



Amazônia Oriental

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

JUSCELINO GONÇALVES PALHETA

**ESTUDO ECOFISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PROGÊNIES DE
CUPUAÇUZEIRO *Theobroma grandiflorum* SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA.**

BELÉM – PA

2017

JUSCELINO GONÇALVES PALHETA

**ESTUDO ECOFISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PROGÊNIES DE
CUPUAÇUZEIRO *Theobroma grandiflorum* SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA.**

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

Orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto

Co - Orientador: Dr. Roberto Lisboa Cunha

BELÉM – PA

2017

JUSCELINO GONÇALVES PALHETA

**ESTUDO ECOFISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PROGÊNIES DE
CUPUAÇUZEIRO *Theobroma grandiflorum* SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Florestais, área de Concentração Ecologia e Ecofisiologia de árvores, para obtenção do Título de Mestre.
Orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto

Aprovado em 31 de Julho de 2017

BANCA EXAMINADORA

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

Dra. Luma Castro de Souza - 1º Examinadora
ENGENHEIRA AGRÔNOMA

Prof. Dr. Ricardo Shigueru Okumura - 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

Prof. Dra. Joze Melisa Nunes de Freitas - 3º Examinadora
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

Dedico,

Aos meus pais, João de Oliveira Palheta e Osmarina Gonçalves Palheta,
pelo amor, confiança e apoio nos momentos difíceis.

Aos meus irmãos; Janete Palheta, Sandra Maria Palheta, Orivan Palheta, Ana Suely Palheta,
Rosemiro Palheta, Paulo Palheta e Denis Palheta.

A todos meus sobrinhos.

A minha filha Isadora Mayally Moreira Palheta e minha esposa Maria Leidiane, pelo Carinho,
Amor, Compreensão e Companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida.

Aos meus familiares, pelo apoio, carinho, respeito e compreensão.

Ao meu irmão Orivan Gonçalves Palheta, pela condução durante as análises ecofisiológicas.

Ao meu orientador o Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto, pelo carinho, compreensão, respeito e orientação para realização desse trabalho.

Ao meu co - orientador Dr. Roberto Lisboa, pelo apoio durante a realização das análises ecofisiológicas.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA.

Ao Dr. Rafael Moysés, pela doação das mudas e estrutura física para condução do experimento.

Ao professor Dr. Antônio Vinicius Corrêa Barbosa, pela assistência durante análise estatística.

À Universidade Federal Rural da Amazônia.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Pelos ensinamentos e aprendizagem.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Aos amigos Nayara e seu esposo Max, pela ajuda durante a retirada do experimento da casa de vegetação.

Aos meus amigos do Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores, Ana Ecídia, Erika Chagas, Glauco André, Jessica Martins, Jean Borges, Josilene Mescouto, Kerolém Cardoso, Liliane Machado, Thays Costa, Vitor Resende e Waldemar Viana.

Aos meus amigos, Diana Jhulia, Jessica Teixeira, Susana Silva, pelo auxílio na realização das análises bioquímicas.

À minha amiga Silvia Mara, pelo apoio, carinho, respeito e fidelidade ao longo desses anos.

À banca avaliadora composta por Dr. Ricardo Okumura, Dra Joze Freitas e Dra Luma de Souza, pela correção e contribuição para melhoria dessa dissertação.

A todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, fica aqui a minha eterna gratidão.

Muito OBRIGADO!

“Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende”.

Guimarães Rosa.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Localização da área experimental.....	23
Figura 2 - Valores da temperatura do ar (A) e umidade relativa (B), durante o período experimental... ..	24
Figura 3 - Sementeira com a germinação de sementes de setes progênes de cupuaçuzeiro. .	25
Figura 4 - Mudas de cupuaçuzeiro em casa de vegetação.....	26
Figura 5 - Potencial hídrico antemanhã (A) e xilemático (B) em folhas de progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.. ..	36
Figura 6 - Fotossíntese (A), condutância estomática (B) e transpiraçãode em folhas de progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	39
Figura 7 - Eficiência instântanea do uso de água em folhas de progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	40
Figura 8 - Eficiência instântanea de carboxilação em folhas de progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	41
Figura 9 - Concentração de carbono interno (A) e relação CI/CA em folhas de progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	43
Figura 10 - Concentração de nitrato (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	44
Figura 11 - Atividade da redutase do nitrato (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.	46
Figura 12 - Concentração de amônio livre (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.	47
Figura 13 - Concentração de aminoácidos solúveis totais (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.	49
Figura 14 - Concentração de proteínas solúveis totais (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	50
Figura 15 - Concentração de prolina (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	52
Figura 16 - Concentração de glicina-betaína (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	53
Figura 17 - Concentração de carboidratos soluveis totais (A - Folhas; B - Raizes) em progênes de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação	55

Figura 18 - Concentração de amido (A - Folhas; B - Raizes) em progênies de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	56
Figura 19 - Concentração de sacarose (A - Folhas; B - Raizes) em de progênies de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	58
Figura 20 - Concentração de açúcares redutores (A - Folhas; B - Raizes) em progênies de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	59
Figura 21 - Concentração de açúcares não redutores (A - Folhas; B - Raizes) em progênies de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	61
Figura 22 - Concentração de clorofila <i>a</i> (A), clorofila <i>b</i> (B), clorofilas totais (C), carotenóides (D) e antocianina (E) em progênies de <i>Theobroma grandiflorum</i> , submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Clones de origens das progênies avaliadas e, suas respectivas ancestralidade e procedências..	24
Tabela 2 - Caracterização química e granulométrica do substrato.	25
Tabela 3 - Médias para déficit de pressão de vapor, temperatura do ar e da folha, para as setes progênies de cupuaçuzeiro.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

- A - Fotossíntese
- AA - Aminoácidos
- AR - Açúcares Redutores
- ANR - Açúcares Redutores
- ABA - Ácido Abscísico
- ATP - Adenosina trifosfato
- Chla - Clorofila a
- Chlb - Clorofila b
- Chl Total - Clorofila Total
- CI - Carbono Interno
- CI/CA - Relação Carbono Interno x Carbono Externo
- CST - Carboidratos Solúveis Totais
- DH - Deficiência Hídrica
- DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado
- DPV - Déficit de Pressão de Vapor
- EBPS - Estudos da Biodiversidade de Plantas Superiores
- ERO's - Espécies Reativas de Oxigênio
- EIUA - Eficiência Instantânea do Uso de Água
- EIC - Eficiência Instantânea de Carboxilação
- E - Transpiração
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- GS - Glutamina Sintetase
- GDH - Desidrogenase do Glutamato
- gs - Condutância Estomática
- IPCC - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas
- IRGA - Analisador de Gás Infra Vermelho
- MS - Massa Seca
- NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
- PST - Proteína Solúveis Totais
- P5CS - Pirrolina-5-carboxilato sintase
- PAR - Radiação Fotossinteticamente Ativa
- Ψ_w - Potencial Hídrico
- Ψ_{am} - Potencial Hídrico Antemanhã

