacheco et al., (2011) o estresse causa respostas e mudanças no organismo, que inicialmente são reversíveis, mas podem se tornar permanente, sendo caracterizado como um desvio significativo das condições ótimas de sobrevivência. Portanto, define-se deficiência hídrica como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Dentre os mecanismos de defesa ao déficit hídrico, o fechamento estomático, é o que se caracteriza como sendo primordial para que o vegetal mantenha seu status hídrico em condições de sobrevivência, uma vez que a resistência difusiva ao vapor de água reduz a transpiração e conseqüentemente a perda de água para a atmosfera. Contudo, se a condição de estresse perdura por longos períodos causará danos à capacidade fotossintética da planta, uma vez que o suprimento de CO<sub>2</sub> será reduzido, principalmente na quantidade de produção de matéria seca (ALVARENGA, 2010)

O desenvolvimento dos vegetais depende da duração e da intensidade do estresse, da fenologia e genética da planta, provocando diversas alterações morfofisiológicas, como diminuição da turgescência e redução no tamanho das folhas, além disso, o estresse hídrico estimula o crescimento das raízes em profundidade para as zonas mais úmidas do perfil do solo e essa característica pode conferir adaptação à seca (DURIGON, 2011).

A redução da turgidez causa a expansão celular que aliada a extensibilidade da parede celular causa redução da área foliar. À medida que o estresse se agrava e a quantidade de água decresce, as células vegetais contraem-se e a pressão de turgidez aumenta contra as paredes, aumentando a concentração de solutos nas células e o aumento da membrana plasmática tornando-a mais espessa e mais comprimida. Como consequência da diminuição da área foliar há uma menor transpiração por parte do vegetal, mantendo um suprimento limitado de água no solo por um período mais longo (TAIZ; ZEIGER, 2013). A redução da área foliar envolve

aspectos fisiológicos causando modificações morfológicas, essas características morfofisiológicas conferem à espécie a capacidade não somente de armazenar, mas de evitar a perda de água (SILVA et al., 2009).

Os processos de desidratação em plantas tolerantes à seca evidenciam-se por mudanças nas relações hídricas, nos processos fisiológicos e bioquímicos, nas estruturas de membrana e estruturas de organelas celulares. O tipo de substâncias utilizadas no ajustamento osmótico depende da espécie e variedade. Entretanto, o grau de ajustamento depende da velocidade em que o déficit hídrico é aplicado, sendo cada vez maior o ajustamento quando o estresse é aplicado de maneira gradativa (WILLADINO; CAMARA, 2010).

O aumento no teor de carboidratos solúveis sugere que esta espécie apresenta mecanismo de ajustamento osmótico, nas condições de estresse hídrico, adaptando-a à sobrevivência nessa condição. O estresse hídrico causa aumento na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes, aumento da concentração de carboidrato nas folhas e aumento do crescimento e das atividades metabólicas das raízes, que, por sua vez, passam a demandar por mais carboidratos (SILVA et al., 2009). Lissner et al., (2012) afirmam que sob deficiência hídrica, parte dos carboidratos dispostos no citoplasma, são utilizados na ativação dos mecanismos de tolerância à seca, independente do mecanismo em questão. Os carboidratos encontrados nas folhas são alterados em quantidade e qualidade durante o estresse hídrico.

A sacarose faz parte de uma integração do crescimento e do mecanismo de aquisição e alocação de carbono entre diferentes órgãos das plantas (MAIA et al., 2007). Silva et al., (2010) afirmam que existe uma correlação entre hidratos de carbono mono estruturais e condições de déficit hídrico, sugerem, ainda, que estes se acumulam embora o grau de concentração varie em diferentes espécies de plantas. O estresse hídrico promove o aumento da atividade da enzima sacarose fosfato sintase que atua na célula fotossintética citosol, protegendo a integridade das membranas e das proteínas, conseqüentemente, o nível de sacarose aumenta progressivamente nas plantas sob estresse hídrico (OLIVEIRA et al., 2013).

Quando submetidas à condição de estresse hídrico ocorrem mudanças na absorção, transporte e assimilação de íons necessários ao crescimento da planta, principalmente o nitrogênio. O nitrogênio é o nutriente mineral requerido em maior quantidade pelas plantas sendo este absorvido preferencialmente sob a forma nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e/ou amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). A interação entre as fontes de nitrogênio (nitrato e amoniacal) nas plantas possui efeitos diferenciados no crescimento, na qualidade vegetal, na produção de biomassa, no seu crescimento e desenvolvimento (DA SILVA; DELATORRE, 2009).



A disponibilidade de água no solo influencia a atividade da enzima redutase do nitrato, principal enzima responsável pela assimilação de nitrogênio pelos vegetais (RHEIN; DOS SANTOS; CARLIN, 2011). Dentre os parâmetros que têm sido utilizados para quantificar as respostas fisiológicas da planta ao estresse hídrico, a estimativa da atividade da enzima redutase do nitrato vem sendo um bom indicativo para estimar a severidade das perdas de produção à medida que diminui a absorção de nitrogênio pelos vegetais (FIDELIS et al., 2012).

Em plantas sob estresse hídrico acontece a redução das proteínas solúveis isso é causado pelo aumento da atividade enzimática das proteases, estas enzimas promovem a quebra das proteínas e, conseqüentemente, diminui a proteína montante apresentada na planta sob condições de estresse abiótico. Borrmann (2009) estudando o efeito do déficit em plantas afirma que os teores de proteínas em plantas demonstra que a resposta das plantas na síntese e no tipo de proteínas sintetizadas é possível para concluir que algumas plantas apresentam maior tolerância à seca do que outras.

A prolina é o aminoácido mais estudado, em razão de sua sensibilidade de resposta a condições de estresse, onde seu acúmulo fornece um importante parâmetro para a seleção de plantas resistentes ao estresse hídrico (ASHRAF et al., 2011). Além disso, é comum a constatação de que teores aumentados de prolina atenuam os efeitos do estresse hídrico (CVIKROVÁ et al., 2013; FILIPPOU et al., 2014). Segundo os autores, o acúmulo ocorre pelo aumento da sua síntese ou pela inibição do processo de oxidação da prolina. Durante o estresse causado pela falta de água, o seu acúmulo resulta em aumento na osmolaridade celular, promovendo a manutenção do turgor necessária para a expansão das células vegetais. Apresenta ainda importante função evitando a desnaturação proteica, à medida que este aminoácido age na manutenção da integridade da membrana. A prolina interage com enzimas e outras proteínas preservando suas estruturas e atividades (SILVA, 2012).

Outro mecanismo adaptativo ao estresse hídrico é o aumento na síntese de glicina-betaína. O principal papel desse osmorregulador seria o de proteção das células vegetais por meio da preservação do balanço osmótico; da estabilização da estrutura de proteínas-chave, tal como a Rubisco e de sua atuação como eliminadora de espécies reativas de oxigênio (ROS) (TREBERG; DRIEDZIC, 2007). O aumento da sua produção visa, também, a proteção das membranas dos tilacóides, conseqüentemente há a manutenção da eficiência fotoquímica na fotossíntese (ASHRAF; FOOLAD, 2007).

O estresse oxidativo é um processo que pode ser aumentado em plantas submetidas a diversos fatores abióticos, inclusive estresse hídrico. Os radicais livres gerados de espécies reativas de oxigênio podem comprometer a integridade celular, degradando proteínas e

lipídeos. Devido a isso, o organismo vegetal desenvolveu vias metabólicas específicas para eliminação de moléculas oxidantes (GILL; TUTEJA, 2010).

Ainda segundo Gill e Tuteja (2010) para diminuir os danos oxidativos causados pelas EROs, as plantas possuem um complexo sistema antioxidativo de defesa, composto por enzimas antioxidantes tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX).

A superóxido dismutase (SOD) tem um papel importante na ajuda e eliminação dos radicais livres. Assim como o peróxido de hidrogênio que é altamente tóxico para as células (ALBRECHT et al., 2009). O aumento na atividade desta enzima tem relação com uma maior produção de peróxido de hidrogênio, sendo esta uma molécula chave para vários processos metabólicos que acontecem na célula, por exemplo, a produção de radicais livres, a lignificação e produção de compostos fenólicos, além de atuar como gatilho para as respostas de resistência sistêmica adquirida (SAR) (NUNES; VIANA; MACHADO NETO, 2015).

A CAT é uma enzima que tem por função catalisar a redução do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ). O aumento da atividade da CAT acarreta a uma diminuição das espécies reativas de oxigênio, proporcionando ao organismo um mecanismo de defesa das plantas ao estresse oxidativo (PEREIRA, et. al, 2010). Enquanto a APX que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água, utilizando o ascorbato como doador de elétrons. Em conjunto, estas enzimas representam componentes importantes do sistema de proteção oxidativa nas folhas e nas raízes de plantas.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Ampliar os conhecimentos sobre os mecanismos de respostas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp, mediante o estudo de aspectos ecofisiológicos e bioquímicos visando uma melhor compreensão das estratégias desenvolvidas por esta espécie em processo de deficiência hídrica.

## **2.1. Objetivos Específicos:**

- a.** Verificar os mecanismos ecofisiológicos e bioquímicos de adaptação à deficiência hídrica em plantas jovens de Visgueiro com ênfase no comportamento das relações hídricas e metabolismo do carbono.
  
- b.** Verificar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos de adaptação à deficiência hídrica em plantas jovens de Visgueiro com ênfase no comportamento das relações hídricas e metabolismo do nitrogênio.
  
- c.** Verificar os efeitos do estresse hídrico sobre a atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, em folhas e raízes das plantas de Visgueiro.

## **3. HIPOTESES:**

**H0:** A deficiência hídrica promoverá alterações de mecanismos ecofisiológicos em plantas de Visgueiro.

**H0:** A deficiência hídrica ocasionará alterações no metabolismo do carbono e do nitrogênio em plantas de Visgueiro.

**H0:** A deficiência hídrica acarretará alterações na atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, em plantas de Visgueiro.

**H0:** As plantas de Visgueiro são tolerantes a deficiência hídrica.

## REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, L.P.; BRACCINI, A.L.; ÁVILA, M.R.; BARBOSA, M.C.; RICCI, T.T.; ALBRECHT, A.JR.P. Aplicação de biorregulador na produtividade do algodoeiro e qualidade de fibra, **Scientia Agraria**, v.10, p.191-198, 2009.
- ALVARENGA, I. C. A. **Estresse Hídrico em Alecrim-pimenta (Lippia Sidoides Cham.):** aspectos fisiológicos e produtivos. 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, Minas Gerais, 2010.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.206-216, 2007.
- ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111, p.249-296, 2011.
- BORRMANN, D. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabolitos incolores.** 2009. 107 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, p. 551-560, 2009.
- CVIKROVÁ, M.; GEMPERLOVÁ, L.; MARTINCOVÁ, O.; VANKOVÁ, R. Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in proline over producing tobacco plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.7-15, 2013.
- DA SILVA, A.A.; DELATORRE, C.A. Alterações na arquitetura de raiz em resposta à disponibilidade de fósforo e nitrogênio. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v.8, n.2, p. 152-163, 2009.
- DURIGON, A. **Soil-plant-atmosphere water transfer mechanisms and their relation to crop water stress.** 2011. 143 f. Tese (Doutorado) - ESALQ, Piracicaba, 2011.
- FIDELIS, R. R.; KISCHEL, E.; MACHADO, A.F.L.; CANCELLIER, E.L.; PASSOS, N.G. Eficiência no uso de nitrogênio de genótipos de arroz em solos de várzea irrigada. **Revista Verde**. v.7, n.1, p. 264 - 272. Mossoró – RN, 2012.
- FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v.97, p.1-10, 2014.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**. v.48, p.909-930. 2010.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M., RAHMAN, I. M M. Water stress in plants: Causes, effects and responses. In: Water Stress, Edited by: Ismail M. M. Rahman and Hiroshi Hasegawa. 1–14 **Rijeka, Croatia**: In Tech, 2012.

MAIA, P. S. P.; OLIVEIRA NETO, C.F.; CASTRO, D.S.; FREITAS, J.M.N.; LOBATO, A.K.S.; COSTA, R.C.L. Conteúdo Relativo de Água, Teor de Prolina e Carboidratos Solúveis Totais em Folhas de Duas Cultivares de Milho submetidas a Estresse Hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.2, p.918-920, 2007.

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

NUNES, R.C.A.; VIANA, R.S.; MACHADO NETO, N.B. Atividade enzimática da superóxido dismutase em resposta aos fitorreguladores em *Gerbera jamensonii*. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n.1, p.83-89, 2015.

OBERMÜLLER, F.A.; DALY, D.C.; OLIVEIRA, E.C.; SOUZA, H.F.T.P; OLIVEIRA, H.M.; SOUZA, L.S.; SILVEIRA, M. **Guia Ilustrado e Manual de Arquitetura Foliar para Espécies Madeireiras da Amazônia Ocidental**. Universidade Federal do Acre – UFAC e New York Botanical Garden – NYBG, Rio Branco, 101p, 2011.

OLIVEIRA, L. M; SILVA, J. N; COELHO, C. C. R; NEVES, M. G; SILVA, R. T. L; OLIVEIRA NETO, C. F. Pigmentos fotossintetizantes, aminoácidos, proteínas em plantas jovens de graviola submetida ao déficit hídrico. **Revista Agroecosistemas**, v.5, n.1, p.39-44. 2013.

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

PEREIRA, F. J.; MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, E. M. C.; ALVES, J. D. Atividade do sistema antioxidante e desenvolvimento de aerênquima em raízes de milho 'Saracura'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.45, n.5, p.450-456, 2010.

PINEDO, G.J.V.; FERRAZ, I.D.K. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* (Benth ex Walp): sementes com dormência física de árvore da Amazônia. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.32, n. 1 p. 39-49, 2008.

RHEIN, A. F. L.; SANTOS, D. M. M.; CARLIN, S. D. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob os estresses hídrico e ácido no solo. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1345-1360, out./dez. 2011.

ROSSETO, J.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; RONDON NETO, R.M.; SILVA, I.C.O. Germinação de sementes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. (Fabaceae) em diferentes temperaturas. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.33, n.1, p.47-55, 2009.

SALAMONI, A. T. Apostila de aulas teóricas de Fisiologia Vegetal. Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria. sem.2, 2008.

SALOMÃO, R.P.; BRIENZA JÚNIOR, S.; SANTANA, A.C. Análise da florística e estrutura de floresta primária visando a seleção de espécies-chave, através de análise multivariada, para a restauração de áreas mineradas em unidades de conservação. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.36, n.6, p.989-1007, 2012.

SILVA, E. C., NOGUEIRA, R. J. M. C.; VALE, F. H. A., MELO, N. F., ARAÚJO, F. P. Water relations and organic solutes production in four umbu (*Spondias tuberosa*) tree genotypes under intermittent drought. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v..21, n.1, p.43-53, 2009.

SILVA, E.N.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.69, n.3, p.279-85, 2010.

SILVA, R. de C. B. da. **Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de melancia submetidas ao aumento do CO<sub>2</sub>, temperatura e salinidade**. 2012. 88p. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2013. Tradução: Santarém, E. R. [et al.]. **Fisiologia Vegetal**, 5ª ed. Porto Alegre: Artmed.

TREBERG, J.R.; DRIEDZIC, W.R. The accumulation and synthesis of betaine in winter skate (*Leucoraja ocellata*). **Comp. Biochem. Phys. A**, v.147, p.475-83, 2007.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, N.11, p. 1-23, 2010.

## 5. CAPÍTULO I

### **BIOMETRIA E METABOLISMO DO CARBONO EM PLANTAS JOVENS DE *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

#### **RESUMO**

O objetivo desse trabalho foi avaliar a biometria e o metabolismo do carbono em plantas jovens de Visgueiro submetidas à deficiência hídrica. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), sendo as análises fisiológicas e Bioquímicas realizadas no Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), campus Belém, Pará. As mudas utilizadas foram compradas na AIMEX, com aproximadamente sete meses de idade, medindo 10-15 cm de altura, sendo acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 7,5L. O substrato usado foi terra preta argilosa. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida 2 x 3 (duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica, e três tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA). O conteúdo relativo de água nas plantas submetidas à deficiência hídrica reduziu de 73,5% para 52,99%, equivalentes a 0 e 10 dias de estresse. A suspensão da irrigação por 10 dias causou o aumento nas concentrações de carboidratos solúveis totais, os valores encontrados ao décimo dia foram 0,5567 mg g<sup>-1</sup> MS e 0,4672 mg g<sup>-1</sup> MS, para plantas submetidas ao estresse e irrigadas, respectivamente. As concentrações de sacarose em 5 dias e aos 10 dias foram de 99,71 e 174,34 mg sacarose/ g MS nas folhas enquanto que para as plantas mantidas sob controle obtiveram valores de 82,86 e 128,50 mg sacarose/ g MS. Houve redução em todas as medidas de crescimento como forma de defesa ao estresse submetido. Contudo, pode-se observar que a espécie em estudo mesmo apresentando a redução no seu conteúdo relativo de água manteve ativo seu metabolismo do carbono.