Ψ_x - Potencial Hídrico Xilemático

PDH - Prolina desidrogenase

PS - Fotossistema

RN - Redutase do Nitrato

Tar - Temperatura do ar

Tfol - Temperatura da folha

UFRA - Universidade Federal Rural da Amazônia

UR - Umidade Relativa

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	16
2 ESTUDO FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PROGÊNIES DE CUPUAÇUZEIRO <i>Theobroma grandiflorum</i> SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA.	
2.1 - Introdução	21
2.2 - Material e Métodos	23
2.2.1 - Local do experimento.....	23
2.2.2 - Material vegetal e condução do experimento.....	24
2.2.3 - Determinação do status hídrico da planta	26
2.2.4 - Determinação das trocas gasosas	26
2.2.5 - Avaliações bioquímicas.....	27
2.2.6 - Determinação das clorofilas a, b, totais, antocianinas e carotenóides.....	27
2.2.7 - Determinação da concentração de nitrato	27
2.2.8 - Determinação da atividade da redutase do nitrato	28
2.2.9 - Determinação da concentração de amônio livre	28
2.2.10 - Determinação da concentração dos aminoácidos solúveis totais	29
2.2.11 - Determinação da concentração de proteínas solúveis totais	29
2.2.12 - Determinação da concentração de prolina livre	30
2.2.13 - Determinação da concentração de glicina - betaína	30
2.2.14 - Determinação da concentração do amido.....	31
2.2.15 - Determinação da concentração dos açúcares redutores	31
2.2.16 – Determinação da concentração dos açúcares não redutores.....	32
2.2.17 - Determinação dos carboidratos solúveis totais	32
2.2.18 - Determinação da sacarose	32
2.2.19 - Análise estatística	33
2.3 - Resultados e Discussão	33
2.3.1 - Variáveis ambientais	33
2.3.2 - Potencial hídrico foliar	34
2.3.3 - Fotossíntese	36
2.3.4 - Condutância estomática	37
2.3.5 - Transpiração	38
2.3.6 - Eficiência instântanea do uso de água	39

2.3.7 - Eficiência instântanea de carboxilação	40
2.3.8 - Concentração interna de carbono e relação carbono interno X externo.....	41
2.3.9 - Concentração de nitrato	43
2.3.10 - Atividade da redutase do nitrato	44
2.3.11 - Concentração de amônio livre	46
2.3.12 - Concentração de aminoácidos solúveis totais	47
2.3.13 - Concentração de proteínas solúveis totais.....	49
2.3.14 - Concentração de prolina.....	50
2.3.15 - Concentração de glicina – betaína	52
2.3.16 - Concentração de carboidratos solúveis totais.....	54
2.3.17 - Concentração de amido	55
2.3.18 - Concentração de sacarose.....	56
2.3.19 - Concentração de açúcares redutores	58
2.3.20 - Concentração de açúcares não redutores	59
2.3.21 - Pigmentos Fotossintético	61
2.4 - Conclusão	65
REFERÊNCIAS	66

RESUMO

Na Amazônia a distribuição de chuva é irregular, sendo comum a ocorrência de períodos secos bem definidos com baixo índice de pluviosidade. Esta região é considerada o principal polo produtor de cupuaçuzeiro e sabendo que períodos longos de seca provocam queda na produção agrícola, o objetivo deste trabalho foi selecionar preliminarmente, progênies de cupuaçuzeiro com indicativo de tolerância à deficiência hídrica em função do comportamento ecofisiológico e bioquímico. As progênies foram obtidas do Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Amazônia Oriental, sendo a avaliação do experimento realizada na casa de vegetação da mesma Instituição e, as análises bioquímicas feitas no Laboratório de Estudo da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS) da Universidade Federal Rural da Amazônia. As mudas selecionadas a partir de sementes oriundas de clones parentais do cultivar BRS Carimbó foram cultivadas em sacos plásticos com dimensão de 20 x 45 cm, preenchidos com 8 kg de substrato, mantendo-se regularmente o suplemento hídrico até o início das avaliações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x7 totalizando 14 tratamentos com 5 repetições cada, nos quais foram analisados como fator A os dois regimes hídricos (com deficiência hídrica e sem deficiência hídrica) e como fator B sete Progênies totalizando 70 unidades experimentais, cada qual composta por uma planta/saco. Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste Scott- Knott adotando-se o nível de 5 % de probabilidade. As variáveis analisadas foram trocas gasosas e variáveis relacionadas ao metabolismo do carbono e nitrogênio. As variáveis ecofisiológicas foram afetadas negativamente pela deficiência hídrica, na qual a progênie 1074 apresentou maior sensibilidade à restrição hídrica com redução significativa de 2.438%, 642%, 84,9%, 100%, 100%, 84,3% e 92%, quanto ao Ψ_{am} , Ψ_x , A, gs, E, EIC e EIUA, respectivamente. No entanto, as progênies submetidas à deficiência hídrica promoveram o aumento no EIUA, com exceção da progênie 1074 que apresentou redução significativa no uso instantâneo de água. Também foi possível identificar a diminuição das concentrações de nitrato, amido e atividade da glutamina sintetase nos tecidos foliares e radiculares para todas as progênies. A deficiência hídrica promoveu aumento nas concentrações de amônio, aminoácidos solúveis totais, proteínas solúveis totais, prolina, glicina betaína, carboidratos solúveis totais, sacarose e açúcares redutores e não redutores para todas as progênies. Nas condições do experimento, as progênies 32, 42, 46, 47, 57 e 215 apresentaram menor sensibilidade à deficiência hídrica, o que sugere certa tolerância a esse tipo de estresse, considerando o período de 16 dias de deficiência hídrica.

Palavras-chave: Estresse Hídrico. Fisiologia Vegetal. Osmorreguladores. Metabolismo.

ABSTRACT

In the Amazon rainfall distribution is irregular, being common to the occurrence of well defined dry periods with low rainfall index. This region is considered the main producer of cupuaçuzeiro and knowing that long periods of drought cause a decrease in the agricultural production, the objective of this work was to select preliminarily, progenies of cupuaçuzeiro with indicative of tolerance to water deficit as a function of the ecophysiological and biochemical behavior. The progenies were obtained from the Genetic Improvement Program of Embrapa Amazônia Oriental, being evaluated the experiment carried out in the greenhouse of the same Institution, and the biochemical analyzes done at the Laboratory of Biodiversity in Upper Plants (EBPS) of the Federal Rural University of Amazonia . The seedlings selected from seeds from the parental clones of the BRS Carimbó cultivar were grown in 20 x 45 cm plastic bags, filled with 8 kg of substrate, and the water supplement was regularly maintained until the beginning of the evaluations. The experimental design was completely randomized in a 2x7 factorial scheme, totaling 14 treatments with 5 replicates each, in which the two water regimes (with water deficiency and no water deficiency) were analyzed as factor A and as a B factor seven progenies totaling 70 experimental units each Which consists of a plant / bag. The analysis of variance was applied in the results and when significant difference occurred, the means were compared by the Scott-Knott test adopting the level of 5% of probability. The analyzed variables were gas exchanges and variables related to carbon and nitrogen metabolism. The ecophysiological variables were negatively affected by water deficiency, in which progeny 1074 presented greater sensitivity to water restriction with a significant reduction of 2,438%, 642%, 84.9%, 100%, 100%, 84.3% and 92%, respectively. As for Ψ_m , Ψ_x , A, gs, E, EIC and EIUA, respectively. However, the progenies submitted to water deficiency promoted the increase in EIUA, with the exception of progeny 1074 that showed a significant reduction in instantaneous water use. It was also possible to identify the decrease of nitrate, starch and glutamine synthetase activity in foliar and root tissues for all progenies. Water deficiency promoted an increase in ammonium concentrations, total soluble amino acids, total soluble proteins, proline, glycine betaine, total soluble carbohydrates, sucrose and reducing and non-reducing sugars for all progenies. Progenies 32, 42, 46, 47, 57 and 215 showed lower sensitivity to water deficit, suggesting a certain tolerance to this type of stress, considering the 16 day period of water deficiency.

Key-words: Water Deficiency. Vegetal physiology. Osmoregulators. Metabolismo.

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

As mudanças climáticas e seus impactos para a vida no planeta têm sido bastante discutidos no meio científico. Atividades antrópicas como a mineração, pecuária e agricultura, estão entre os principais fatores que contribuem para alterações do clima, resultando em inúmeras modificações de paisagens em virtude da degradação de grandes áreas, bem como nas funções exercidas pelo ecossistema (ATAIDE, 2016). Além disso, a elevada emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa, ligado ao fenômeno climáticos do El Niño e La Niña, vem provocando grandes modificações na atmosfera do planeta, agravando os fenômenos meteorológicos mundiais.

As mudanças climáticas serão mais frequentes e intensas no decorrer dos anos, principalmente no centro Sul da América do Sul, o que implicará diretamente no ciclo hidrológico regional, induzindo a eventos extremos de seca e inundações (SOUZA, 2012). Os principais fatores que influenciam a seca incluem a falta de chuvas, os níveis excessivos de sais na solução do solo e o crescente desvio de recursos de água doce para usos urbanos e industriais (NEUMANN, 2008).

A deficiência hídrica no solo é um dos principais fatores abióticos limitantes da produção agrícola (HAMDY et al., 2003), devido intervir no mecanismo de absorção e assimilação de água e nutrientes pelas plantas (LECHINOSKI et al., 2007), resultando em alterações negativas no seu metabolismo (ZANETTI et al., 2016).

A limitação de água para as plantas pode resultar na redução da condutância estomática e causar prejuízo na atividade fotoquímica da fotossíntese, resultando na redução da fotossíntese líquida e conseqüentemente na diminuição da biomassa vegetal, além de provocar desequilíbrio na defesa antioxidante, induzindo o estresse oxidativo em proteínas, lipídeos de membrana e organelas celulares (ZANETTI et al., 2016), além da diminuição do volume celular e o declínio da turgescência (MORAIS et al., 2003). A turgidez é o mais precoce efeito biofísico do estresse hídrico, uma vez que afeta a expansão foliar e o alongamento de raízes, limitando o tamanho das plantas e o número de folhas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Uma planta sob deficiência hídrica pode sofrer aumento da concentração de solutos, assim como variações na forma e volume celular das membranas, perda de turgescência celular, alterações dos potenciais de água, ruptura da integridade da membrana e desnaturação da proteína, além da desidratação do tecido (BRAY, 1997). Para o mesmo autor a planta em geral responde a falta de água de forma rápida provocando modificações no estado de

fosforilação de uma proteína, dentro de minutos ou horas com alteração em expressão genética.

Entretanto, algumas espécies de plantas desenvolvem mecanismos morfológicos, anatômicos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares para tolerar ou adaptar-se em situação de deficiência hídrica (ASHRAF et al., 2011), e o padrão de resposta das plantas à deficiência de água no solo é regulado pela intensidade, velocidade de imposição do estresse e fase de desenvolvimento (SILVA, 2013).

Plantas adaptadas à seca são caracterizadas por evitar a desidratação dos tecidos, através do crescimento de um sistema radicular mais profundo e vigoroso, permitindo a exploração de reservas de água e nutrientes em profundidade no solo (DAMATTA, 2004) ou reduzindo a perda de água por meio de mecanismos envolvendo o fechamento estomático (JONES, 2009), além da produção de ácido abscísico, abscisão foliar e ajustamento osmótico (TAIZ & ZEIGER, 2013).

A osmorregulação é um processo que pode ocorrer no vacúolo ou no citosol e cujo objetivo é manter o balanceamento hidráulico preservando a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas para a continuidade das atividades vitais (SILVA, 2013). Este processo estabelece uma resposta adaptativa vegetal aos múltiplos efeitos causados pelos estresses (SILVA, 2013) além de promover redução da perda de água como resultado de mecanismo envolvendo fechamento estomático ajustes nas folhas possibilitando o equilíbrio de energia através de reduções na absorção de luz ou ainda modificações no calor e transferência de massa na camada limite da folha (JONES, 2009).

Portanto, a capacidade das plantas para suportar a deficiência hídrica é caracterizada por vias fisiológicas e bioquímicas, que promovem a retenção ou aquisição de água, resguardando as funções do cloroplasto e mantendo a homeostase de íons (BOHNERT, 1996). Alguns estudos vêm sendo realizados visando estimar a resposta das espécies vegetais ao estresse hídrico, no qual é destacado o potencial hídrico foliar (COSTA et al., 2007), a condutância estomática e a transpiração (MEDINA et al., 1999), turgescência celular (BRAY et al., 1997), a acumulação de prolina (HANSON & HITZ, 1982), atividade fotossintética (GONÇALVES et al., 2009), além da osmorregulação vegetal (SILVA et al., 2004).

O estudo envolvendo deficiência hídrica tem recebido atenção por parte dos fisiologistas e agrônomos em função da sua importância no crescimento e produção das plantas superiores (PAULUS et al., 2010), tornando-se uma ferramenta imprescindível para a

compreensão dos processos fisiológicos das espécies arbóreas, bem como das interações das plantas com o ambiente (NOGUEIRA et al., 2001).

O cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum.,] é uma árvore nativa da Amazônia pertencente a ordem das Malvales e família Malvaceae, a qual é considerada uma espécie frutífera com alto potencial para o desenvolvimento agrícola e agroflorestal da região Norte do Brasil, tal espécie é encontrada em estado rústico nas florestas tropicais de terra firme na parte sul e sudeste da Amazônia Oriental e Noroeste do Estado do Maranhão, onde é cultivada em toda a Amazônia brasileira, além de outros Estados da federação como Bahia e São Paulo, podendo também ser encontrada em países como Costa Rica, Venezuela, Equador e Colômbia (ALVES et al., 2012).