**Palavras – chave: Suspensão hídrica. Ajustadores Osmóticos. Visgueiro.**

## 5- CHAPTER I

### **BIOMETRICS AND METABOLISM OF CARBON IN YOUNG PLANTS *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. SUBMITTED TO WATER DEFICIT**

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the biometrics and the carbon metabolism in young plants *Visgueiro* submitted to water stress. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia, and the physiological and Biochemical analyzes performed on Biodiversity Studies Laboratory in Higher Plants, Belém, Pará. The young plants used were bought at AIMEX, approximately seven months of age, measuring 10-15 cm in height, and placed in plastic pots with a capacity of 7,5L. The substrate used was loamy black soil. The experimental design was completely randomized in subdivided plots 2x3 (two water conditions: control and water stress, and three evaluation times) totaling 30 experimental units, in which each experimental unit consisted of a plant / pot. The experimental results were submitted to analysis of variance. The relative water content in plants subjected to water stress reduced from 73.5% to 52.99%, corresponding to 0 and 10 days of stress. The suspension of irrigation for 10 days caused an increase in total soluble carbohydrate concentrations, the values found on the tenth day were 0.5567 mg g<sup>-1</sup> MS and 0.4672 mg g<sup>-1</sup> MS, for plants subjected to stress and irrigated, respectively. The sucrose concentrations at 5 days and 10 days were 99.71 and 174.34 mg sucrose / g DM. the sheets while kept under control for plants obtained values 82.86 and 128.50 mg sucrose / g DM. There was a reduction in all growth measures as a defense to stress submitted. However, it can be seen that the species under test even with a reduction in its water content held on its active carbon metabolism.

**Keywords:** water suspension. Osmotic adjusters. *Visgueiro*.



## 5.1.INTRODUÇÃO

Entre as espécies florestais de potencial econômico pertencentes ao gênero *Parkia*, encontra-se a *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp., popularmente conhecida como Visgueiro, uma árvore de dossel, copa plana, suas plântulas apresentam taxas de crescimento relativamente altas em florestas abertas como também baixa taxa de mortalidade, e sua madeira, de baixa densidade, apresenta fácil processamento, a espécie é fixadora de nitrogênio e pode ser recomendada para o plantio em áreas degradadas (PINEDO E FERRAZ, 2008).

O sucesso da atividade florestal depende, dentre outros fatores, da escolha de espécies tolerantes ao estresse hídrico, uma vez que o crescimento e o desenvolvimento das plantas são afetados por fatores bióticos e abióticos. Em espécies florestais, os sintomas da deficiência hídrica são mais visíveis e drásticos na fase de muda (CARVALHO et al., 2015).

Os vegetais respondem aos efeitos causados pela deficiência hídrica por meio de mecanismos adaptativos como o fechamento dos estômatos, ajustamento osmótico, ajustamento da parede celular, produção de folhas menores, redução da área foliar e/ou indução da abscisão foliar e aumento da densidade e profundidade das raízes. Entretanto, os mecanismos de redução da área foliar e/ou abscisão foliar e fechamento dos estômatos limitam a produtividade do vegetal, pois reduzem, respectivamente, a interceptação de luz e a absorção do gás carbônico (CO<sub>2</sub>) do ar atmosférico, provocando uma redução da atividade fotossintética (TAIZ & ZEIGER, 2013; FERNANDES et al., 2015).

Quando submetidas à deficiência hídrica, as plantas apresentam inibição no crescimento; alteração na razão raiz e parte aérea, promovendo aumento na alocação de biomassa para as raízes em detrimento da parte aérea, modificações na área e comprimento do sistema radicular, para explorar um maior volume de solo e melhorar a absorção de água e nutrientes (GUO et al., 2010; SCHWIDER et al., 2013).

O efeito do estresse é geralmente percebido como um decréscimo na fotossíntese líquida e crescimento, estando associados com alterações no metabolismo do carbono e nitrogênio (GONÇALVES et al., 2010). Outra resposta fisiológica de plantas ao estresse hídrico é o acúmulo de açúcares solúveis, sendo um mecanismo que apresenta importante papel no ajustamento osmótico, havendo uma forte correlação entre o acúmulo de açúcares e a tolerância ao estresse osmótico, onde as plantas recuperadas do estresse são exemplos de relação positiva entre acúmulo de hidratos de carbono, principalmente sacarose, e resposta de tolerância ao estresse (OLIVEIRA et al., 2013; MORANDO et al., 2014).

Com base no exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a biometria e o metabolismo do carbono em plantas jovens de Visgueiro submetidas à deficiência hídrica.

## 5.2.MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1. Local e montagem do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação situada à 01°28'03"S; 48°29'18" W, sendo as análises fisiológicas realizadas no Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), ambos pertencentes ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus Belém, Pará, no período de março de 2015 a agosto de 2015.

No presente trabalho, foram utilizadas mudas de visgueiro (*Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp), compradas na AIMEX, com aproximadamente sete meses de idade, medindo 10-15 cm de altura, sendo acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 7,5L. O substrato usado foi terra preta argilosa, onde uma amostra foi conduzida para o Laboratório de solos da Embrapa para que fosse realizada a análise química, e os resultados podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Resultado da Análise química do substrato utilizado.

Análise do Solo								
Amostra	pH	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al
Identificação	Água	mg/dm <sup>3</sup>			cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>			
Amostra 01	5,1	2	71	17	0,9	1,3	0,7	4,95

Fonte: Próprio Autor

Para suprir a carência nutricional do solo e das plantas, foi aplicada solução nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950) modificada conforme a tabela 2, recebendo 5 mL de macro e micronutrientes a cada 30 dias até o início do experimento. Antes do início dos tratamentos, todas as plantas foram colocadas sob sombrite 50%, irrigadas diariamente durante um mês para suprir a necessidade hídrica e aclimação da planta (FERNANDES; SYKES, 1968).

Tabela 2. Composição química da solução nutritiva conforme HOAGLAND e ARNON, (1950) modificada.

Solução Nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950) Modificada					
1ª Aplicação		2ª Aplicação		3ª Aplicação	
CaCl <sub>2</sub>	0,5 ml	KNO <sub>3</sub>	1 ml	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 ml			KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,25 ml
Fe Edta	1 ml			CaCl <sub>2</sub>	1 ml
				MgSO <sub>4</sub>	0,25 ml
				Fe Edta	0,25 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	7 ml	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,5 ml	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1 ml
				CaCl <sub>2</sub> BI	0,25 ml
MgSO <sub>4</sub>	1 ml			Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,25 ml
				KNO <sub>3</sub>	0,25 ml
Micronutrientes	1 ml			Micronutrientes	0,25 ml
Aferido: pH 6 em 1000 ml		Aferido: em 500 ml		Aferido: pH 6 em 500 ml	

Fonte: Próprio Autor

### 5.2.2. Delineamento e condução experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdividas 2 x 3 (duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica, e três tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso.

As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: irrigado (controle) e deficiência hídrica, no qual a imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação no período máximo de 10 dias, sendo: tempo 0 (zero dias de deficiência hídrica), o tempo 1 (5 dias de deficiência hídrica) e o tempo 2 (10 dias de deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo cada unidade composta de uma planta/vaso.

Durante o período das análises, as plantas controle foram regadas diariamente para repor a água perdida. Fez-se também o controle de plantas daninhas manualmente. Não foram observados sintomas visíveis de deficiência nutricional, bem como o ataque de pragas e patógenos.

### 5.2.3. Coleta e armazenamento do material

As coletas das plantas ocorreram às 05:00 h na casa de vegetação, sendo retirados os discos das folhas primárias completamente expandidas de cada uma das repetições para a determinação do conteúdo relativo de água (CRA), sendo feito logo em seguida as medidas

biométricas. Posteriormente, as plantas foram separadas em folhas e raízes, e colocadas em estufa de ar forçada a 70°C para trituração em moinho até a obtenção do pó fino para as análises da determinação de carboidratos e sacarose, sendo devidamente armazenado em tubos falcon.

#### 5.2.4. Variáveis Biométricas

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

#### 5.2.5. Determinação do Conteúdo relativo de água

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

$$\text{CRA} = \frac{\text{MF}_1 - \text{MS}}{\text{MF}_2 - \text{MS}} \times 100 (\%)$$

**Em que:**

MF1: Massa Fresca 1;

MF2: Massa Fresca 2;

MS: Massa Seca.

#### 5.2.6. Determinação de carboidratos solúveis totais (CST)

Carboidratos solúveis totais (CST) foi determinado segundo o método colorimétrico descrito por Dubois et al., (1956), modificado como se segue: Amostras vegetais foram homogeneizadas em 5 mL de água destilada e o homogeneizado resultante incubado a 100 °C, por 30 minutos. Após centrifugação a 700 g, por 10 minutos, o sobrenadante foi coletado e o

procedimento de extração repetido por duas vezes. Os sobrenadantes foram combinados e homogeneizados e, do extrato final resultante, uma alíquota de 20  $\mu$ L foi amostrada para as demais etapas. A cada alíquota foi adicionado 480  $\mu$ L de água deionizada e, após agitação por 15 minutos, foram adicionados 500  $\mu$ L de fenol 5 % e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada amostra. Após vigorosa agitação durante 20 minutos, a leitura foi realizada por um espectrofotômetro (Genesys<sup>TM</sup>10 series, Thermo Electron Co, Wisconsin, USA) a 490 nm.

### **5.2.7. Determinação de sacarose**

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

### **5.2.8. Análises dos dados estatísticos**

Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando verificadas diferenças significativas as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Sendo observados os desvios padrão em relação às médias do tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas usando-se o programa Assistat 7,7.

## **5.3. RESULTADOS e DISCUSSÃO**

### **5.3.1. Conteúdo Relativo de água**

O conteúdo relativo de água nas plantas submetidas à deficiência hídrica reduziu significativamente ao longo do tempo, quando comparados as plantas submetidas ao fornecimento de água. As plantas irrigadas mantiveram médias de 76% ao longo do experimento. Os valores apresentados pelas plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 73,5%, 62,47% e 52,99% equivalentes a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica (Figura 1).

Essa diminuição no conteúdo relativo de água dos tecidos foliares pode ser explicada pela retenção de moléculas de água nos colóides do solo (Figura 1), que através dessa redução interfere na formação do gradiente de concentração, provocando a diminuição no balanço hídrico das plantas (COOPER et al., 2012). Com isso, reduz à quantidade de água existente no xilema, aumentando a tensão nos vasos xilemáticos, fazendo com que a planta realize uma força necessária para absorver do solo a água e ser transportada a parte aérea (MOLLE, 2011). Conseqüentemente a condutividade hidráulica das raízes é restringida, ocasionando a inibição da atividade metabólica e a redução na produção de ATP que acaba limitando o suprimento de energia para o crescimento das raízes, causando redução no desenvolvimento e processos fisiológicos da planta (COSTA, 2012).

Segundo Soares et al., 2015, a menor disponibilidade de água no solo afeta o estado hídrico das folhas e seus os mecanismos de controle de perda de água através do fechamento parcial dos estômatos e de acordo com Silva, (2013) as plantas como forma de defesa, se ajustam osmoticamente (Figura 2 e 3) para conservar a absorção de água nos colóides do solo e continuar com seus processos metabólicos.

Resultados diferentes foram encontrados por Medeiros et al., (2012) trabalhando com estresse hídrico em mudas de acerola não observou resultados para esta variável mesmo com a redução do potencial de água na folha, enquanto que Sant'anna (2009) trabalhando com mudas de laranjeira e Wang, (2014) estudando mudas de seringueira encontraram reduções contínuas nas plantas submetidas a deficiência hídrica.

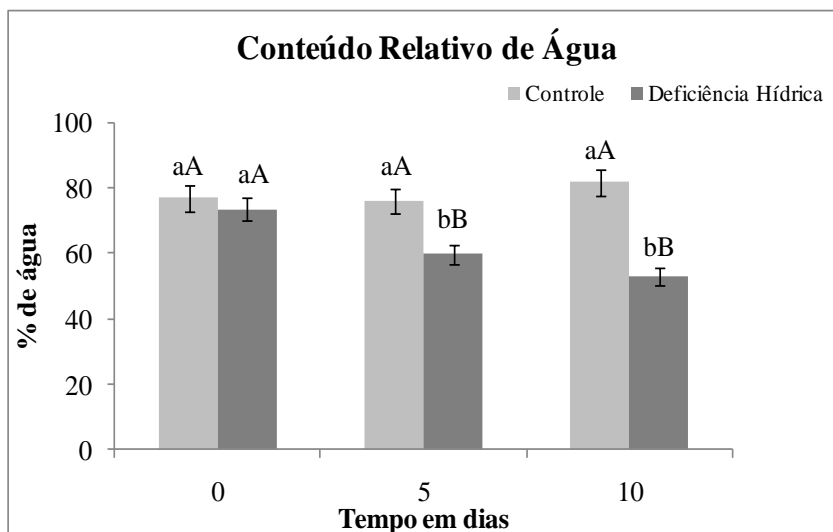


Figura 1. Conteúdo Relativo de Água em folhas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 5.3.2. Concentrações de Carboidratos solúveis totais

As plantas submetidas à deficiência hídrica aumentaram suas concentrações de carboidratos solúveis totais nas folhas e nas raízes sob deficiência hídrica, promovendo um acréscimo significativo no conteúdo dessa substância em ambas as partes como mostram a Figuras 2. Os valores obtidos para as folhas das plantas estressadas no tempo de 0, 5 e 10 dias respectivamente, foram de 0,3505, 0,4508 e 0,5567 mg g<sup>-1</sup> MS e nas folhas das plantas controle foram 0,3506, 0,3788 e 0,4672 mg g<sup>-1</sup> MS. Para as raízes das plantas submetidas em estresse apresentaram valores de 0,2011, 0,2254 e 0,2333 mg g<sup>-1</sup> MS enquanto que nas plantas mantidas irrigadas foram de 0,2011, 0,2108 e 0,2286 mg g<sup>-1</sup> MS, respectivamente 0, 5 e 10 dias, representando diferenças estatísticas entre as condições hídricas e os períodos de avaliação no 10º dia de experimento (Figura 2).

Este aumento nos teores de carboidratos solúveis totais tanto nas folhas como nas raízes mostram que a *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. (Figura 2), apresentou um custo energético mais elevado para a osmorregulação por meio da síntese de carboidratos que as plantas submetidas ao controle (Azevedo Neto et al., 2010), ocorrendo como forma de resposta de tolerância a deficiência hídrica, ocasionando este ajustamento osmótico no metabolismo da espécie estudada para evitar a desidratação celular.

Estes aumentos nas concentrações de carboidratos podem ocorrer logo no início da imposição do estresse sendo como resultado da redução do crescimento e pela intensidade do estresse devido a degradação do amido nos tecidos que o acumulam resultando da atividade da enzima amilase que eleva a concentração dos açúcares redutores, além disso, as hexoses liberadas a partir da hidrólise da sacarose podem ser utilizadas nos processos anabólicos ou catabólicos, fornecendo os açúcares para acumulação e ajustamento osmótico (LOBATO et al., 2009; MEDEIROS et al., 2012).

Outra possível resposta a esse aumento na concentração de carboidratos pode estar associado ao aumento do ácido abscísico nas folhas, que em baixas condições hídricas no solo, aumenta a razão raiz/parte aérea da planta e induz o fechamento dos estômatos, auxiliando a planta a enfrentar a deficiência hídrica, diminuindo assim a capacidade fotossintética, o que se traduz possivelmente em menor acúmulo de amido, podendo sinalizar a necessidade do aumento dos teores de sacarose e carboidratos (LISAR et al., 2012).

Resultados semelhantes foram encontrados por Mendes, 2007 observou um aumento na concentração de carboidratos em *Swtenia macrophyla* em condições de deficiência hídrica em 12 dias e por Amorim et al., (2011) ao avaliar folhas de *Anacardium occidentale* verificou um aumento desse soluto como resposta ao estresse hídrico.