A família Malvaceae Juss, contém cercas de 75 gêneros, e aproximadamente, 1.500 espécies distribuída predominando nos trópicos (CRONQUIST, 1981) entre as latitudes 18° norte e 15° sul, onde se desenvolve em temperaturas parcialmente elevadas, com média anual de 21,6 °C a 27,5 °C, umidade relativa média anual de 77% a 88% e precipitações médias anuais na faixa de 1.900 mm a 3.100 mm (SANTOS, 2008). Compreende plantas herbáceas ou lenhosas, com flores em sua maioria hermafroditas, actinomorfas com tendência ao zigomorfismo e pentâmeras (PIO CORREA, 1926). A presença de canais secretores de mucilagem é uma característica típica dos representantes da referida família (FAHN, 1982).

Trata-se de uma espécie pré-colombiana que possivelmente foi disseminada de seu centro de origem para os estados da Região Norte em virtude da intensa movimentação das tribos indígenas no interior da Amazônia. Em meados da década de 70, o cultivo começou a ter expressão econômica, uma vez que passou a compor áreas de plantios de pimentas, que estavam sendo dizimado pela doença conhecida como fusariose (ALVES et al., 2012).

O cupuaçuzeiro é uma árvore considerada como semi - umbrófila, ou seja, adapta-se muito bem em ambiente de sombra e por esta razão apresenta boa adaptação em consórcios com outras espécies como: bananeira, mamoeiro, maracujazeiro, mandioca de porte ereto, pimentais, taperebazeiro, açaizeiro, pupunheira, coqueiro, castanheira, andirobeira, cumaruzeiro, mogno-brasileiro, mogno-africano, jatobá e feijó, etc. Portanto, é uma espécie de fundamental importância econômica, social e ambiental para a região, uma vez que compõem o sistema econômico e agroflorestal brasileiro (ALVES et al., 2012).

O *Theobroma grandiflorum* é uma planta com reprodução alógama cuja polinização é feita através da fecundação cruzada com probabilidade de autofecundação. O seu fruto é uma baga drupácea, com dimensões variando de 12 a 25 centímetros (cm) de comprimento e de 10

a 12 de diâmetro (Dm), cujo peso apresenta média de 1.200 gramas (g), podendo alcançar até 50 sementes/fruto. A polpa apresenta coloração branco-amarelada, aderida na semente, com sabor ácido e cheiro forte. A produção média de frutos é de até 12 frutos por planta a cada ciclo produtivo (ALVES, 2012).

O cupuaçuzeiro é uma árvore que pode atingir até 7m de diâmetro de copa e 10m de altura. As folhas são simples, alternas, curtos peciolados, com lâminas verdes brilhantes, glabra, na face superior apresenta um pó ferrugíneo-tomentosa (VENTURIERI et al., 1985). O seu cultivo é considerado uma das mais rentáveis da região Amazônica, e a procura pelo seu fruto (o cupuaçu) vêm crescendo vertiginosamente em todos os estados da federação, atraindo a atenção mundial em virtude da maior abertura do mercado a frutas exóticas tropicais (SOUZA et al., 2002).

Sendo assim, o seu maior potencial é a exploração de polpa para fabricação de sucos, geleias, doces, sorvetes, bolos, tortas, licores, picolé, cremes, refresco, pudim, biscoitos, etc. Além do uso das sementes na agroindústria do cupuaçu, como matéria-prima para extração de óleo, o qual tem ampla aplicação na indústria de cosméticos (ALVES, 2002), além do aproveitamento das amêndoas para a fabricação do cupulate, um produto semelhante ao chocolate produzido do cacau.

Nos últimos anos o plantio do cupuaçuzeiro no Estado do Pará, vem sendo realizado em regiões com os menores volumes de chuva, visando à prevenção da principal doença da espécie, a Vassoura de bruxa (*Moniliophthera perniciososa*), contudo não há respostas sobre o comportamento ecofisiológico, bioquímico, biofísico e antioxidante dessa espécie em condição de restrição hídrica. Desse modo, entender o funcionamento dessa espécie em condição de restrição hídrica é de fundamental importância ao desenvolvimento, ao manejo e a produtividade dessa espécie.

1.1 Questões Científicas

- ✓ Progênes de *Theobroma grandiflorum* desenvolvem mecanismos ecofisiológicos e bioquímicos a fim de atenuar a deficiência hídrica?
- ✓ Progênes de *Theobroma grandiflorum* são tolerantes a restrição hídrica?

1.2 Hipóteses

Do ponto de vista científico, serão testadas as seguintes hipóteses.

- ✓ A deficiência hídrica altera as trocas gasosas, o metabolismo do nitrogênio e do carbono nas progênes de *Theobroma grandiflorum*.
- ✓ As progênes de *Theobroma grandiflorum* são tolerantes à deficiência hídrica.

1.3 Objetivo Geral

- ✓ Selecionar, preliminarmente, progênes de Cupuaçuzeiro com indicativo de tolerância à deficiência hídrica.

1.4 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar o estudo ecofisiológico e bioquímico em progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica;
- ✓ Analisar os efeitos da deficiência hídrica sobre as trocas gasosas em progênes de *Theobroma grandiflorum*;
- ✓ Verificar os efeitos da deficiência hídrica sobre o metabolismo do nitrogênio e carbono em progênes de *Theobroma grandiflorum*.

2 ESTUDO FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PROGÊNIES DE CUPUAÇUZEIRO *Theobroma grandiflorum* SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA.

2.1 Introdução

As plantas estão submetidas a vários tipos de estresses ambientais que afetam negativamente o seu crescimento e metabolismo, e dentre esses, a seca se destaca por ser altamente limitante à produção agrícola (LAWLOR, 2002). A deficiência hídrica ocorre quando o abastecimento de água para as raízes torna-se escasso ou quando a taxa de transpiração é mais elevada que a absorção de água do solo (REDDY et al., 2004).

As respostas das plantas a restrição hídrica são complexas e depende da espécie, duração, severidade do estresse e do estágio de desenvolvimento da planta (SANTOS, 2013). A amplitude de tolerância das plantas à seca varia de acordo com as espécies, uma vez que estas podem possuir diferentes mecanismos de resistência, sejam elas estruturais ou fisiológicas (ZANETY, 2016).

Para um melhor entendimento dos mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em plantas superiores, aspectos relacionados à fisiologia, a bioquímica celular e as características morfoanatômicas devem ser pesquisados a fim de expor ligações sutis que levam a uma melhor tolerância à seca, permitindo o melhoramento de seu desempenho agrônômico (GUHA et al., 2010).