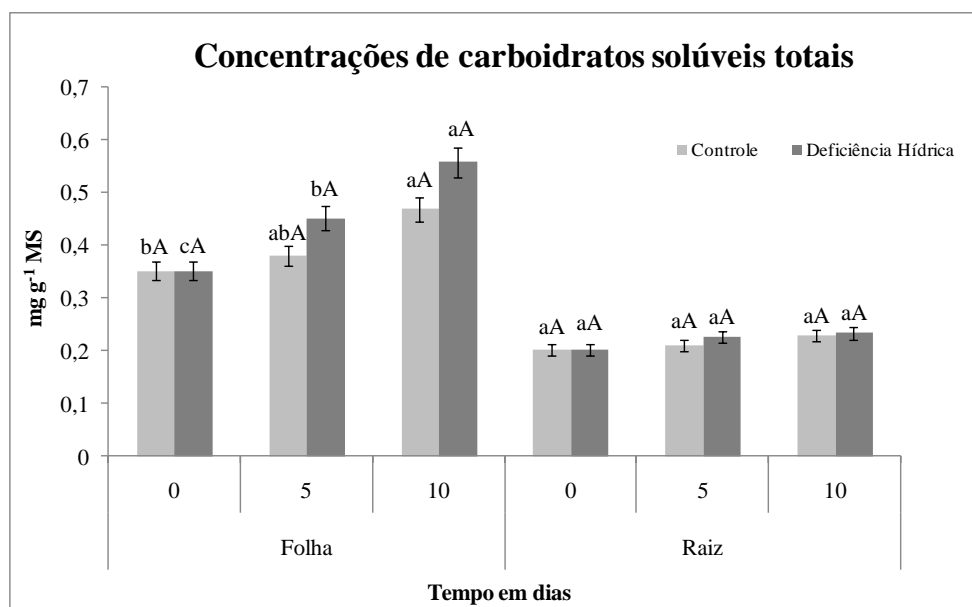


Figura 2. Concentrações de Carboidratos Solúveis Totais em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.



### 5.3.3. Concentrações de sacarose

As concentrações de sacarose mostraram-se semelhantes ao de carboidratos solúveis totais, nas plantas sob deficiência hídrica (Figura 3). As concentrações de sacarose nas folhas e nas raízes aumentaram de acordo com os dias de estresse, havendo diferença estatística nas condições hídricas no 5° e 10° dias para as folhas quando submetidas à deficiência hídrica, para as raízes houve diferença significativa apenas no 10° dias. Os valores nesses tratamentos em 5 dias e aos 10 dias foram de 99,71 e 171,34 mmol g<sup>-1</sup> MS nas folhas enquanto que para as plantas mantidas sob controle obtiveram valores de 82,86 e 128,50 mmol g<sup>-1</sup> MS. Para as raízes das plantas sob estresse os valores foram de 168,94 e 179,89 mmol g<sup>-1</sup> MS nas raízes enquanto que nas plantas mantidas irrigadas foram de 127,76 e 73,25 mg mmol g<sup>-1</sup> MS (Figura 3).

Esse aumento para ambas condições hídricas podem estar relacionados possivelmente ao aumento das atividades das enzimas que agem no processo de quebra do teor de amido, onde os açúcares formados e transportados podem ser na forma de e estar associado a sua hidrólise e, conseqüentemente, a liberação das hexoses, onde duas enzimas catalisam esta reação: a *SuSy*, gerando *FRU + UDP-glicose*, ou as invertases gerando *GLU + FRU*, que regulam a entrada da sacarose em diferentes rotas de utilização, incluindo o carregamento de carboidratos no complexo *cc-ec* pela não utilização durante a redução do crescimento vegetativo (fotossíntese), que serão utilizadas nos processos de adaptação (RAE et al., 2005; SMITH; STITT, 2007).

Segundo ASHRAF et al., (2011), esse mecanismo de defesa se constitui devido ao acúmulo, no vacúolo ou no citosol, de solutos compatíveis como a sacarose que contribuem para a manutenção do equilíbrio hídrico e a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares.

Resultados semelhantes foram encontrados por Costa, (2010) trabalhando com plantas de *Costus arabicus* L., onde obteve um incremento de sacarose nas folhas e nas raízes sob estresse hídrico e diminuição nas plantas controle.

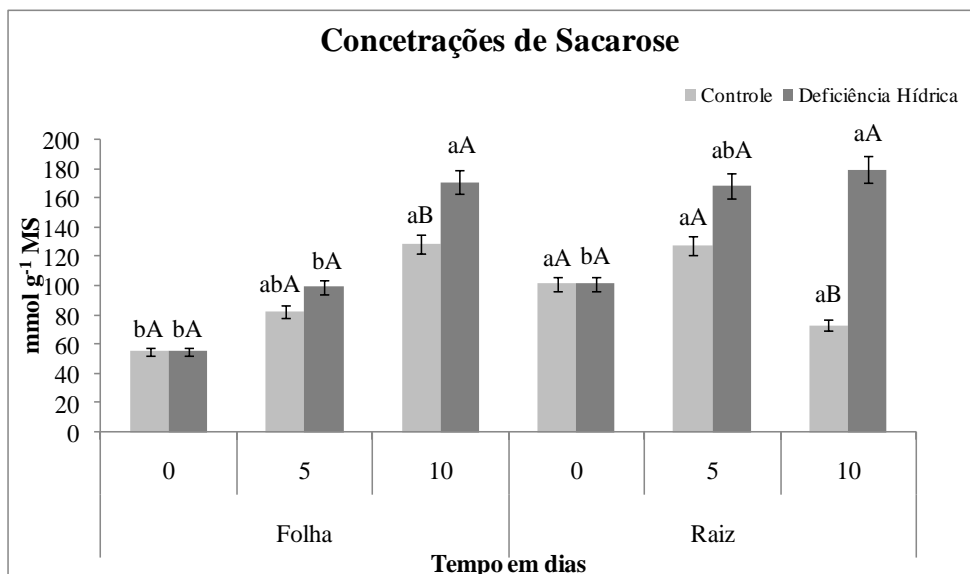


Figura 3. Concentrações de Sacarose em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 5.3.4. Variáveis Biométricas

#### 5.3.4.1. Altura

A altura foi afetada ao longo dos dias e a intensidade do estresse, onde apresentou médias de 16,60, 16,18 e 5,56 cm enquanto que nas plantas mantidas irrigadas foram de 16,88, 18,14 e 19 cm, respectivamente 0, 5 e 10 dias, mostrando uma diferenciação significativa nos tratamentos hídricos e restrição do crescimento das mudas submetidas a deficiência hídrica (Figura 4).

Uma planta, quando submetida à deficiência hídrica tem, praticamente, todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento afetados, o que pode implicar em modificações em sua anatomia e morfologia e até interferir em muitas reações metabólicas (Achakzai, 2009). A falta de água reduz a pressão de turgor e, em consequência, o fluxo de seiva pelos vasos condutores, fato que tende a diminuir o alongamento celular e o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

Segundo Bassegio et al., (2012) quando há maior disponibilidade hídrica as plantas apresentam maior crescimento em altura, onde pode se associar que quando submetida a deficiência hídrica a redução do contudo tais diminuições observadas na espécie estudada

ocorreu como uma estratégia adaptativa da planta para sobreviver e se defender ao ambiente imposto a ela (DÍAZ-LOPEZ et al., 2012),

Para Butrinowski et al., (2013) a deficiência hídrica pode afetar diretamente o crescimento em altura e o diâmetro do caule, reduzindo a expansão celular e a formação da parede celular e, indiretamente, reduzindo a disponibilidade de carboidratos ou influenciando a produção de reguladores de crescimento.

Trabalhos semelhantes também foram relatadas por Achten et al., (2010) em *J. curcas* cultivadas sob estresse hídrico severo (sem irrigação), médio (40% da CC) e em plantas completamente irrigadas e enquanto que Vieira (2011) com as espécies *Eucalyptus urograndis* e *Acacia mearnsii* não encontrou diferença estatística entres os períodos de deficiência hídrica para a variável altura.

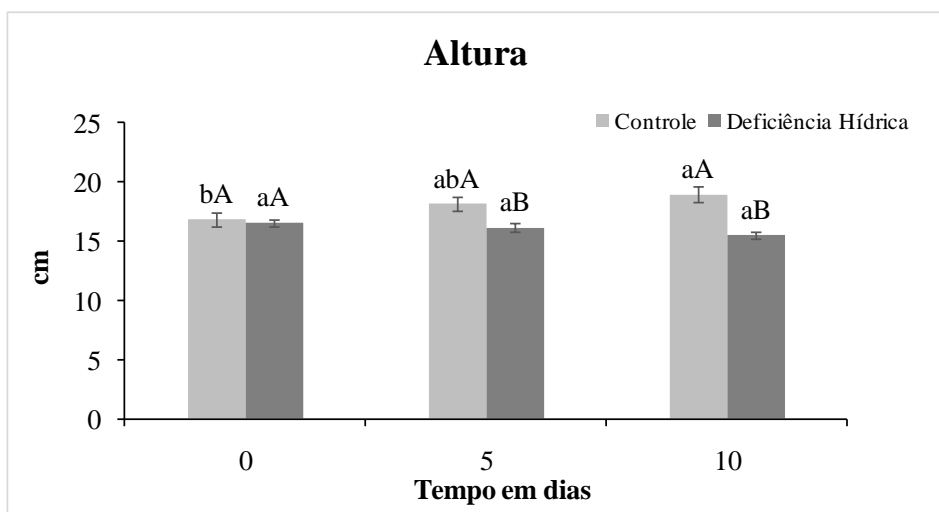


Figura 4. Altura de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

#### 5.3.4.2. Diâmetro à altura do colo

A deficiência hídrica também reduziu o DAC (Figura 5) onde variaram de 8,60, 10,88 e 10,84 mm para as plantas controle enquanto que as submetidas à deficiência hídrica apresentaram médias de 8,55, 9,55 e 8,63 mm, respectivamente 0, 5 e 10 dias, mostrando uma diferença significativa no 5° dia de estresse.

O crescimento em diâmetro depende das atividades cambiais, que por sua vez é estimulada a partir de carboidratos produzidos pela fotossíntese e hormônios translocados das

regiões apicais. O fechamento dos estômatos possivelmente pode influenciar no tamanho do diâmetro do caule devido a influencia negativa na produção do acúmulo de assimilados, aumentando a atividade de enzimas oxidantes que resulta da elevação da temperatura da planta que faz com que ocorra o gasto de fotoassimilados e posteriormente redução do crescimento do caule. Logo, o crescimento em diâmetro é um bom indicador da assimilação líquida, já que depende da fotossíntese corrente (VIEIRA et al., 2011).

Fernandes et al., (2012), avaliando os efeitos da irrigação e da nutrição mineral sobre o *Eucalyptus grandis* ao longo de 5 anos, obtiveram resultados menores no diâmetros com os tratamentos submetidos a deficiência hídrica.

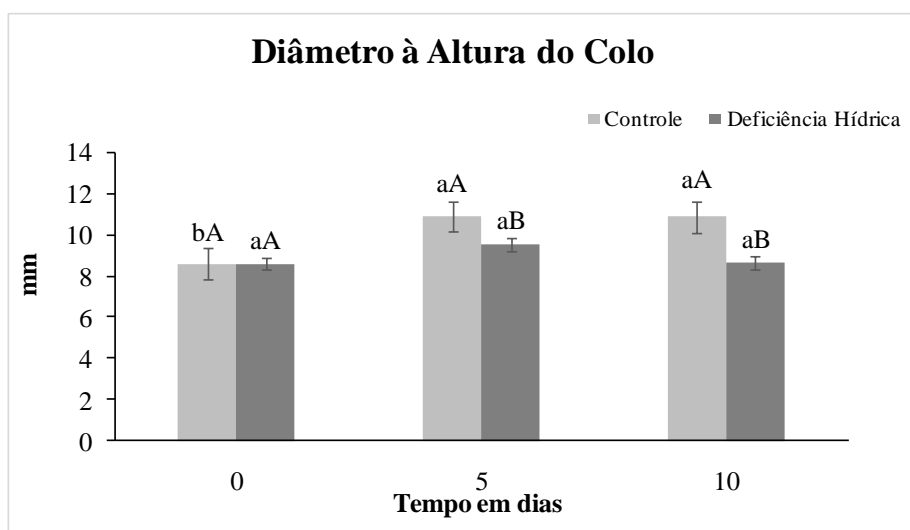


Figura 5. Diâmetro à altura do colo de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

#### 5.3.4.3. Número de Folhas e Folíolos

O número de folhas (Figura 6A) variou significativamente entre os tratamentos, mostrando que quando submetida à deficiência hídrica a planta reduz a sua emissão foliar a fim de evitar perdas de água para a atmosfera, os valores obtidas nesses tratamentos foram de 6,40, 5,2 e 5,4 enquanto que nas plantas mantidas irrigadas as médias foram de 6,40, 8 e 7,6 respectivamente 0, 5 e 10 dias. Tais resultados mostram uma diferença significativa no 5 e 10º dia de estresse. Sendo também observado que nas plantas submetidas à deficiência hídrica apresentaram uma menor média em número de folíolos ao longo do 5 e 10º dia de experimento,

com médias de 101,4 e 107,8 enquanto que nas plantas controle mostraram um aumento de 154,8 e 139,6 nesses dias (Figura 6B).

A condição de estresse afetou o desenvolvimento de folhas e folíolos, (Fig. 6A e 6B), onde este comportamento pode ser interpretado como uma linha de defesa à perda de água (PAIVA; OLIVEIRA, 2006). Segundo Nascimento et al., (2011) a limitação hídrica não afeta apenas o tamanho da área foliar, mas também a quantidade de folhas que a planta possui devido reduzir a emissão e crescimento das ramificações, onde tal redução segundo Dantas, 2014, está associado ao reflexo da redução das divisões da expansão das células, provocado pela menor disponibilidade de água, adaptando-se morfológicas à seca, uma vez que a redução destes diminui também a superfície foliar sujeita à transpiração.

Os resultados obtidos por Mar et al., (2013), com plantas jovens de açaizeiros submetidos a ciclos de déficits hídricos de diferentes intensidades evidenciaram que as produções de folíolos e folhas, foram reduzidas significativamente interferindo diretamente na parte área foliar e Rosa, 2014 avaliando plantas de mogno africano submetidas a duas condições hídricas, resultados semelhantes nas plantas mantidas sob condições de suspensão hídrica em 12 meses com 16,4, enquanto que as plantas mantidas sob irrigação aumentaram sua emissão foliar.

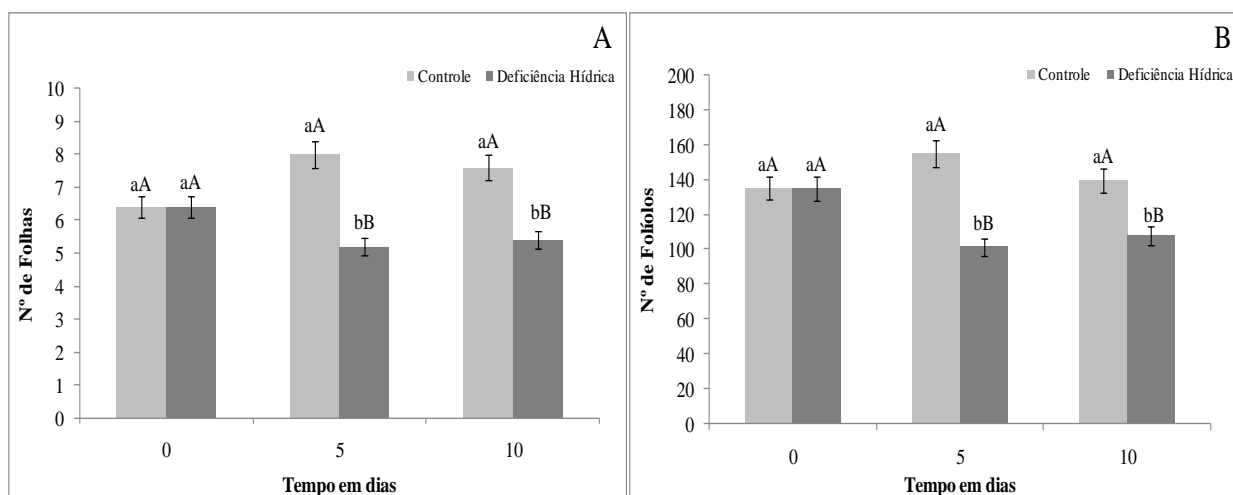


Figura 6. Número de folhas (6A) e folíolos (6B) de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

#### 5.3.4.4. Comprimento da raiz

Quanto ao comprimento das raízes, os resultados foram estatisticamente significativos para a diminuição deste parâmetro para as plantas submetidas à deficiência hídrica (Figura 7).

Os valores revelaram uma redução nas médias a partir do 5º dia de estresse, com valores de 34,10, 28,74 e 28,14 cm quando comparados as médias de 34,40, 37,14 e 38,38 cm das plantas mantidas irrigadas.

Em solos com deficiência hídrica as plantas tendem a apresentar maior crescimento radicular e um menor crescimento da parte aérea, pois quando falta água nas camadas superficiais do solo a planta investe no crescimento radicular para que ocorra maior contato das raízes com a água das camadas mais profundas. Para Scalon et al., 2011, a continuidade do crescimento radicular, sob condições de menor disponibilidade hídrica, depende da manutenção de uma pressão de turgor mínima nas células, que seja considerável para permitir o alongamento da parede celulósica e o crescimento celular. Quando o potencial da água é reduzido nas raízes, observa-se um rápido ajuste osmótico, auxiliando o restabelecimento da pressão de turgor e permitindo a manutenção do alongamento celular (HSIAO; XU, 2000).