A deficiência hídrica afeta os vegetais provocando alterações nos processos metabólicos, influenciando o fechamento estomático, redução da condutância estomática, diminuição da fotossíntese e transpiração, resultando na redução do crescimento vegetal (SCALON et al., 2011). Além de alterar vários processos fisiológicos e bioquímicos entre eles, a síntese de aminoácidos e as reduções drásticas na atividade de redutase do nitrato (OLIVEIRA et al., 2011), haja vista plantas em situações de restrição hídrica tendem a apresentar modificações no metabolismo bioquímico e fisiológico, causando diminuição na eficiência fotoquímica e na atividade da proteína rubisco (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010).

A adequação bioquímica comum à planta durante a seca é resultado da regulação osmótica, que é determinada por metabólito sintetizado. As plantas diferem entre si quanto a habilidade de tolerar a deficiência hídrica, por exemplo em plantas sensíveis, os processos fisiológicos são adversamente afetados devido à redução na hidratação dos tecidos, já nas

tolerantes, suas propriedades fisiológicas se adaptam para manter um alto grau de hidratação dos tecidos mesmo sob limitado suprimento hídrico (SOREN et al., 2010).

O cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum.,] é uma árvore frutífera da Amazônia, pertencente à família Malvaceae, encontrada em estado silvestre ou cultivada nas florestas tropicais de terra firme na parte sul e sudeste da Amazônia Oriental e Noroeste do Estado do Maranhão ou em toda a Amazônia brasileira, sendo esporadicamente encontrada em países como a Colômbia, Venezuela, Equador e Costa Rica (VENTURIERI et al., 1985).

O *Theobroma grandiflorum* é de extrema importância econômica, social e ambiental para a região norte brasileira, sendo sua polpa empregada no preparo de sucos, doces, bolos, pudins, cremes, bombons, sorvetes, licores e bebidas lácteas. O óleo e manteiga extraídos da semente são utilizados na indústria de cosméticos para fabricação de batons, xampus e cremes faciais, e na confecção do cupulate, um produto semelhante ao chocolate (KIST et al., 2012; SANTOS et al., 2013). Além disso, é uma espécie amplamente utilizada em sistemas agroflorestais brasileiros em consórcio com outras espécies agrícolas ou não.

O Estado do Pará possui a maior área plantada de cupuaçuzeiro do país, com 12 mil hectares, onde o município de Tomé Açu desponta como o maior produtor nacional, seguido por Moju, Acará e Bujaru (SAGRI-PA, 2016). Esta cultura se transformou nas últimas décadas em uma das fruteiras com grande potencial de expansão e desenvolvimento para agricultura na região Norte, devido a abertura do mercado para frutas exóticas tropicais, especialmente aquela oriunda da floresta Amazônica, possibilitando a ampliação do cultivo e aumento da oferta do produto (ALVES, 2008).

No entanto, o cultivo do cupuaçuzeiro na Amazônia vem sendo implantado em locais com os menores índices pluviométricos com intuito de prevenir o surgimento de doenças. Contudo, existem poucos estudos científicos relacionados aos comportamentos fisiológicos e bioquímicos dessa espécie em situação de deficiência hídrica. Portanto, existe a necessidade de se avaliar o potencial produtivo de progênies de cupuaçuzeiro em regiões sujeitas à deficiência hídrica, em virtude da distribuição irregular de chuvas na região amazônica. Uma vez que nessas áreas é comum a ocorrência de períodos secos bem definidos, com aproximadamente seis meses de pluviosidade abaixo de 100 mm (FERNANDES, 2015). Fornecendo assim, informações sobre algumas estratégias para serem usadas em programas de melhoramento genético para seleção de cultivares tolerantes à seca (SILVA et al., 2012).

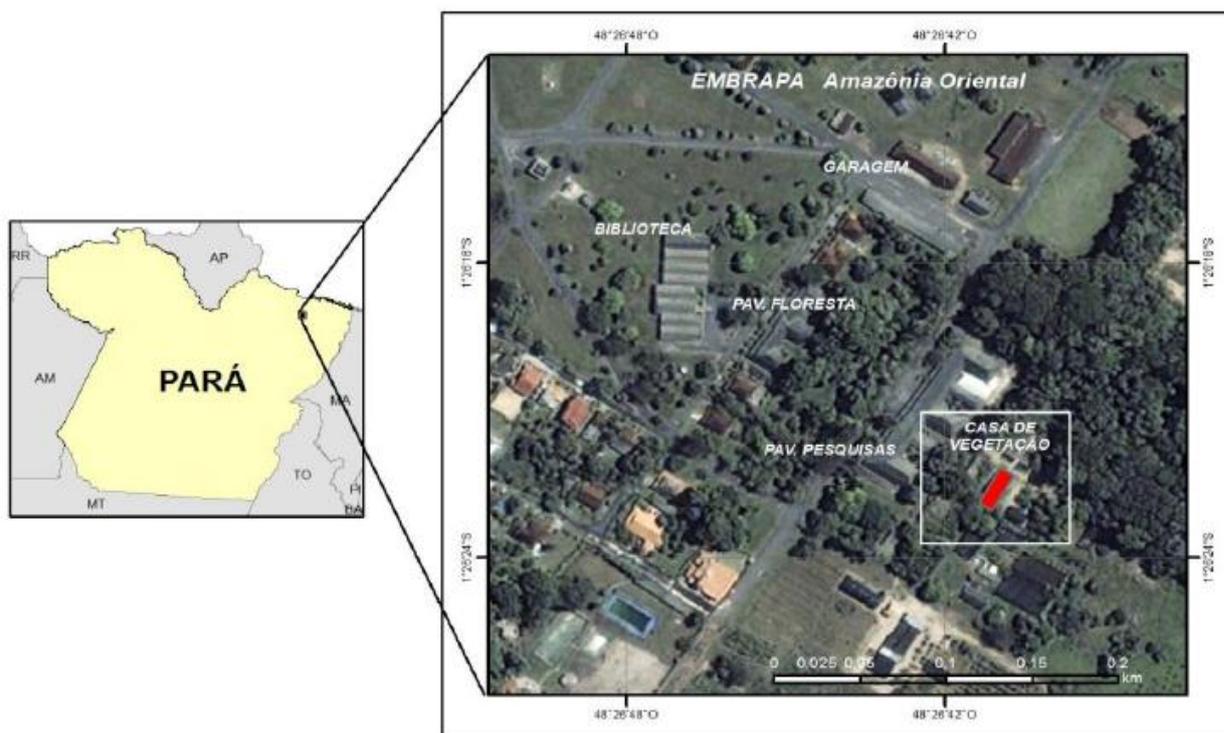
Sendo assim, o comportamento agrônômico de plantas de cupuaçuzeiro necessita ser compreendido, uma vez que, entender o mecanismo de resposta dessa espécie em condição de restrição hídrica, é de suma importância ao desenvolvimento agrícola das plantas, ao manejo e a produtividade dessa espécie. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi selecionar, preliminarmente, progênies de cupuaçuzeiro com indicativo de tolerância à deficiência hídrica.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no período de Março a Novembro de 2016 (26/04/2016 à 16/11/2016), na casa de vegetação da Embrapa Amazônia Oriental, localizada no município de Belém-PA, cujas coordenadas geográficas 01° 27' 21 de latitude Sul e 48° 30' 16 de longitude Oeste de Greenwich (Figura 1).

Figura 1- Localização da área experimental

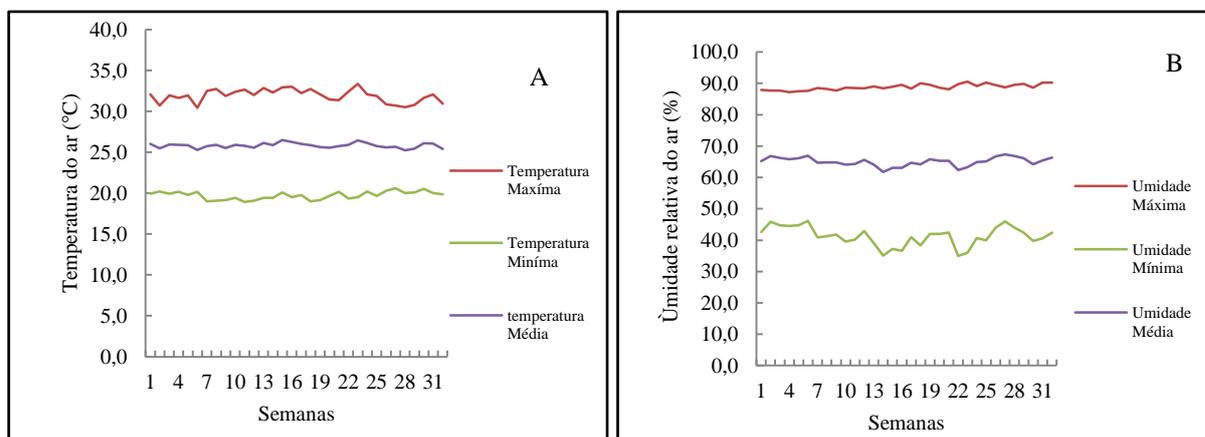


Fonte: Embrapa Amazônia Oriental, 2017.

O clima do local, segundo a classificação de Coppe é o Afia com temperatura média anual de 26 °C, com alta pluviosidade 2.754,4 mm anuais, incidindo uma estação chuvosa de dezembro a maio e uma menos chuvosa de junho a novembro (NECHET, 1993). Durante a condução do experimento foram coletados dados diários (período diurno) referentes às

temperaturas máximas, mínimas e umidade relativa do ar, por meio de um Termo higrógrafo (Chip & Zonem, modelo 836) instalado no interior da casa de vegetação cujos resultados estão apresentados na figura abaixo (Figura 2).

Figura 2 – Temperatura do ar (A) e umidade relativa (B), durante o período experimental.



Fonte: Dados da Pesquisa.

2.2.2 Material vegetal e condução do experimento

Foram utilizados setes progênies de cupuaçuzeiro nesta pesquisa, oriundas de sementes de clones parentais do cultivar BRS Carimbó (Tabela 1).

Tabela 1 - Clones de origens das progênies avaliadas e, suas respectivas ancestralidade e procedências

Clone	Ancestralidade	Local de origem da mãe	Local origem do pai
32	174x186	174: Coari - AM	186: Codajás - AM
42	186x434	186: Codajás - AM	434: Muaná - PA
46	186x215	186: Codajás - AM	215: Manacapuru - AM
47	186x1074	186: Codajás - AM	1074: Itacoatiara - AM
57	186x513	186: Codajás - AM	513: Oiapoque - AP
215	Primária	215: Manacapuru - AM	-
1074	Primária	1074: Parintins - AM	-

Fonte: Embrapa Amazônia Oriental.

As mudas foram preparadas a partir de sementes retiradas de frutos maduros, oriundas de polinização aberta, cujo plantio fica localizado no pomar experimental da Embrapa Amazônia Oriental no município de Tomé Açu-PA. Dois frutos foram colhidos de cada um dos genótipos. As sementes foram despulpadas manualmente em seguida foi realizada a semeadura em sementeira, contendo como substrato apenas serragem curtida.

Vinte e dois dias após a semeadura, quando as plântulas estavam em estágios de “ponto de palito”, ou seja, antes da abertura do primeiro par de folhas (Figura 3), as progênies foram repicadas para os sacos plásticos, com dimensão de 20 x 45 cm, preenchidos com 8 kg de substrato preparado através de mistura do solo com esterco (cama de aviário), na proporção de 3:1 respectivamente. Dessa foram retiradas amostras para realização de análise química e granulométrica do solo segundo metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), cujos resultados encontram-se na Tabela 2.

Figura 3 - Sementeira com a germinação de sementes de setes progênies de Cupuaçuzeiro.



Fonte: Embrapa Amazônia Oriental, 2016.
Foto: Abel Bastos, 2016.

Tabela 2 - Caracterização química e granulométrica do substrato.

Prof.	MO	N	pH	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila total
(cm)	g/kg	%	H ₂ O	--mg/dm ³ --	-----	-----	cmolc/dm ³	-----	-----	-----	------(g/kg)-----			
0-20	25,81	0,88	6,2	374	504	212	2,6	4,5	0,1	1,49	455	327	118	100

Fonte: Embrapa Amazônia Oriental, 2016.

Posteriormente, foi realizada a casualização e distribuição das mudas em bancada onde ficaram em crescimento e aclimação por oito meses. A irrigação nos primeiro dois meses de experimento foi efetuada por micro aspersão com vazão de 40 Lh⁻¹, acionado diariamente durante 30 minutos. Ao final desse período a irrigação foi realizada manualmente aplicando, diariamente, 300 ml de água por muda, para manter a umidade do solo próximo a capacidade de campo. Durante o crescimento das mudas foram feitas duas aplicações com NPK na

proporção 18-18-18 com 4g/plantas, além de cinco aplicações de micronutrientes foliares Óbolo, com 15g diluídos em 5 litros de água.

A partir do oitavo mês, as plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: com deficiência hídrica e com irrigação (controle). A irrigação foi suspensa por 16 dias nas plantas submetidas à deficiência hídrica, preservando as plantas controle sob irrigação com 300 ml de água por planta diariamente em casa de vegetação (Figura 4).

Figura 4 – Mudas de cupuaçuzeiro em casa de vegetação.



Fonte: O autor 2016.

2.2.3 Determinação do status hídrico da planta

Foi avaliado o potencial hídrico foliar (Ψ_w) antemanhã no horário de 4:00 - 5:30 h e o xilemático as 12:00 - 13:30 h, utilizando-se uma bomba de pressão do tipo Scholander (mod. PmsInstrument Co., Corvalles, USA), conforme descrito por DaMatta et al. (1993). As amostras foram selecionadas através da coleta de folhas maduras do segundo par de folhas, contado a partir do ápice, sendo retirada e imediatamente colocada na câmara de compressão, e em seguida a aplicação da pressão até a exsudação de líquido pelo pecíolo da folha, momento esse da leitura da força aplicada.