Resultado semelhantes foram observado por Scalon et al., (2011) em plantas de *Guazuma ulmifolia Lam* que obteve maiores comprimentos na tratamento com disponibilidade de água, sugerindo que a espécie não tolera deficiência hídrica.

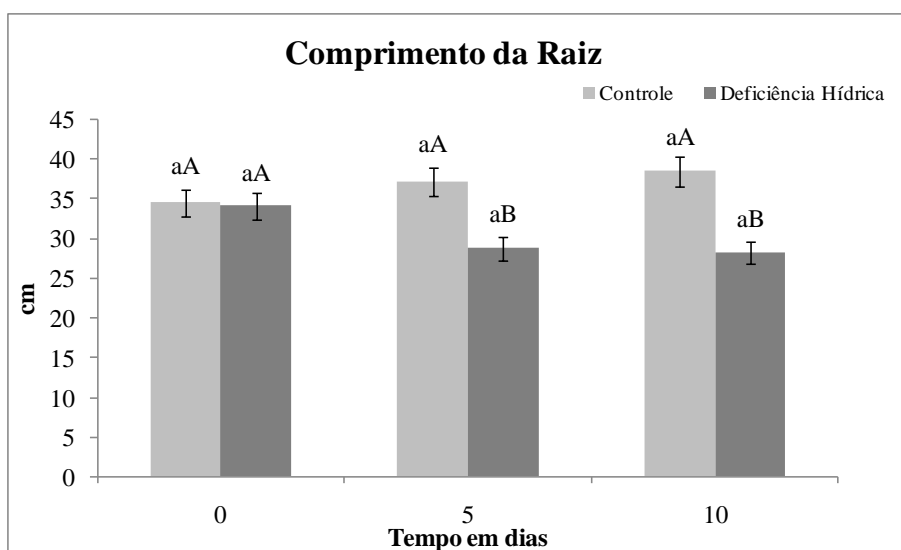


Figura 7. Comprimento da raiz de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

## **CONCLUSÕES**

A suspensão da irrigação por 10 dias foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas de Visgueiro, aumentando as concentrações de carboidratos solúveis totais e as concentrações de sacarose nas folhas e nas raízes, reduzindo suas medidas de crescimento como forma de defesa ao estresse submetido. Contudo, pode-se observar que a espécie em estudo mesmo apresentando a redução no seu conteúdo relativo de água manteve ativo seu metabolismo do carbono.

## REFERÊNCIAS

- ACHAKZAI, A. K. K. Effect of water stress on imbibition, germination and seedling growth of maize cultivars. **Sarhad Journal of Agriculture**, v.25, p.165-172, 2009.
- ACHTEN, W. M. J.; Maes, W.H; Reubens, B.; Mathijs, E.; Singh, V.P.; Verchot, L.; Muys, B. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. **Biomass and Bioenergy**, p. 1-10, 2010.
- AMORIM, A. V.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; LACERDA, C.F. Produção e fisiologia de plantas de cajueiro anão precoce sob condições de sequeiro e irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15,p. 1014-1020, 2011.
- ASHRAF, M.; AKRAM, N. A; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M. R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111. p. 249-296. 2011.
- AZEVEDO NETO, A. D.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R. C. Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water deficit. **Journal of Plant Interaction**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2010.
- BASSEGIO, D.; SANTOS, R.F.; NOGUEIRA, C.E.C.; CATTANEO, A.J.; ROSSETTO, C. Manejo da irrigação na cultura da linhaça. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.1, n.3, p. 98-107, 2012.
- BUTRINOWSKI R. T., BUTRINOWSKI I. T., SANTOS E. L., PICOLOTTO P.R., PICOLOTTO R. A., SANTOS R. F. Disponibilidade hídrica no desenvolvimento inicial de mudas de *Eucalyptus grandis* em ambiente protegido. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.2, n.3, p. 84-93, 2013.
- CARVALHO, R.P.; DAVIDE, L.M.C.; BORGES, F.L.G.; DAVIDE, A.C.; DANIEL, O. Respostas morfofisiológicas entre procedências de canafístula submetidas a diferentes condições hídricas e nutricionais. **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 35, n. 83, p. 179-188, 2015.
- COOPER, M.; ROSA, D. J.; MEDEIROS, J. C.; OLIVEIRA, T. C. de; TOMA, R. S., JUHÁSZ, C. E. D. Hydro-physical characterization of soils under tropical semideciduous forest. **Scientia Agrícola**, v. 69, n. 2, p. 152-159, 2012.
- COSTA, M. A.; PINHEIRO, H. A.; SHIMIZU, E. S. C.; FONSECA, F. T.; FILHO, B. G. S.; MORAES, FIGUEIREDO, D. M. Lipid peroxidation, chloroplastic pigments and antioxidant strategies in *Carapaguianensis* (Aubl.) subjected to water-deficit and short-term rewetting. **Trees**, v.24, p.275-283, 2010.



COSTA, M. F. Dicionário de Termos Médicos. Editora: Porto Editora, Coleção: DICIONÁRIOS TEMÁTICOS. p. 1584. 2012.

DANTAS, S. G. Crescimento inicial e morfologia foliar em plantas de *Enterolobium contortisliquum* (Vell.) Morong. E *Erythrina velutina* Mart. Ex Benth, sob estresse hídrico. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Rio Grande do Norte, Macaíba, RN, 48p. 2014.

DÍAZ-LOPEZ et al. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. **Agricultural Water Management**, v. 105, p. 48-56, 2012.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 305-356. 1956.

FERNANDES, A. L. T. ; Thaíla de M., Florêncio ; Faria, Marianne F. de . Análise biométrica de florestas irrigadas de eucalipto nos cinco anos iniciais de desenvolvimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** (Online), v. 16, p. 505-513, 2012.

FERNANDES, B.; SYKES, D.J. Capacidade de campo e a retenção de água em três solos de Minas Gerais. **R. Ceres**, 15:1-37, 1968.

FERNANDES, E.T.; CAIRO, P.A.R.; NOVAES, A.B.; Respostas fisiológicas de clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação sob deficiência hídrica. **Ciência Rural**, v.45, n.1, p. 29-34, 2015.

GONÇALVES, E.R.; FERREIRA, V.M.; SILVA, J.V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T.P.; DUARTE, W.G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.4, p.378–386, 2010.

GUO, X.Y.; ZHANG, X.S.; HUANG, Z.Y. Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. **Journal of Plant Ecology**, v.3, n.2, pp. 79-87, 2010.

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

HSIAO, T.C.; XU, L.K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p.1595-1616, 2000.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M., RAHMAN, I. M M. Water stress in plants: Causes, effects and responses. In: Water Stress, Edited by: Ismail M. M. Rahman and Hiroshi Hasegawa. 1–14 Rijeka, Croatia: In Tech, 2012.

LOBATO, A.K.S.; COIMBRA, G.K.; NETO, M.A.M.; COSTA, R.C.L.; SANTOS FILHO, B.G.; OLIVEIRA NETO, C.F.; LUZ, L.M.; BARRETO, A.G.T.; PEREIRA, B.W.F.; ALVES, G.A.R.; MONTEIRO, B.S.; MAROCHIO, C.A. Protective action of silicon on relations and photosynthetic pigments in pepper plants induced to water deficit. **Res J Biol Sci** 4: 617-623. 2009.

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

MEDEIROS, D. B.; SILVA, E.C. DA ; SANTOS, H. R. B.; PACHECO, C. M.; MUSSER, R. DOS S.; NOGUEIRA, R. J.M.C. Physiological and biochemical responses to drought stress in Barbados cherry. **Brazilian Journal of Plant Physiology** (Impresso), v. 24, p. 181-192, 2012.

MENDES, F.S. et al. Níveis de Prolina e Carboidratos Solúveis Totais em Folhas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King R.A) Induzidas ao Estresse Hídrico e a Reidratação. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 939-941. 2007.

MOLLE, F. R. D. Alterações no metabolismo de xiloglucano de reserva em plântulas de *Hymenaea courbaril* L. (Hayne) Lee & Lang. submetidas ao déficit hídrico. Tese (Doutorado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 53 f, São Paulo, 2011.

MORANDO, R.; SILVA, A.O.; CARVALHO, L.C.; PINHEIRO, M.P.MA. DÉFICIT HÍDRICO: EFEITO SOBRE A CULTURA DA SOJA. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n. especial, p.114-129, 2014.

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

PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M. de. Fisiologia e Produção Vegetal. 1ª Ed. Lavras-MG: Editora UFLA. 2006.

PINEDO, G.J.V.; FERRAZ, I.D.K. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* (Benth ex Walp): sementes com dormência física de árvore da Amazônia. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.32, n. 1 p. 39-49, 2008.

RAE, A. L.; GROF, C. P. L.; CASU, R. E.; BONNETT G. D. Sucrose accumulation in the sugarcane stem: pathways and control points for transport and compartmentation. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 159-168, 2005.

ROSA, F. de O. Zoneamento edafoclimático e resposta de plantas jovens de mogno africano às condições do Cerrado. Dissertação – Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Goiânia, 2014.

SANT'ANNA H.L.S. Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidas à deficiência hídrica progressiva. Dissertação – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Cruzes das Almas, 2009.

SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 655-662, out.-dez., 2011.

SCHWIDER, Y.S.; PEZZOPANE, J.E.M.; CORRÊA, V.B.; XAVIER, T.M.T. Efeito do déficit hídrico sobre o crescimento de eucalipto em diferentes condições microclimáticas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p.889, 2013.

SILVA, M. A. ; SANTOS, C.M. ; Arantes, M.T. ; BRUNELLI, M.C. ; HOLANDA, L.A. . Respostas fisiológicas de cultivares de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Revista Caatinga** (Online), v. 26, p. 28-35, 2013.

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

SMITH, A.M.; STITT, M. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, Cell and Environment**, v.30. p.1126-1149. 2007.

TAIZ, L, ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 918 p. 2013.

VAN HANDEL, E. Direct micro determination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, p. 280-283, 1968.

VIEIRA, E. A.; GOMES, A. S. Desenvolvimento inicial de plantas de pau-terra-do-cerrado sob diferentes regimes hídricos. **Evolução e Conservação da Biodiversidade**, v. 2 (1), p. 58-65, 2011.

WANG, L.F. Physiological and molecular responses to drought stress in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) **Plant Phys and Bio**. 83:243-249. 2014.

## 6. CAPÍTULO II

### METABOLISMO DO NITROGÊNIO E SISTEMA ANTIOXIDATIVO EM PLANTAS JOVENS DE *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. SUBMETIDA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

#### RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o metabolismo do Nitrogênio e o sistema antioxidante em plantas jovens de *Visgueiro* submetidas à deficiência hídrica. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), sendo as análises fisiológicas e Bioquímicas realizadas no Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), ambos pertencentes ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA), campus Belém, Pará. As mudas utilizadas foram compradas na AIMEX, com aproximadamente sete meses de idade, medindo 10-15 cm de altura, sendo acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 7,5L. O substrato usado foi terra preta argilosa. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas 2 x 3 (duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica, e três tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA). O conteúdo relativo de água nas plantas submetidas à deficiência hídrica reduziu de 73,5% para 52,99%, equivalentes a 0 e 10 dias de estresse. O tempo de 10 dias de deficiência hídrica foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas de *Visgueiro*, induzindo o aumento nas concentrações de amônio livre, glicina e prolina, como nas concentrações dos aminoácidos solúveis totais e as enzimas antioxidantes nas partes avaliadas, reduzindo as concentrações de proteínas solúveis totais, nitrato e a atividade da redutase do nitrato nos tecidos foliares e nas raízes. Os indicadores do Metabolismo do Nitrogênio e o sistema oxidativo analisados foram eficientes para avaliar o estado metabólico das plantas de *Visgueiro* submetidas à deficiência hídrica.

**Palavras – chaves:** deficiência hídrica. Metabolismo do Nitrogênio. Substâncias osmorreguladoras.

## 6- CHAPTER II

### **METABOLISM OF NITROGEN AND ANTI OXIDATIVE SYSTEM ON PLANT YOUNG *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. SUBMITTED TO WATER DEFICIT**

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the nitrogen metabolism and antioxidant system in young plants *Visgueiro* submitted to water stress. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia, and the physiological and Biochemical analyzes performed on Biodiversity Studies Laboratory in Higher Plants, Belém, Pará. The young plants used were bought at AIMEX, approximately seven months of age, measuring 10-15 cm in height, and placed in plastic pots with a capacity of 7,5L. The substrate used was loamy black soil. The experimental design was completely randomized in subdivided plots 2x3 (two water conditions: control and water stress, and three evaluation times) totaling 30 experimental units, in which each experimental unit consisted of a plant / pot. The experimental results were submitted to analysis of variance. The relative water content in plants subjected to water stress reduced from 73.5% to 52.99%, corresponding to 0 and 10 days of stress. The time 10 days of water stress was sufficient to alter the metabolism of plants *Visgueiro*, inducing an increase in free ammonium concentrations, glycine, proline, total soluble amino acids and antioxidant enzymes in the assessed parties, reducing the concentrations of total soluble protein, nitrate and nitrate reductase activity in the leaves and roots. Nitrogen Metabolism indicators and oxidative system analyzed were efficient to evaluate the metabolic state of *Visgueiro* plants subjected to water stress.

**Keywords:** water stress. Nitrogen metabolism. substances osmorreguladoras.

## 6.1.INTRODUÇÃO

O Visgueiro (*Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp.) de porte arbóreo, heliófita, da família Fabaceae-mimosoideae é encontrada na Região Amazônica e com distribuição abrangendo desde o Espírito Santo à América Central (Souza Filho et al., 2005) pertence ao grupo ecológico das secundárias (SIQUEIRA; RIBEIRO, 2001). Sua madeira é de excelente uso na carpintaria e marcenaria e a árvore possui utilidade no paisagismo e recomposição de áreas degradadas (OLIVEIRA; FERRAZ, 2003). Muito utilizada na Silvicultura, apresenta como característica a fixação de nitrogênio, ajudando assim, na recuperação de solos degradados (SOUZA FILHO et al., 2005).

A baixa disponibilidade hídrica é atualmente um dos principais fatores ambientais que limita o desenvolvimento e o sucesso da atividade florestal, causando diminuição no crescimento e na produtividade de plantas, e as mudanças climáticas globais provavelmente contribuirão para que a falta de água se torne um fator de restrição ainda maior da produção em diversas áreas (MORAES et al., 2011).

O déficit hídrico afeta o conteúdo de água das folhas que diminui à medida que a umidade disponível do solo reduz, levando à perda de turgescência e ao fechamento estomático (Nascimento et al., 2011), além da desidratação celular resultando em alterações estruturais e bioquímicas, afetando também as membranas dos cloroplastos, levando à inativação do PSII e a biossíntese de compostos orgânicos (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009; DITMAROVÁ et al., 2010).

Conhecer o conteúdo relativo de água tem a função de subsidiar estudos mais aprofundados sobre o comportamento das plantas em estresse. Por esta razão, as medidas devem ser acompanhadas pela avaliação de outros parâmetros adicionais destinados a proporcionar uma avaliação global das condições fisiológicas. (BUSSOTI; NALI, 2011).

Em condições de estresse hídrico a assimilação do nitrogênio é reduzida, e as enzimas envolvidas na incorporação de amônia a compostos orgânicos agem como precursores para diferentes metabólitos tendo importância na sobrevivência de plantas durante o estresse (DOS SANTOS et al., 2011). Durante o processo de aclimação ao estresse, mecanismos complexos iniciam a ativação de vias de transdução de sinais que desencadeiam a síntese de proteínas e outros compostos (SHULAEV et al., 2008). Essas proteínas e compostos induzem respostas bioquímicas e fisiológicas que envolvem o fechamento estomático, redução no crescimento celular e na fotossíntese e ativação da respiração (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2007).

Entre os compostos orgânicos, os aminoácidos, incluindo a prolina e compostos quaternários de amônio, dentre eles a glicina betaína, são os solutos compatíveis mais comumente acumulados em plantas sob condições de estresse (Roy; Tucker; Tester, 2011). A maior parte do nitrogênio é absorvida pelas plantas na forma de nitrato, que, ao ser absorvido pelas raízes, pode ser reduzido, armazenado nos vacúolos ou translocado para a parte aérea, onde será reduzido ou armazenado nos vacúolos foliares (TAIZ & ZEIGER, 2013). A assimilação do nitrogênio em plantas é afetada pelo déficit hídrico, havendo reduções na atividade da redutase do nitrato, principal enzima responsável pela assimilação de nitrogênio pelos vegetais.

Outro mecanismo desenvolvido pelos vegetais contra danos oxidativos, é a presença de mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, aonde sua função é a eliminação das EROs, sendo esta uma maneira de manter esses compostos em concentrações não tóxicas ao metabolismo celular (Moller et al., 2007). Muitas enzimas estão envolvidas no mecanismo de proteção à presença destes radicais livres, entre elas, as catalases, superóxido dismutases, peroxidases (Munné-Bosch; Queval; Foyer, 2013). Essas enzimas convertem os compostos potencialmente danosos ao metabolismo vegetal em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub> (WANG et al., 2013; GILL, et al., 2013).

Os estudos das relações hídricas foliares devem ser realizados com intuito de quantificar o nível de estresse na planta, aliados com outros aspectos fisiológicos para estabelecer o perfil ecofisiológico da espécie analisada de acordo com a sazonalidade do ambiente. Com base no exposto, este trabalho teve como objetivo verificar o metabolismo do Nitrogênio e o sistema antioxidante em plantas jovens de Visgueiro submetidas à deficiência hídrica.

## **6.2.MATERIAL E MÉTODOS**

### **6.2.1. Local e montagem do experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação situada à 01°28'03"S; 48°29'18" W, sendo as análises fisiológicas realizadas no Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), ambos pertencentes ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus Belém, Pará, no período de março de 2015 a agosto de 2015.

No presente trabalho, foram utilizadas mudas de visgueiro (*Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp), compradas na AIMEX, com aproximadamente sete meses de idade, medindo 10-15 cm de altura, sendo acondicionadas em vasos plásticos com capacidade para 7,5L. O substrato usado foi terra preta argilosa, onde uma amostra foi conduzida para o Laboratório de solos da Embrapa para que fosse realizada a análise química, e os resultados podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Resultado da Análise química do substrato utilizado.

Análise do Solo								
Amostra	pH	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al
Identificação	Água	mg/dm <sup>3</sup>			cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>			
Amostra 01	5,1	2	71	17	0,9	1,3	0,7	4,95

Fonte: Próprio Autor

Para suprir a carência nutricional do solo e das plantas, foi aplicada solução nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950) modificada conforme a tabela 2, recebendo 5 mL de macro e micronutrientes a cada 30 dias até o início do experimento. Antes do início dos tratamentos, todas as plantas foram colocadas sob sombrite 50%, irrigadas diariamente durante um mês para suprir a necessidade hídrica e aclimação da planta (FERNANDES; SYKES, 1968).



Tabela 2. Composição química da solução nutritiva conforme HOAGLAND e ARNON, (1950) modificada.

Solução Nutritiva (HOAGLAND e ARNON, 1950) Modificada					
1ª Aplicação		2ª Aplicação		3ª Aplicação	
CaCl <sub>2</sub>	0,5 ml	KNO <sub>3</sub>	1 ml	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 ml			KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,25 ml
Fe Edta	1 ml			CaCl <sub>2</sub>	1 ml
				MgSO <sub>4</sub>	0,25 ml
				Fe Edta	0,25 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	7 ml	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,5 ml	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1 ml
				CaCl <sub>2</sub> BI	0,25 ml
MgSO <sub>4</sub>	1 ml			Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,25 ml
				KNO <sub>3</sub>	0,25 ml
Micronutrientes	1 ml			Micronutrientes	0,25 ml
Aferido: pH 6 em 1000 ml		Aferido: em 500 ml		Aferido: pH 6 em 500 ml	

Fonte: Próprio Autor

### 6.2.2. Delineamento e condução experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdividas 2 x 3 (duas condições hídricas: controle e deficiência hídrica, e três tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso.

As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: irrigado (controle) e deficiência hídrica, no qual a imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação no período máximo de 10 dias, sendo: tempo 0 (zero dias de deficiência hídrica), o tempo 1 (5 dias de deficiência hídrica) e o tempo 2 (10 dias de deficiência hídrica), com 5 repetições, totalizando 30 unidades experimentais, sendo cada unidade composta de uma planta/vaso.

Durante o período das análises, as plantas controle foram regadas diariamente para repor a água perdida. Fez-se também o controle de plantas daninhas manualmente. Não foram observados sintomas visíveis de deficiência nutricional, bem como o ataque de pragas e patógenos.

### 6.2.3. Coleta e armazenamento do material

As coletas das plantas ocorreram às 05:00 h na casa de vegetação, sendo retirados os discos das folhas primárias completamente expandidas de cada uma das repetições para a determinação do conteúdo relativo de água (CRA), sendo também retirado para a determinação da atividade da redutase do nitrato (RN). Posteriormente, as plantas foram separadas em folhas e raízes, sendo primeiramente congelado e retirados uma parte para obtenção das enzimas

antioxidantes e após colocadas em estufa de ar forçada a 70°C para trituração em moinho até a obtenção do pó fino para as análises da determinação do metabolismo do Nitrogênio, sendo devidamente armazenado em tubos falcon.

#### 6.2.4. Determinação do Conteúdo relativo de água

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

$$\text{CRA} = \frac{\text{MF}_1 - \text{MS}}{\text{MF}_2 - \text{MS}} \times 100 (\%)$$

#### Em que:

MF1: Massa Fresca 1;

MF2: Massa Fresca 2;

MS: Massa Seca.

#### 6.2.5. Determinação das concentrações de nitrato

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

de  $\text{NO}_3^-$  (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ). O método utilizado foi o de (CATALDO et al., 1975).

#### 6.2.6. Determinação da atividade da redutase do nitrato

Foram retirados e pesados aproximadamente 200 mg de discos de 0,5 cm de diâmetro das folhas. Logo após as amostras foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH 7,5; contendo isopropanol 1% (v/v),  $\text{KNO}_3$  mM) e estes cobertos com papel alumínio (tratamento escuro). Em seguida, os tubos foram evacuados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Por seguinte, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos, na ausência de luz. Em tubos de ensaio tipo pirex, foram adicionados alíquotas de 1 mL de tampão fosfato + 2 mL do extrato diluído + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de N-1-naftiletilenodiamina dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5 mL. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso por 15 minutos. A leitura foi no espectrofotômetro à 540 nm contra o branco (3,0 mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de  $\text{NO}_2^-$  no meio de reação, a partir de uma curva-padrão obtida com  $\text{KNO}_2$  p.a (Sigma). O método empregado foi o método *in vivo* preconizado por HAGEMAN; HUCKLESBY (1971).

#### 6.2.7. Determinação de amônio livre

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

isso utilizou-se o método descrito por (WEATHERBURN, 1967).

#### **6.2.8. Determinação de aminoácidos solúveis totais**

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

#### **6.2.9. Determinação de Proteínas solúveis totais**

Para a preparação do extrato, em tubos de ensaio de 15 mL, adicionaram-se 100 mg de pó liofilizado de folhas e raízes e depois 5,0 mL do tampão de Tris-HCl a 25 mM, pH 7,6. Em seguida, deixou-se sob agitação durante 2 h em agitador orbital com os tubos devidamente lacrados. Após a extração, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada a 2.000 × g, por 10 min, sendo o sobrenadante coletado para a dosagem das proteínas solúveis.

Os teores de proteínas solúveis foram determinados pelo método descrito por BRADFORD (1976). Para isso, foi preparado previamente o reagente. Para isso, foram adicionados 105,26 mg de Comassie Brilliant Blue G (SIGMA 95%) em um béquer (revestido com papel alumínio) e acrescentados 50 mL de álcool etílico. A mistura foi deixada sob agitação por 15 min. Imediatamente após essa etapa, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL igualmente revestido em papel alumínio. Foram adicionados 100 mL do ácido fosfórico a 85% e completado o volume para 1000 mL com água destilada. Foram

realizadas duas filtrações com papel de filtro. Em seguida, foram adicionados em tubos de ensaio 100  $\mu\text{L}$  da amostra e 2,5 mL do reagente de Bradford, os tubos foram agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). A mistura foi deixada em repouso por 15 min, sendo então submetida à leitura de absorvância em 595 nm. Cada extrato foi dosado em duplicata, sendo os teores de proteínas solúveis expressos em  $\text{mg proteína g}^{-1}$  MS de tecido.

#### **6.2.10. Determinação de Glicína-betaína**

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

#### **6.2.11. Determinação de Prolina Livre**

Os teores de prolina, a extração foi realizada a quente (em banho-maria a 100 °C, por 30 min), homogeneizando-se as amostras em 5 mL de água destilada. Após centrifugação a 700 g, por 20 min, o sobrenadante foi coletado e deste utilizado uma alíquota de 1 mL para a quantificação de prolina, iniciada pela adição de 1 mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial 99,5 %. A mistura foi agitada e incubada a 100 °C por 1 h. As amostras foram resfriadas em banho de gelo e a elas adicionadas 2 mL de tolueno para a separação das fases. A fração contendo grupo cromóforo foi coletada e a absorvância (ABS) determinada a 520 nm em espectrofotômetro UV-Visível (mod. Genesys TM 10 series, Marca Thermo Electron

Corporation, Wisconsin, USA). A concentração de prolina foi determinada por meio de uma curva de calibração de prolina. Foram determinados de acordo com BATES et al., (1973).

## **6.2.12. Sistema Antioxidante**

### **6.2.12.1. Extração**

O extrato para a determinação da atividade das enzimas SOD, APX e CAT foram obtidos a partir da homogeneização em almofariz, a 4°C, de 0,1 g do pó liofilizado de folha e raiz com 5 mL de solução-tampão fosfato de potássio (a 4 °C) a 0,1 mM, pH 7,0, contendo EDTA a 0,1 mM, seguida de homogeneização por 4 min. As adições do tampão fosfato foram feitas de forma fragmentada, sendo 50% do volume total desta solução (2,5 mL) utilizada na homogeneização durante 2 min, após isto, imediatamente adicionaram-se os outros 50%, sendo a mistura homogeneizada em tempo equivalente ao anterior. O homogenato foi filtrado em tecido de nylon e transferido para tubos de ensaio, sendo mantidos a 4 °C por duas horas, realizando-se agitações ocasionais. O homogenato filtrado foi centrifugando a 12.000 x g, durante 15 min, a 4°C. O sobrenadante, o extrato bruto, foi armazenado em freezer a -80 °C até serem utilizados nos ensaios de atividade enzimática.

#### **6.2.12.1.1. Dismutase do superóxido**

A atividade da SOD (EC 1.15.1.1) foi determinada pela inibição da fotorredução do cloreto de azul de nitrotetrazólio (NBT), conforme Giannopolitis; Ries (1977). A mistura de reação (1,5 mL) foi composta por tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 1 µM, L-metionina a 13 mM e NBT a 75 µM e 50 µl do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de riboflavina a 2 µM, seguida da iluminação do meio de reação com duas lâmpadas fluorescentes de 20 W em caixa fechada. Após 15 min, a reação foi interrompida pelo desligamento das luzes e as leituras foram realizadas a 560 nm. Uma unidade de atividade (UA) foi considerada como a quantidade de enzima requerida para inibir 50% da fotorredução do NBT por 15 min em comparação com o meio de reação sem o extrato proteico. Cada extrato foi dosado em duplicata.

#### **6.2.12.1.2. Peroxidase do ascorbato**

A atividade da APX (EC 1.11.1.11) foi determinada pelo método de Nakano e Asada (1981). A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de 50 µL de tampão fosfato de potássio (pH 6,0), EDTA a 0,1 µM, ascorbato a 0,5 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 1 mM e 300 µL do extrato,

convenientemente diluído com tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de 300  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático, e a atividade da APX foi determinada pela oxidação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  dependente do ascorbato, sendo a leitura realizada em espectrofotômetro a 290 nm durante 1 min. O coeficiente de extinção molar do ascorbato ( $2,8 \text{ mM cm}^{-1}$ ) foi usado para quantificar a atividade enzimática levando-se em consideração que dois moles de ascorbato são necessários para redução de 1,0 mol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Mckersie; Leshem, 1994). Cada extrato foi dosado em duplicata.

#### **6.2.12.1.3. Catalase**

A atividade da CAT (EC 1.11.1.6) foi determinada pelo método de Beers Jr.; Sizer (1952), com modificações. A mistura de reação (1,5 mL) foi constituída de solução tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1  $\mu\text{M}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 20 mM e 150  $\mu\text{L}$  do extrato. A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático ao meio de reação; e a atividade enzimática foi determinada pelo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sendo a redução monitorada por leituras de absorvância em 240 nm, por 5 min em que cada extrato foi dosado em duplicata. O coeficiente de extinção molar do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foi usado para determinar a atividade da CAT.

#### **6.2.13. Análises dos dados estatísticos**

Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando verificado diferenças significativas as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Sendo observados os desvio padrão em relação as médias do tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas usando-se o programa Assistat 7,7.

### **6.3.RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **6.3.1. Conteúdo Relativo de água**

O conteúdo relativo de água nas plantas submetidas à deficiência hídrica reduziu significativamente ao longo do tempo, quando comparados as plantas submetidas ao fornecimento de água (Figura 1). As plantas irrigadas mantiveram medias de 76% ao longo do experimento. Os valores apresentados pelas plantas submetidas a deficiência hídrica foram de 73,5%, 62,47% e 52,99% equivalentes a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica.

A redução do conteúdo relativo de água nas plantas submetidas a deficiência hídrica foi em virtude da menor disponibilidade de água no solo, afetando a formação de um gradiente de

concentração e impedindo a absorção de água pela planta (Figura 1). Para Gomes et al., 2014 e Reichert et al., (2003), o teor de água disponível no solo, tende a sofrer influência da aeração, temperatura, densidade do solo e distribuição do tamanho de poros. Onde essas variáveis interfere no crescimento e funcionalidade das raízes de forma a regular o fluxo de entrada de solução para a planta, que reflete na produtividade da cultura.

Resultados semelhantes foram obtidos por Maltorolo et al., (2015), ao avaliarem a deficiência hídrica em mudas de noni, estes autores observaram diminuição significativa, atingindo o valor médio de 59% e Pacheco et al., (2011), ao avaliarem a deficiência hídrica em *Calendula officinalis* L. onde observaram uma diminuição significativa, atingindo o valor médio de 48,5%.

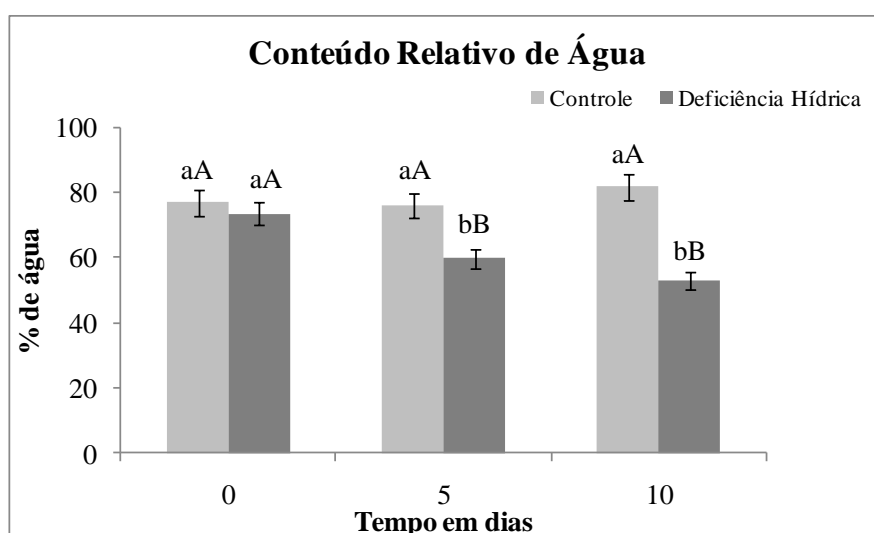


Figura 1. Conteúdo Relativo de Água em folhas de plantas *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.2. Concentrações de nitrato

A concentração de nitrato diminuiu nas folhas e nas raízes das plantas submetidas a deficiência hídrica (Figura 2), ocorrendo diferença significativa no 10º dia para as raízes enquanto que nas folhas ocorreu a partir do 5º dia de estresse. Os valores nas folhas das plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 0,4026; 0,2667 e 0,2015 mmoles de  $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  MS enquanto que nas plantas mantidas sob controle foram de 0,4153; 0,3313 e 0,3273 mmoles de  $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  MS para os tempos 0, 5 e 10 dias, respectivamente. Para as raízes das plantas sob estresse os valores foram de 0,0778; 0,066 e 0,0525 mmoles de  $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  MS enquanto que



nas plantas mantidas irrigadas foram de 0,094; 0,0873 e 0,0898 mmoles de  $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  MS para os tempos 0, 5 e 10 dias, respectivamente (Figura 2).