2.2.4 Determinação das trocas gasosas

A taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E), concentração interno de carbono (CI) e relação carbono interno e externo (CI/CA), foram

avaliadas através do analisador de gás infravermelho portátil modelo LI-6200 (Li-Cor), sendo medidas sob condições ambientais favoráveis, entre 8: 00 as 10: 00 h da manhã. A partir destas variáveis, foram calculadas a eficiência no uso de água (*EIUA*) através da relação (A/E) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$] e a eficiência instantânea da carboxilação (*EIC*) (A/C_i) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$] segundo metodologia proposto por Machado et al. (2005). As avaliações foram feitas em todas as plantas de todos os tratamentos, sendo um folíolo por planta colocada dentro da câmara, sempre na região mediana da folha totalmente expandida. Cada folíolo permaneceu em equilíbrio dentro da câmara por 1 a 2 minutos, registrando os valores para cada leitura das plantas.

2.2.5 Avaliações bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Estudo da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), localizado na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará.

2.2.6 Determinação das clorofilas a, b, totais, antocianina e carotenóides

Realizou-se a pesagem de 100 mg de folha fresca de cada amostra, colocando em um almofariz, contendo 3ml de acetona a 80%, em seguida foi feita a maceração e a filtração com papel toalha. Transferiu-se o sobrenadante para um balão volumétrico de 25 ml, aferindo o volume. As amostras foram lidas em espectrofotômetro à 663nm (clorofila a), 647 nm (clorofila b), 537 nm (antocianinas) e 470 nm (carotenóides) e como o branco usou-se somente acetona 80%. Toda a extração foi feita no gelo e no escuro. O método empregado foi o preconizado por Sims e Gamon (2002). As concentrações de clorofilas e carotenóides foram calculadas pelas seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila a} = C_a = 0,01373 A_{663} - 0,000897 A_{537} - 0,003046A_{647}$$

$$\text{Clorofila b} = C_b = 0,02405 A_{647} - 0,004305A_{537} - 0,005507A_{643}$$

$$\text{Clorofilas totais} = C_{(a+b)} = 7,15 A_{663} + 18,71 A_{647}$$

$$\text{Carotenoides (xantofila + carotenos)} = (A_{470} - (17,1 \times (\text{Clo A} + \text{Clo B}) - 9,479 \times \text{Antocianina})) / 119,26$$

$$\text{Antocianina} = 0,08173 A_{537} - 0,00697A_{647} - 0,002228A_{663}$$

2.2.7 Determinação da concentração de nitrato

A determinação da concentração de nitrato foi realizado através do método preconizado por Cataldo et al. (1975), no qual foi pesado 50 mg de folhas e raízes previamente liofilizadas, em seguida foram 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, os tubos foram adicionados lentamente nos tubos 4700 µL de NaOH 2N. 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 absorbância de 410 nm. O branco foi feito usando água deionizada em substituição ao extrato.

2.2.8 Determinação da atividade da redutase do nitrato

Amostras contendo 200 mg de folhas e raízes foram pesadas e colocadas em tubos de ensaio, contendo solução tampão de fosfato 0,1 M, pH 7,5 contendo isopropanol 1% (v/v), (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, seguido de “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos na ausência de luz. Em tubos de ensaio, foram adicionadas alíquotas de solução tampão fosfato, extrato diluído, sulfanilamida a 1%, N-1-naftiletilenodiamina dicloridrato 0,02%, seguido de repouso. A leitura foi realizada no espectrofotômetro a 540 nm contra o branco o resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO_2^- no meio de reação. Este método foi preconizado por Hageman; Hucklesby, (1971).

2.2.9 Determinação da concentração de amônio livre

Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das folhas e raízes em pó, e colocados em tubos de ensaio de 15 ml, onde foram adicionados 5 ml de água destilada e levados ao banho-maria por 30 minutos a 100 °C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram acrescentados 400 µl de extrato total + 2,5 ml da solução A (5 g de fenol + 0,025 g de nitroprussiato de sódio/ 500 ml de água destilada) e homogeneizado em vortex, acrescentando mais 2,5 ml da solução B (2,5 g de NaOH. + 12,6 ml de hipoclorito de

sódio/ 500 ml de água destilada) e agitados novamente em vortex, levando-os ao banho-maria por 20 minutos a 37 °C. Após esse período foram removidos do banho-maria e deixados em repouso por 40 minutos, em seguida, levados para 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 foi utilizado o método descrito por weatherburn, (1967).

2.2.10 Determinação da concentração dos aminoácidos solúveis totais

Foram adicionados em eppendorfs de 2 ml, 2 mg de pó da matéria seca (MS) das folhas e das raízes, em seguida adicionando 2ml de H_2O destilada, homogeneizando em agitador e banho banho-maria por 30 minutos à 100° C, respectivamente. Após este processo, os tubos foram centrifugados (2500 rpm por 5 minutos). Posteriormente foram colocado em cada microtubo 200 µl de mix 1 de reação, 200 µl de mix 2 de reação, 320 de H_2O e adicionaram-se 80 µl de extrato, em seguida agitou-se os microtubos e incubou-se a 100°C por 15 minutos. Posteriormente a reação foi resfriada com choque térmico usando água e gelo. E adicionou-se 1200 µl de etanol a 50%. As amostras foram mantidas por 20 minutos a temperatura ambiente. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 570 nm. O branco foi feito usando 200 µl de mix 1 de reação, 200 µl de mix 2 de reação, 400 de H_2O e 1200 µl de etanol a 50%. O método utilizado foi o preconizado por Peoples et al. (1989).

2.2.11 Determinação da concentração das proteínas solúveis totais

As concentrações de proteínas solúveis totais foram determinadas segundo o método proposto por Bradford (1976). Onde foram colocados em tubos de ensaio de 15 ml 100 mg de pó da matéria seca (MS) das folha e das raízes, sendo adicionados 5,0 ml do tampão de extração (TrisHCl 25 mM pH 7,6). Em seguida os tubos, foram devidamente lacrados, para serem submetidos ao processo de agitação durante 2 horas no agitador de mesa. Após esse processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 minutos). Posteriormente, foram colocados nos tubos de ensaios 100 µl do sobrenadante após a centrifugação + 2,5 ml do reagente de Bradford. Após este processo os tubos foram manualmente agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Com 15 minutos de repouso as leituras foram realizadas no espectrofotômetro a 595 nm, contra o branco que encerra 100 µl de água + 2,5 ml do reagente de Bradford. As concentrações de proteínas

solúveis totais foram estimadas a partir da curva-padrão construída com soro albumina bovina p.a (Sigma).