Essa diminuição que ocorreu nas plantas submetidas a deficiência hídrica, se deve a redução de água no solo que restringiu a absorção de  $\text{NO}_3^-$  pelas raízes, observado com a diminuição do conteúdo relativo de água (Figura 1). Segundo Matimati et al., 2014, o Nitrogênio pode regular a transpiração e fluxo de massa dos nutrientes, onde o  $\text{NO}_3^-$  modulando a condutância hidráulica das raízes, através do controle das aquaporinas, regulação dos efeitos do pH e fitormônios. Parte do  $\text{NO}_3^-$  absorvido é assimilado nas raízes, e o restante segue o fluxo transpiratório, sendo transportado internamente nas plantas via xilema até a parte aérea.

Devido a esta redução nas concentrações de Nitrato em virtude da diminuição do fluxo de água pela corrente transpiratória, possivelmente diminui a transpiração e o fluxo de nitrato para as folhas uma vez que essa enzima é altamente dependente de seu substrato (Alves, 2010).

Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira et al., (2013), quando submeteu duas cultivares de pimenta à deficiência hídrica, obtendo reduções em suas concentrações de Nitrato.

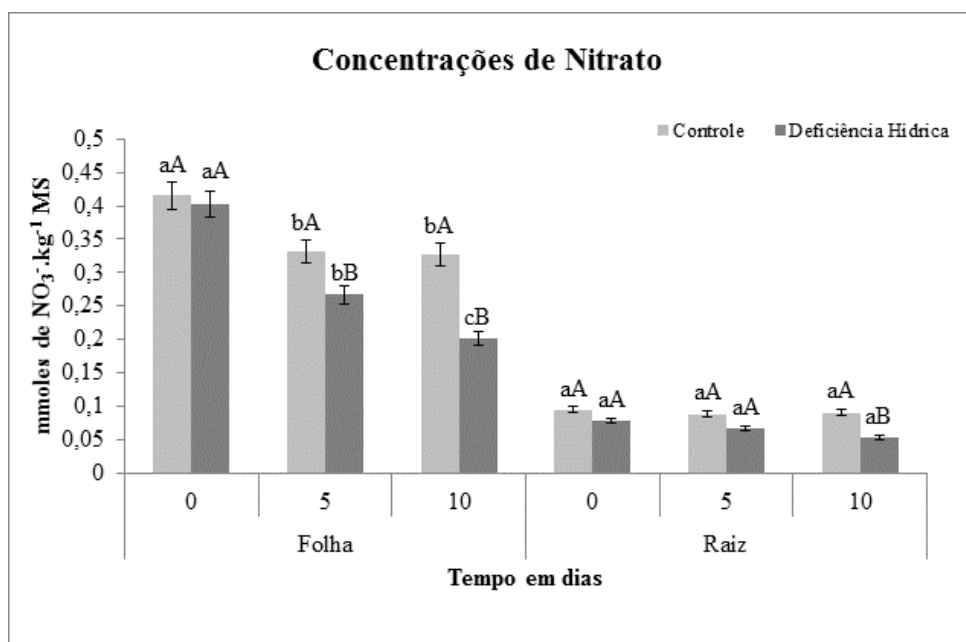


Figura 2. Concentrações de Nitrato em folhas e raízes de plantas jovens de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.3. Atividade da Redutase do Nitrato

As raízes não apresentaram diferença significativa enquanto que nas folhas ocorreu a partir do 5º dia de estresse (Figura 3). Os valores nas folhas das plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 0,1708; 0,1654 e 0,1418  $\mu\text{moles NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  enquanto que nas plantas mantidas sob controle foram de 0,1726; 0,2568 e 0,2888  $\mu\text{moles NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  para os tempos 0, 5 e 10 dias, respectivamente. Para as raízes das plantas sob estresse os valores foram de 0,1156, 0,0872 e 0,0884  $\mu\text{moles NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , enquanto que nas plantas mantidas irrigadas foram de 0,1178; 0,0988 e 0,1166  $\mu\text{moles NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , para os tempos 0, 5 e 10 dias, respectivamente (Figura 3).

O decréscimo no fluxo de  $\text{NO}_3^-$  (Figura 2) influenciou diretamente na atividade da enzima Redutase do Nitrato (Figura 3) na qual essa é responsável pela sua incorporação para dentro da corrente transpiratória, onde a redutase do nitrato catalisa inicialmente o primeiro passo enzimático assimilado do nitrogênio pelas plantas superiores reduzindo o nitrato (RHEIN et al., 2011) a nitrito em raízes e/ou folhas (MATOS et al., 2012).

Este decréscimo de  $\text{NO}_3^-$  ocorreu possivelmente devido não ser diretamente assimilado pela planta até ser reduzido a amônio, que serve para intermediar o metabolismo do nitrogênio (Figura 4). Essa redução é catalisada por enzimas em duas etapas: uma ocorre no citosol através da enzima redutase do nitrato que transforma  $\text{NO}_3^-$  em nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e a outra ocorre nos cloroplastos e plastídios, através da redutase do nitrito que converte  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NH}_4^+$  (LI et al., 2013).

Resultados semelhantes foram constatados por MELO et al., (2014) ao trabalhar com mudas de *Coffea arabica* cultivar Siriema obtiveram declínios na atividade da enzima redutase do nitrato em doze dias.

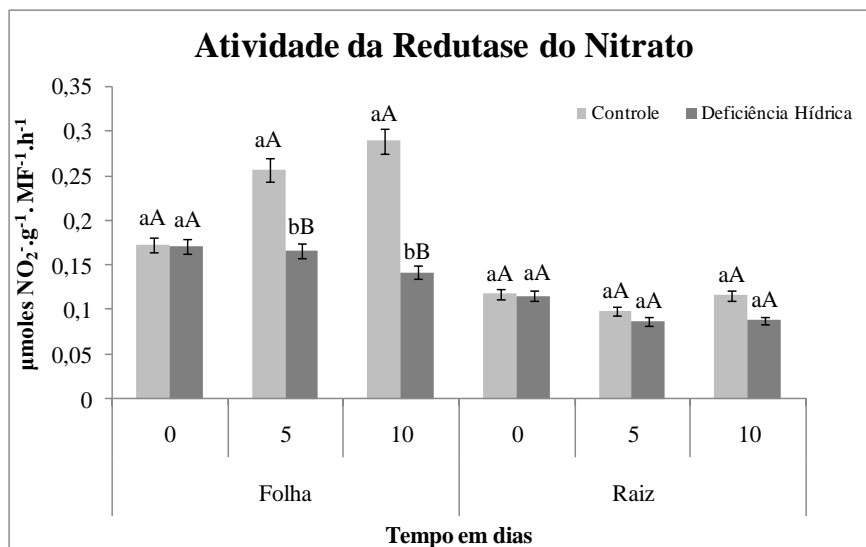


Figura 3. Atividade da Redutase do Nitrato em folhas e raízes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

#### 6.3.4. Concentrações de amônio livre

Foi observado um aumento significativo na concentração de amônio tanto nas folhas quanto nas raízes de visgueiro entre os regimes hídricos e conforme os dias de deficiência hídrica foi aumentando (Figura 4). Os valores para as folhas submetidas à deficiência hídrica foram de 5,1578; 5,5498 e 8,2193 mmol de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.kg de MS para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os valores foram de 3,8171; 4,1265 e 5,0693 mmol de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.kg de MS. Para as raízes a concentração de amônio nas plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 5,6925; 7,9005 e 8,5215 mmol de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.kg de MS para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os valores foram de 5,9005; 6,5378 e 6,935 mmol de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.kg de MS.

Esse aumento nas concentrações de amônio livre nas plantas submetidas a deficiência hídrica pode estar ligado às outras rotas para formação do amônio livre, como a rota do glutamato desidrogenase (GDH), que atua na dependência de NADH, desaminando o glutamato gerando amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e o 2-Oxiglutarato, promovendo assim um acúmulo de amônio devido ao aumento da sua produção e a redução da atividade da enzima glutamina sintetase (CRUZ et al., 2008; LEA; MIFLIN, 2011). Outra possível resposta nas altas concentrações de amônio se deve ao baixo nível energético para sua assimilação haja vista que a assimilação do amônio em aminoácidos é mais econômica em termos energéticos (Li; Wang;

Stewar, 2013) e seu acúmulo pode derivar de absorção direta, redução de nitrato, desaminação de compostos nitrogenados, ciclo fotorrespiratório ou da fixação biológica (KANT et al., 2007).

Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho, (2012) ao submeter plantas de ipê-amarelo em condições de deficiência hídrica por 9 dias, observou que as concentrações de amônio aumentaram nas partes estudadas.

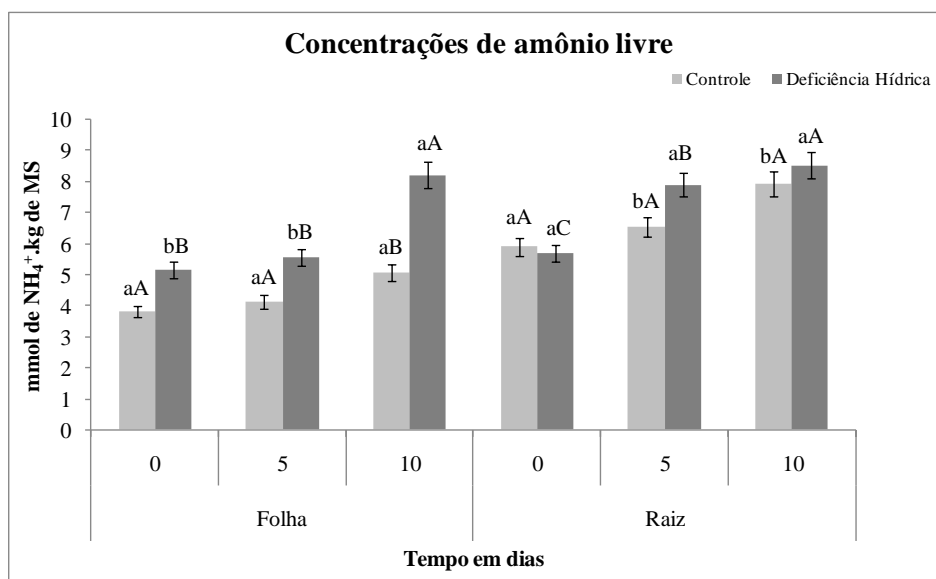


Figura 4. Concentrações de amônio livre em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.5. Concentrações de aminoácidos solúveis totais

Houve um aumento significativo na concentração de aminoácidos solúveis totais tanto nas folhas quanto nas raízes de visgueiro entre os regimes hídricos e conforme os dias de deficiência hídrica foi aumentando (Figura 5). Os valores para as folhas submetidas à deficiência hídrica foram de 44,0202; 50,8175 e 54,6403 mmol de  $\mu\text{mol}$  de AA/ g MS para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os valores foram 44,7631; 42,4357 e 42,8565 mmol de  $\mu\text{mol}$  de AA/ g MS. Para as raízes a concentração de aminoácidos nas plantas submetidas a deficiência hídrica foram de 44,7968; 57,4434 e 66,2277  $\mu\text{mol}$  de AA/ g MS para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os resultados foram 44,5436; 43,1112 e 44,3837  $\mu\text{mol}$  de AA/ g MS.

Este acúmulo de aminoácidos pode ser decorrente da restrição da síntese de proteínas (Figura 6) em função das enzimas proteolíticas e das alterações pela deficiência hídrica nos tecidos do floema, que possivelmente reduz a translocação de aminoácidos para outros órgãos (OLIVEIRA, 2005). Segundo Carneiro, 2014, este aumento pode ser considerado como um mecanismo de tolerância das plantas ao estresse imposto, levando a planta a regular o seu metabolismo do nitrogênio por meio da diminuição do seu potencial osmótico. Contudo, a planta pode recuperar o seu crescimento quando o ambiente estiver favorável devido as suas reservas de aminoácidos e reservas de nitrogênio.

Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al., (2013) ao submeter plantas de graviola em condições de deficiência hídrica por 40 dias, observou incrementos nas concentrações de aminoácidos nas partes estudadas submetidas a deficiência hídrica.

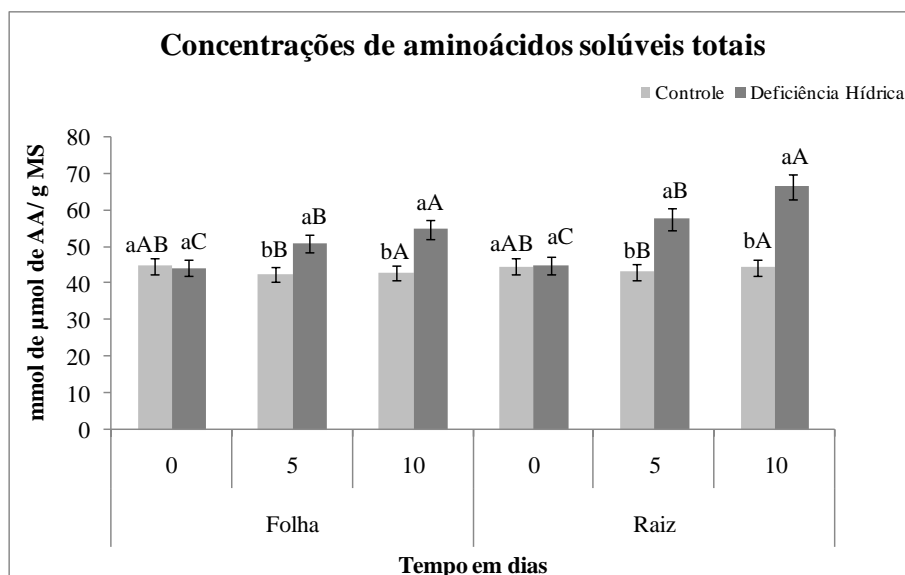


Figura 5. Concentrações de aminoácidos solúveis totais em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.6. Concentrações de Proteínas solúveis totais

Ocorreu uma diminuição significativa na concentração de proteínas solúveis totais nas folhas como nas raízes de visgueiro entre os regimes hídricos e os dias de estresse (Figura 6). Os valores para as folhas submetidas à deficiência hídrica foram de 12,5059; 9,8837 e 7,2643 mg proteína/g MS para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os resultados foram de 12,5059; 14,7341 e 15,3014 mg proteína/g MS. Para as

raízes a concentração de proteínas nas plantas submetidas a deficiência hídrica foram de 5,8336; 4,5216 e 4,3116 mg proteína/g MS para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os resultados foram de 5,8547; 7,7586 e 9,5155 mg proteína/g MS.

O processo de biossíntese de proteína é um dos primeiros eventos metabólicos paralisados após a percepção do estresse hídrico, onde a planta em virtude do seu metabolismo ser prejudicado e para suprir essa falta após o fechamento dos seus estômatos inicia a proteólise, promovendo um aumento no conteúdo de aminoácidos livres, com conseqüente diminuição da concentração de proteínas, como foi observado na figura 5 e figura 6 (Turkan, 2011), aumentando seus níveis de açúcares.

Resultados semelhantes foram encontrados por Freitas, (2014) ao submeter plantas de Acapú em condições de deficiência hídrica por 30 dias, observou que as concentrações de amônio aumentaram nas partes estudadas a partir do 20º dia.

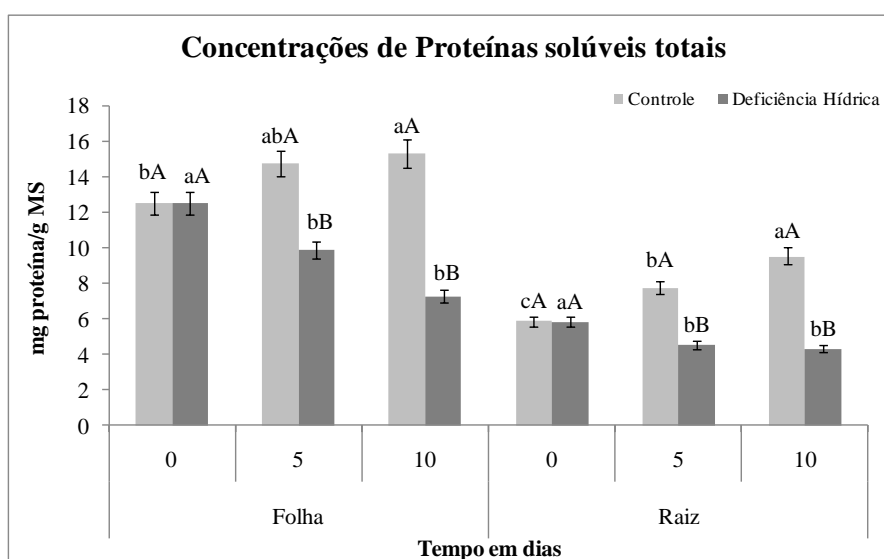


Figura 6. Concentrações de Proteínas Solúveis Totais em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.7. Concentração de glicina-betaína

A concentração de glicina-betaína aumentou significativamente com o tempo de deficiência hídrica nas folhas (Figura 7), diferindo estatisticamente entre os regimes hídricos, os valores foram de 2,6365; 3,2022 e 4,3083 mmol.g<sup>-1</sup> MS para os tempos com 0, 5 e 10 dias

de estresse, respectivamente. Para as folhas sob controle as concentrações foram de 2,6324; 2,6672 e 2,6849 mmol.g<sup>-1</sup> MS. Foi observado nas raízes que a concentração de glicina-betaína foi afetada significativamente entre os regimes hídricos e entre os tempos de restrição hídrica, apresentando os resultados de 1,5733; 3,1848 e 4,3314 mmol.g<sup>-1</sup> MS para os tempos com 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente. Nas raízes submetidas ao controle as concentrações apresentaram valores de 1,5826; 1,712 e 1,6664 mmol.g<sup>-1</sup> MS (Figura 7).

As plantas quando submetidas às condições de estresse hídrico necessitam diminuir seu potencial osmótico intracelular para tolerar a restrição hídrica, com isso esse acúmulo da glicina funciona como fornecedor do nitrogênio, mantendo a integridade da membrana em condições adversas, estabilizando as estruturas e as atividades de enzimas do complexo de proteína evitando uma degradação oxidativa provocada pelo aumento das concentrações de solutos pela baixa disponibilidade de água por estar localizada no citoplasma das células (CHEN; MURATA, 2011; SZABADOS et al., (2011).

Com isso, este incremento nos valores da Glicina-betaina se deve provavelmente da formação de aminoácidos solúveis totais (Figura 5) através das degradação das proteínas solúveis totais (Figura 6) e das altas concentrações de amônio livre (Figura 4), vindo provavelmente da fotorrespiração e processos de desaminações que são essenciais para a formação das betaínas, e por não possuir, somente a função osmoprotetora nas células, esta molécula pode ser sintetizada a partir da colina ou os precursores para ser utilizada, em via metabólica para formar compostos ligados à síntese do hormônio etileno e da molécula piruvato, além de ser fonte de carbono, nitrogênio e energia (MUNÔZ-CLARES et al., 2004).

Resultados diferentes foram encontrados por Albuquerque et al., (2013) ao submeter plantas de *khaya ivorensis* em condições de deficiência hídrica, observou que as concentrações de glicina-betaina reduziu nas partes avaliadas, enquanto Costa (2009) trabalhando com plantas de andiroba, observou um acréscimo na concentração de glicina-betaína em plantas sob deficiência hídrica.

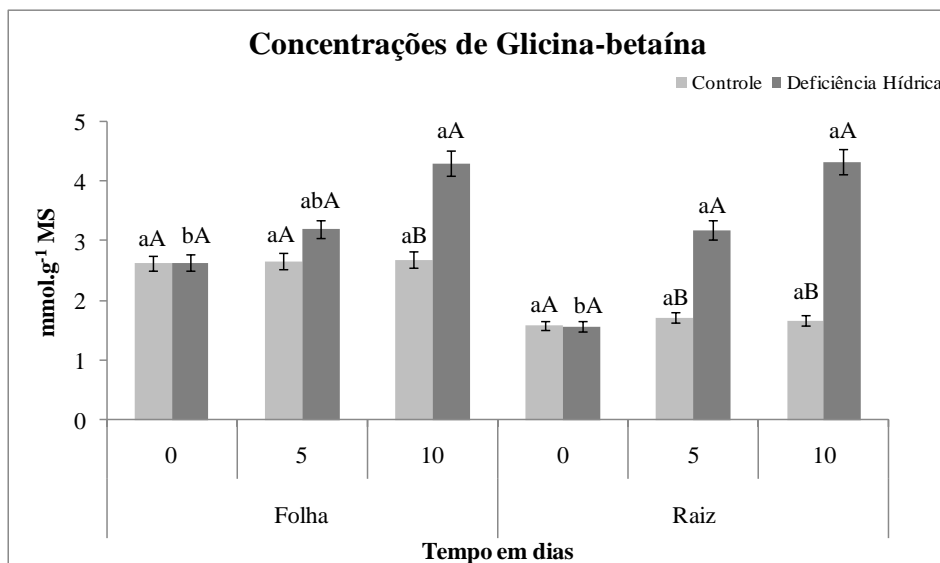


Figura 7. Concentrações de Glicina-betaína em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.8. Concentração de Prolina Livre

Houve aumento significativo na concentração de prolina nas folhas de visgueiro em relação aos regimes hídricos nas plantas estressadas, e também conforme foi aumentando o tempo de restrição hídrica (Figura 8). As concentrações de prolina nas folhas das plantas submetidas a deficiência hídrica foram de 2,4482; 2,5626 e 4,5486 mmol.g<sup>-1</sup>.MS nos tempos com 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente. As plantas mantidas sob controle hídrico apresentaram os resultados de 2,4482; 1,691 e 2,0093 mmol.g<sup>-1</sup>.MS. Para as raízes, houve um incremento significativo na concentração de prolina nas plantas submetidas a deficiência hídrica e nos tempos de estresse (Figura 8), apresentando valores de 1,2189; 3,0826 e 3,6795 mmol.g<sup>-1</sup>.MS e nas plantas controle foram de 1,2189; 1,2938 e 1,5059 mmol.g<sup>-1</sup>.MS nos tempos com 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente.

Esse acúmulo nas concentrações de prolina fornece um importante parâmetro para a seleção de plantas resistentes, sendo comum a constatação de que teores aumentados de prolina atenuam os efeitos da deficiência hídrica (Cvikrová et al., 2013; Filippou et al., 2014). Segundo estes autores, o acúmulo ocorre pela síntese “de novo” ou pela inibição do processo de oxidação da prolina, que em consequência da redução na síntese protéica e do aumento na proteólise, ocorre a proteção das membranas contra os efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), prevenindo a desnaturação de proteínas, preservando a estrutura de



enzimas. Embora haja abundante literatura sobre o acúmulo de prolina, em plantas sob vários tipos de estresse, não se sabe ao certo se esse acúmulo sempre ocorre (ASHRAF et al., 2011; SZÁBADOS et al., 2011).

Diversos autores observaram estreita relação entre o acúmulo de prolina e de poliaminas em plantas sob estresse, pelo fato de compartilharem o mesmo precursor, a ornitina, nas rotas de biossíntese (Lutts et al., 2013; Kotakis et al., 2014). Esse interesse pelas poliamidas se deve ao fato de apresentarem vias metabólicas interconectadas com diferentes rotas envolvidas na formação de moléculas e metabólitos relevantes para sinalizar as respostas das plantas ao estresse (Gupta et al., 2013; Filippou et al., 2014) e seu uso em especial da putrescina, pode atenuar os efeitos de vários tipos de estresse nas plantas e aumentar a tolerância das culturas (AMRI; MOHAMMADI, 2012; GUPTA et al., 2013; KOTAKIS et al., 2014).

Com isso percebe-se que o acúmulo da prolina comprova que este aminoácido tem a função de ajustador osmótico e/ou indicador de estresse na espécie em estudo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Monteiro et al., 2014 ao submeter plantas de *Cajanus cajan* (L.) Millsp em condições de deficiência hídrica, observaram que os teores aumentaram com a redução da disponibilidade hídrica nas partes avaliadas.

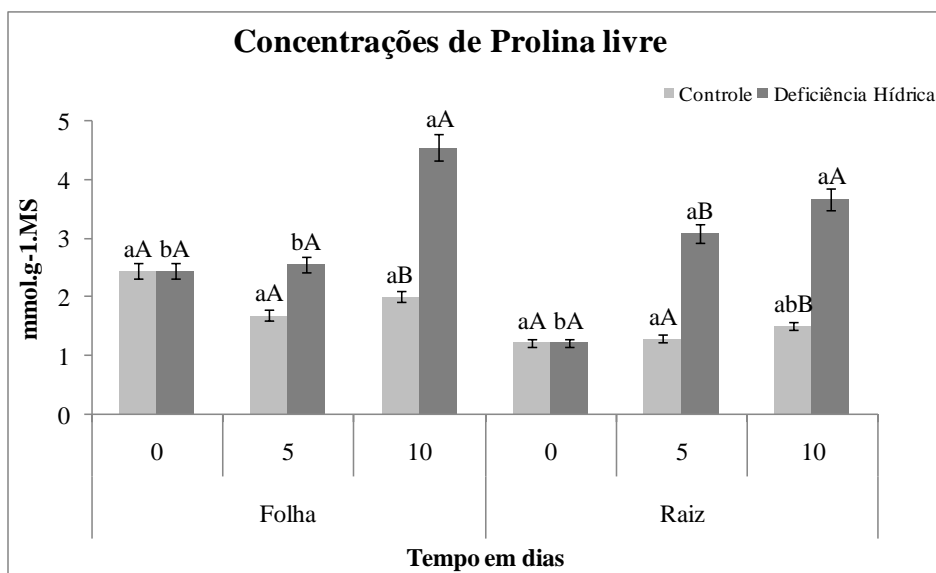


Figura 8. Concentrações de Prolina Livre em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.9. Sistema Antioxidante

#### 6.3.9.1. Superóxido Dismutase

Houve um aumento significativo na concentração da enzima Superóxido Dismutase – SOD tanto nas folhas quanto nas raízes de visgueiro entre os regimes hídricos e conforme os dias de deficiência hídrica foi aumentando (Figura 9). Os valores para as folhas submetidas a deficiência hídrica foram de 38,2524; 44,6295 e 48,0991  $\text{mg}^{-1}$ .proteína para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, sendo observado que no 10º de estresse obteve o maior atividade da enzima e para as plantas sob controle os resultados foram de 38,2223; 38,4722 e 38,7244  $\text{mg}^{-1}$ .proteína. Na raiz, a concentração de SOD nas plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 43,4047; 43,203 e 50,8990  $\text{mg}^{-1}$ .proteína para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os resultados nas raízes foram de 43,4047; 42,5035 e 42,8468  $\text{mg}^{-1}$ .proteína.

Segundo Pompeu et al., (2008), o aumento das concentrações de SOD é uma das primeiras respostas do mecanismo de defesa do vegetal contra o estresse oxidativo, devido ser a primeira enzima envolvida no sistema de defesa das plantas quando a célula detecta um sinal de estresse, sendo ela responsável pela formação direta de diferentes espécies reativas de oxigênio (SANKAR et al., 2007). O estresse induziu uma maior atividade da SOD, a qual determina a concentração de  $\text{O}_2^-$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sendo essencial nos mecanismos de defesa para prevenir a formação de radicais  $\text{OH}^-$ , sendo portanto conhecida por conferir tolerância ao estresse oxidativo (JALEEL et al., 2007). Os íons superóxidos formados durante a fotólise da água na cadeia de transporte de elétrons são convertidos a  $\text{H}_2\text{O}_2$  pela atividade da SOD, sendo utilizado a água e oxigênio pelas atividades da CAT e APX (SOOD et al., 2011; Carneiro, 2014).

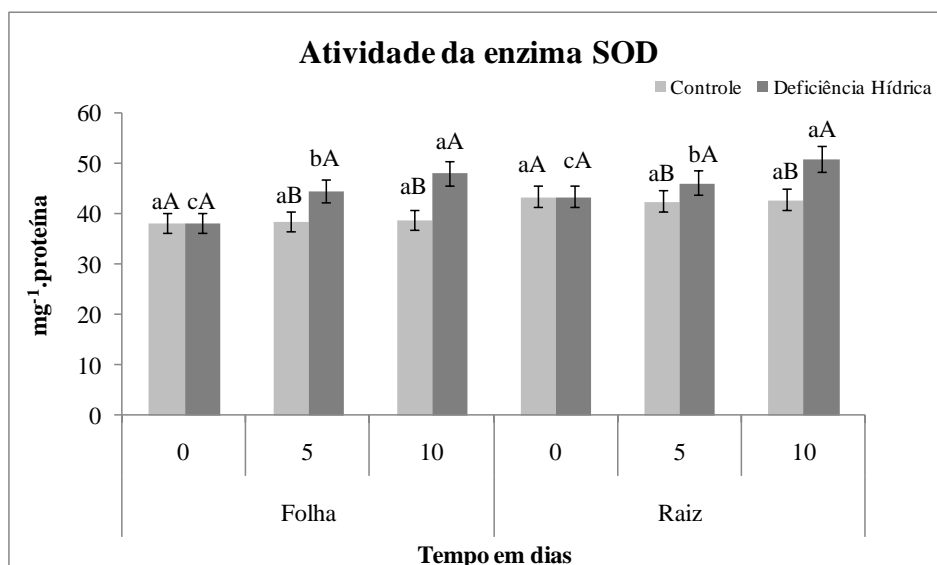


Figura 9. Atividade da SOD em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.9.2. Ascorbato Peroxidase

Na atividade da Ascorbato Peroxidase –APX, houve um aumento significativo em suas concentrações tanto nas folhas quanto nas raízes de visgueiro entre os regimes hídricos e conforme os dias de deficiência hídrica foi aumentando (Figura 10). Os valores para as folhas submetidas à deficiência hídrica foram de 0,0305; 0,0344 e 0,0387  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, para as plantas sob controle os resultados foram de 0,0305; 0,0307 e 0,0301  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ . Na raiz, a concentração da enzima APX em plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 0,0298; 0,0338 e 0,0355  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os resultados nas raízes foram de 0,0298; 0,0303 e 0,0310  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ .

Este aumento da atividade da APX quando as plantas foram submetidas a condições de deficiência hídrica sugere que a APX desempenhou o importante papel no controle de EROs induzidas durante a deficiência hídrica. A APX e outras peroxidases, tem alta afinidade, eliminando o  $\text{H}_2\text{O}_2$  quando em baixas concentrações, e são as principais responsáveis pela eliminação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nos cloroplastos, enquanto a CAT atua principalmente nos peroxissomos (JALEEL et al., 2009). A APX por estar presente nos cloroplastos, mitocôndrias ou no citosol apresenta alta afinidade pelo substrato, sendo considerada a principal enzima do ciclo ascorbato-glutationa. O ascorbato é utilizado como cofator enzimático, resultando na formação

de dehidroascorbato o qual é reciclado a ascorbato, sendo a glutatona reduzida a doadora de elétrons, de forma que a glutatona oxidada seja convertida pela glutatona redutase dependente de NADPH (CARVALHO, 2012).

Em *carapa guanensis* foi observado um aumento na atividade da APX nos folíolos quando estas encontravam sob déficit hídrico por um período de 20 dias (SILVA et al., 2011).

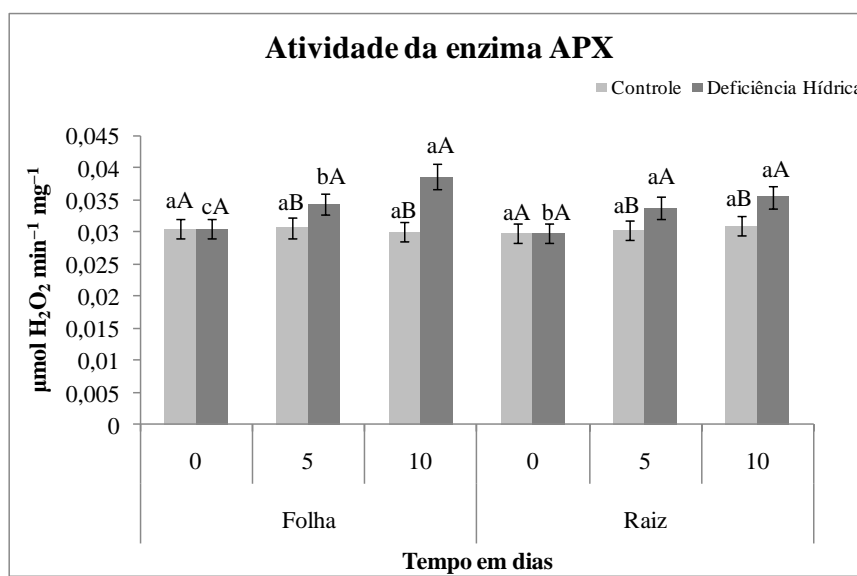


Figura 10. Atividade da APX em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

### 6.3.9.3. Catalase

Com relação à enzima Catalase – CAT foi observado um comportamento semelhante as das demais enzimas havendo aumento na sua concentração à medida que a deficiência hídrica também aumentava. (Figura 11). Os valores para as folhas submetidas à deficiência hídrica foram de 0,0306; 0,0356 e 0,0401 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup> para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, para as plantas sob controle os resultados foram 0,0306; 0,031 e 0,0311 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>. Na raiz, a concentração da enzima Catalase nas plantas submetidas à deficiência hídrica foram de 0,0278; 0,0323 e 0,0346 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup> para os tempos 0, 5 e 10 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle os resultados foram de 0,0278; 0,029 e 0,0301 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>.

A catalase é encontrada nos peroxissomos e catalisa a oxidação do  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e  $O_2$  (Mittler et al., 2002) durante a fotorrespiração quando a enzima RUBISCO exerce sua função oxigenase, bem como na  $\beta$  – oxidação de ácidos graxos nos glioxissomos em tecidos que armazenam lipídios. Feierabend (2005) explica que a catalase é a ferramenta eficaz no combate aos altos níveis de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), porém, perde eficácia quando há pequena quantidade do peróxido. Contudo, a CAT tem uma baixa afinidade de  $H_2O_2$ , sendo ativada somente quando este está em grandes períodos de estresse hídrico.

A atividade de uma ou mais enzimas antioxidantes geralmente aumenta em plantas expostas a condições de estresse e esta atividade correlaciona-se com aumento da tolerância ao estresse (PILON et al., 2006). Segundo Simova-Stoilova et al., (2009), a deficiência hídrica produz o estresse oxidativo como consequência do aumento das EROs e também que muitas plantas são capazes de lidar com este aumento, ativa as enzimas antioxidantes que desempenham papel crucial na proteção celular contra os danos causados por esses compostos potencialmente tóxicos às células (Rishi; Sneha, 2013). Ressalta-se que a deficiência hídrica provoca a homeostase celular, potencializando a produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (GILL et al., 2013).

Dessa forma pode-se afirmar que o Visgueiro é uma espécie que quando submetida a suspensão hídrica ajusta seu metabolismo, como mecanismo de defesa, aumentando a concentração de enzimas cuja a função é a eliminação das EROs, sendo uma maneira de manter esses compostos em concentrações não tóxicas ao metabolismo celular (MOLLER et al., 2007).

Rivas et al., (2013), ao estudarem mudas de *Moringa oleifera*, também encontraram um aumento da atividade da CAT em folhas para plantas sob déficit quando comparadas com mudas regadas diariamente.

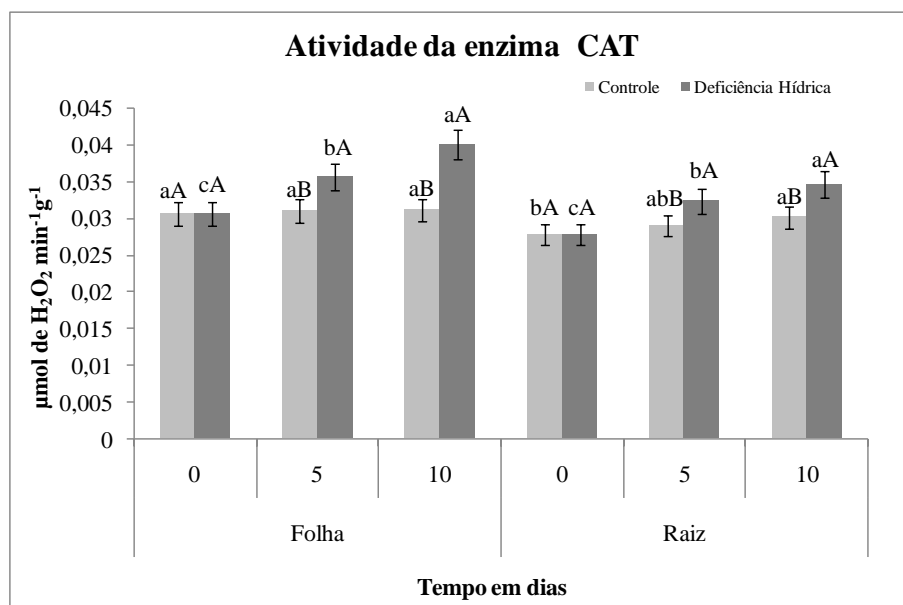


Figura 11. Atividade da Catalase – CAT em folhas e raízes de plantas de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. Ex Walp, submetidas a 0, 5 e 10 dias de deficiência hídrica. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de probabilidade. As letras minúsculas comparam os tempos de avaliação e as letras maiúsculas os valores entre os regimes hídricos. As barras representam os desvios padrões das médias.

## CONCLUSÃO

O tempo de 10 dias de deficiência hídrica foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas de Visgueiro, induzindo o aumento nas concentrações de amônio livre, glicina e prolina, como nas concentrações dos aminoácidos solúveis totais e as enzimas antioxidantes nas partes avaliadas, reduzindo as concentrações de proteínas solúveis totais, nitrato e a atividade da redutase do nitrato nos tecidos foliares e nas raízes.

Os indicadores do Metabolismo do Nitrogênio e o sistema oxidativo analisados foram eficientes para avaliar o estado metabólico das plantas de Visgueiro submetidas à deficiência hídrica.

## REFERENCIAS

- ALBUQUERQUE et. al.; Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.48, n.1, p.9-16, jan. 2013.
- ALVES, GUSTAVO ANTONIO RUFFEIL. Aspectos ecofisiológicos, bioquímicos e crescimento de plantas jovens de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) em condições de déficit hídrico e alagamento. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias/Agroecossistemas da Amazônia). Universidade Federal Rural da Amazônia/Embrapa. Belém, 2010.
- AMRI, E.; MOHAMMADI, M.J. Effects of timing of drought stress on pomegranate seedlings (*Punica granatum* L. cv «Atabaki») to exogenous spermidine and putrescine polyamines. **African Journal of Microbiology Research**, v.6, p.5294-5300, 2012.
- ARAÚJO, S.; DEMINICIS, B. Fotoinibição da fotossíntese. Revista Brasileira de Biociências, Porto alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, out./dez. 2009.
- ASHRAF, M.; AKRAM, N. A; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M. R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111. p. 249-296. 2011.
- BATES, L.S; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant Soil**. V. 39: 205-207. 1973.
- BEERS-JUNIOR, R. F.; SIZER, W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase, **Journal of Biological Chemistry**, n. 195, p. 133–140, 1952.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytic Biochemistry**. 72: 248-254. 1976.
- BUSSOTI, F.; NALI, C. Chlorophyll fluorescence: From theory to (good) practice. An introduction. **Environmental and Experimental Botany**, v. 73, p. 1–2. 2011.
- CARNEIRO, M.M.L.C. Fisiologia de plantas jovens de seringueira cultivadas em diferentes fontes nitrogenadas e sob baixa disponibilidade de água e oxigênio. 108 f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2014.
- CARVALHO, P. A. de. Metabolismos do nitrogênio e antioxidante em plantas jovens de seringueira (*Hevea* spp) submetidas à baixa disponibilidade de oxigênio na presença de nitrato e/ou amônio. 76 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2012.
- CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E. & YOUNGS, V. L. Rapid Colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Commum Soil Science and Plant Analysis** 6(1): p.71-80. 1975.



CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycine betaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. **Plant, Cell & Environmental**, Weinheim, v. 34, n. 1, p. 1-20, 2011.

COSTA, A.M. Ocorrência de danos celulares e capacidade de defesa antioxidante em mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) sob duas condições de déficit hídrico e após reidratação. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém. 36f. 2009.

CRUZ, J. L.; PELACANI, C. R.; ARAÚJO, W. L. Efeito do nitrato e amônio sobre o crescimento e eficiência de utilização do nitrogênio em mandioca. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p.643-649, mai-jun, 2008.

CVIKROVÁ, M.; GEMPERLOVÁ, L.; MARTINCOVÁ, O.; VANKOVÁ, R. Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in prolineoverproducing tobacco plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.7-15, 2013.

DITMAROVÁ, L.; KURJAK, D.; PALMROTH, S.; KMET, J.; STRELCOVÁ, K. Physiological responses of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings to drought stress. **Tree Physiology**. v. 30, p.205-213, 2010.

DOS SANTOS, T. B.; BUDZINSKI, I. G. F.; MARUR, C. J.; PETKOWICZ, C.L.; PEREIRA L.F.; VIEIRA L.G. Expression of three galactinol synthase isoforms in *Coffea arabica* L. and accumulation of raffinose and stachyose in response to abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 49, p. 441-448, 2011.

FEIERABEND, J. Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defense. In: SMIRNOFF, N. (Ed.). **Antioxidants and reactive oxygen species in plants**. Oxford: Blackwell. p. 101-140. 2005.

FERNANDES, B.; SYKES, D.J. Capacidade de campo e a retenção de água em três solos de Minas Gerais. **R. Ceres**, 15:1-37, 1968.

FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v.97, p.1-10, 2014.

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

GIANNOPOLITIS C. N.; RIES S. K.; Superoxide dismutases. I Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. n.59, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; ANJUM, N.; HASANUZZAMAN, A.; GILL, M. R.; TRIVEDI, D. K.; AHMAD, I.; PEREIRA, E. ; TUTEJA, N. Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiology and Biochemistry**. Elsevier, 2013.

GILL, S. S.; ANJUM, N.; HASANUZZAMAN, A.; GILL, M. R.; TRIVEDI, D. K.; AHMAD, I.; PEREIRA, E. ; TUTEJA, N. Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiology and Biochemistry**. Elsevier, 2013.

GOMES, A.C. dos S.; ROBAINA, A.D.; PEITER, M.X.; SOARES, F.C.; PARIZI, A.R.C. Modelo para estimativa da produtividade para a cultura da soja. **Revista Ciência Rural**, v.44, n.1, p.43-49, 2014.

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

GUPTA, B.: HUAN, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: **physiological**, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genome**, 2014:701596, doi: 10.115, 2013.

HAGEMAN, R. H. & HUCKLESBY, D. P. Nitrate reductase from higher plants. **In: Methods in Enzymology**, 17 A: 491-503. 1971.

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

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.; SOMASUNDARUM, R.; PANNEERSELVAN, R. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 60: 110-116. 2007.

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

KANT, S.; KANT,P.; LIPS,H.; BARAK, S. Partial substitution of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> by NH<sub>4</sub><sup>+</sup> fertilization increases ammonium assimilating enzyme activities and reduces the deleterious effects of salinity on the growth of barley. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 03, p.303-311, 2007.

KOTAKIS, C.; THEODOROPOULOU, E.; TASSIS, K.; OUSTAMANOLAKIS, C.; LOANNIDIS, N.E.; KOTZABASIS, K. Putrescine, a fastacting switch for tolerance against osmotic stress. **Journal of Plant Physiology**, v.171, p.48-51, 2014.

LEA, P. J.; MIFLIN, B. J. Nitrogen assimilation and its relevance to crop improvement. **Annual Plant Reviews**, Washington, v.42, p. 1-40, 2011.

- LI, S.X.; WANG, Z.H.; STEWAR, B. A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.118, p. 205-397, 2013.
- LUTTS, S.; HAUSMAN, J.F.; QUINET, M.; LEFÈVRE, I. Polyamines and their roles in the alleviation of ion toxicities in plants. In: AHMAD, P.; AZOOZ, M.M.; PRASAD, M.N.V. (Ed.). *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. **New York: Springer**, 2013. p.315-353.
- MALTAROLO, B. M.; TEIXEIRA, D. T. F.; ATAIDE, W. L. S.; NOGUEIRA, G. A. S.; OLIVEIRA NETO, C. F. . Avaliação biométrica e metabolismo do carbono em plantas jovens de noni submetidas à deficiência hídrica. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, p. 251-265, 2015.
- MATIMATI, I.; VERBOOM, G.A.; CRAMER, M.D. Nitrogen regulation of transpiration controls mass-flow acquisition of nutrients. **Journal of Experimental Botany**. v.65, p.159-168, 2014.
- MATOS, F. S.; ROSA, V. R.; BORGES, L. F. O.; RIBEIRO, R. P.; CRUVINEL, C. K. L.; DIAS, L. A. S. Response of *Jatropha curcas* Plants to Changes in the Availability of Nitrogen and Phosphorus in Oxissol. **Journal of Academic Journals**, Lagos, v.9, p.3581-3586, 2014.
- MELO, E. F.; C. F.; BRUM. C. N. F.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M.; CHALFUN JÚNIOR, A. Anatomic and physiological modifications in seedlings of *Coffea arabica* cultivar siriema under drought conditions. **Revista Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 38, n. 1, p.25-33, 2014.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trens in plant science*, v.7, n.9, p.405-410, 2002.
- MOLLER, I.M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Reviews Plant Biology**., 58:459–481, 2007.
- MONTEIRO, J. G. ; Cruz, F.J.R ; BATISTA, M. N. ; SANTOS, D.M.M. . Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 18-25, 2014.
- MORAES, W.B.; JESUS JUNIOR, W.C.; MORAES, W.B.; CECÍLIO, R.A. Potenciais impactos das mudanças climáticas globais sobre a agricultura. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas* v. 5, n. 2, p. 3, 2011.
- MUNNÉ-BOSCH, S.; QUEVAL, G; FOYER, C. H. The Impact of Global Change Factors on Redox Signaling Underpinning Stress Tolerance. **Plant Physiology**, v. 161, p. 5-19, 2013.
- MUNNS, R. ;TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **The Annual Review of Plant Biology**, 59:651–81, 2008.

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

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

NASCIMENTO, S.P.; BASTOS, E.A.; ARAÚJO, E.C.E.; FREIRE FILHO, F.R.; SILVA, E.M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.8, p.853-860, 2011.

OLIVEIRA, L. M.; SILVA, J. N.; COELHO, C. C. R; NEVES, M. G.; SILVA R. T. L.; OLIVEIRA NETO, C. F. Pigmentos fotossintetizantes, aminoácidos e proteínas em plantas jovens de graviola submetida ao déficit hídrico. **Agroecossistemas**, v. 5, n. 1, p. 39-44, 2013.

OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; RODRIGUES, J. D. Atividade da redutase de nitrato em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 515-522, 2005.

OLIVEIRA, M. C. P.; FERRAZ, I. D. K. Comportamento das sementes de *Parkia pendula* (Wild.) Walp. (Visgueiro) no banco de semente aéreo. In: HIGUCHI, N. et al. (Org.) **Projeto Jacarandá, fase II: pesquisas florestais na Amazônia Central**. Manaus: Coordenação de Pesquisas em Silvicultura Tropical, INPA, p.103-116. 2003.

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

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 Canberra**. p. 76. 1989.

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

POMPEU, G.B.; GRATÃO, P.L.; VITORELLO, V.A.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant isoenzyme responses to nickel-induced stress in tobacco cell suspension culture. **Scientia Agrícola**, v. 65, p.548-552, 2008.

REICHERT, J.M.; REINERT, D.J. & BRAIDA, J.A. Qualidade dos solos e sustentabilidade de sistemas agrícolas. **Ci. Amb.**, v.27, p.29-48, 2003.

RHEIN, A. F. L.; SANTOS, D. M. M.; CARLIN, S. D. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob os estresses hídrico e ácido no solo. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1345-1360, out./dez. 2011.

RISHI A.; SNEHA, S. Antioxidative defense against reactive oxygen species in plants under salt stress. **International Journal of Current**; 5:1622–7, 2013.

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

ROY, S. J.; TUCKER, E. J.; TESTER, M. Genetic analysis of abiotic stress tolerance in crops. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, p. 232-239, 2011.

SANKAR, B. et al. Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 60, n. 2, p. 229–235, 2007.

SHULAEV, V.; CORTES, D.; MILLER, G.; MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. **Physiologia Plantarum**, v. 132, p. 199–208, 2008.

SILVA, E. N. ; Ribeiro, R.V. ; Ferreira-Silva, S.L. ; Viégas, R.A. ; SILVEIRA, J. A. G. . Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia Agrícola** (USP. Impresso), v. 68, p. 62-68, 2011.

SIMOVA-STOILOVA, L. et al. Antioxidative protection and proteolytic activity in tolerant and sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties subjected to long-term field drought. **Plant Growth Regulator**, v.58, p.107–117, 2009.

SIQUEIRA, E. R.; RIBEIRO, F. E. (Eds.) Mata Atlântica de Sergipe. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 132 p. 2001.

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

SOOD, A.; PABBI, S.; UNIYAL, P.L. Effect of paraquat on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in aquatic fern *Azolla microphylla* Kuhl. **Russ J. Plant Physiol**. v.58, p. 667–673. 2011.

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

SZABADOS L; SAVOURÉ A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v.15, p.89-97. 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. SANTARÉM, E. R...[et al.]. – 4.ed. –Porto Alegre: Artmed, 2013. p.719.

TURKAN, I. **Plant Responses to Drought and Salinity Stress: Developments in Post-Genomic Era**. In *Advances in Botanical Research*. Vol. 57. Elsevier .p 593. 2011.

WANG X, HOU C, LIU J, HE W, NAN W, GONG H, BI Y (2013) Hydrogen peroxide is involved in the regulation of rice (*Oryza sativa* L.) tolerance to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, 35:891-900, 2013.

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

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 221–227, 2007.