2.2.12 Determinação da concentração de prolina livre

Para a determinação de prolina foram pesado em eppendorfs de 2 ml, 2 mg de pó da matéria seca (MS) das folhas e das raízes, adicionando 2ml de H₂O destilada homogeneizando em agitador e banho maria por 30 minutos à 100 °C respectivamente. Após este processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2500 rpm por 5 minutos). Posteriormente colocado em cada microtubo, 400 µl de mix de reação, 400 µl ácido acético a 100% e 400 µL de extrato, seguindo de agitação e incubação a 100°C por 60 minutos. Em seguida a reação foi submetida ao choque térmico usando água e gelo. Adicionou-se 800 µl de tolueno a 100% e agitou-se vigorosamente por 30 segundos. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 20 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 520 nm. Descartou-se a fase não aquosa (parte superior). O branco foi feito somente com tolueno a 100%. O método empregado foi o preconizado por Bates et al. (1973).

2.2.13 Determinação da concentração de glicina - betaína

A determinação da concentração da glicina-betaína, foi realizada através da transferência de 25 mg de massa seca (MS) das folhas e das raízes, para tubos eppendorfs de 2 ml, adicionando 2 ml de água destilada e agitação por 4 horas no shacker a 25 °C (extração a frio), posteriormente centrifugada a 10000 rpm por 10 min a 25 °C; após a centrifugação o sobrenadante foi coletado para obtenção do extrato aquoso e descartou-se o precipitado.

Em eppendorfs de 2 ml, adicionou-se 250 µl do extrato aquoso + 250 µl de H₂SO₄ 2N (diluição da amostra 1:2). Os recipientes foram colocados durante 1 hora no banho de gelo (na geladeira - de 0° a 4 °C). Em seguida, adicionou-se 200 µl de KI-I₂ gelado a partir do qual permaneceu por um período de 16 horas a 0 °C (banho de gelo na geladeira – 0° a 4 °C); após esse período amostra passaram por centrifugação durante 15 min, 10000 rpm, 0 °C, descartando-se o sobrenadante; Lavou-se o precipitado duas vezes com 2 ml de H₂SO₄ 1N gelado com centrifugações por 5 minutos, 10000 rpm, 0°C a cada lavagem; após as lavagens, dissolveu-se o precipitado em 3 ml de 1,2-dicloroetano agitando vigorosamente; após 2 a 2,5 horas de descanso, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 365 nm. O método empregado foi o preconizado por Grieve & Grattan, (1983).

2.2.14 Determinação da concentração do amido

Para a determinação do extrato do amido, foram pesados em tubos de ensaio de 15 ml 20 mg de pó da matéria seca (MS) das folhas e das raízes, adicionando 2,5 ml de etanol a 80%. Em seguida as amostras foram submetidas ao banho-maria durante 1 hora a 75 °C, com agitações a cada 15 minutos. O material foi centrifugado e o sobrenadante coletado. Todo este processo foi realizado duas vezes, reunindo assim um extrato total com volume a ser completado para 10 ml com etanol 80%.

Do precipitado resultante da obtenção do extrato, foram adicionados 2 ml de ácido perclórico (HClO₄) a 30%. Seguiu-se agitação por 20 minutos e adição de 1,65 ml de H₂O deionizada. O extrato foi centrifugado e o sobrenadante coletado. Todo o processo de extração foi repetido mais duas vezes, reunindo um extrato total sendo completado até 25 ml com H₂O deionizada em balão volumétrico. Ao final das análises, adicionou-se aos tubos de ensaio 0,5 ml do extrato e 2,5 ml de antrona, tampando os tubos e aquecendo a 95 °C por 10 minutos, seguiu-se em banho de gelo. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro à 620nm, tendo como branco 0,5 ml de ácido perclórico a 6,9% (v/v), e 2,5 ml de antrona a 0,14%. O método empregado foi o preconizado por Hodge & Hofreiter, (1962).

2.2.15 Determinação da concentração dos açúcares redutores

Para a determinação da extração dos açúcares redutores, foram pesados em tubos de ensaio 20 mg de pó da matéria seca (MS) das folhas e das raízes, adicionando em seguida 2,5 ml de etanol a 80%. Posteriormente as amostras foram levadas ao banho-maria durante 1 hora a 75 °C, com agitações a cada 15 minutos. O material foi centrifugado e o sobrenadante coletado. Todo este processo foi repetido mais duas vezes, reunindo assim um extrato total com volume a ser completado para 10 ml com etanol a 80%.

A determinação da concentração dos açúcares redutores foi realizada a partir da adição de 500 µL do extrato e 500 µl do reativo de Nelson AB ao extrato (12,5 ml do reativo A + 0,5 ml do reativo B). Os tubos foram tamponados e aquecidos a 100 °C por 20 minutos, e em seguida resfriados em banho de gelo e água, adicionando em seguida 500 µl da solução arsenitomolibídica e agitação em vórtex; posteriormente foi feita a adição de 3,5 ml de H₂O destilada e direcionado ao vórtex. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro à 540nm, tendo como “branco” um tubo de ensaio contendo 500 µl de etanol 80%, 500 µl do reativo de Nelson AB e 500 µl da solução arsenitomolibídica, após banho de gelo e 3,5 ml de H₂O destilada. O método empregado foi o preconizado por Rinner et al, (2012).

2.2.16 Determinação da concentração dos açúcares não redutores

A determinação da concentração de açúcares não redutores foi obtida através do seguinte cálculo: açúcares não redutores = carboidratos solúveis totais – açúcares redutores.

2.2.17 Determinação dos carboidratos solúveis totais

Para a extração dos carboidratos solúveis totais, foram pesados 20 mg de matéria seca das folhas e das raízes e este foi colocado em tubos de ensaio, adicionando em seguida 2,5 ml de etanol a 80%. Imediatamente as amostras foram levadas ao banho-maria durante 1 hora a 75 °C, com agitações a cada 15 minutos. O material foi centrifugado e o sobrenadante coletado. O processo foi repetido por mais duas vezes, obtendo assim um extrato total, onde o volume foi completado para 10 ml com etanol 80%.

Logo em seguida, nos tubos de ensaio de 15 ml foram adicionados 200 µl do extrato, 200 µl de fenol 5% e 1,0 ml de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida agitaram-se os tubos em agitador de tubos, deixando em repouso em bandeja contendo água à temperatura ambiente (25 °C) por 10 a 20 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro à 490 nm, tendo como “branco” um tubo de ensaio contendo 200 µl de etanol 80%, 200 µl de fenol 5% e 1,0 ml de ácido sulfúrico concentrado. O método empregado foi o preconizado por Dubois et al. (1956), com adaptações feitas pelo Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará (UFC).

2.2.17 Determinação da sacarose

As amostras de 50 mg do material liofilizado foram homogeneizadas em solução de MCW (Metanol: Clorofórmio: Água: na proporção de 12: 5: 3 de volume), colocadas 30 minutos sob agitação. O material resultante foi centrifugado a 10000 rpm por 10 min, coletando-se o sobrenadante e o resíduo extraído com igual volume de MCW, seguindo-se de uma nova centrifugação e coleta do sobrenadante. Os sobrenadantes foram reunidos para obtenção do extrato total.

A cada 2,0 ml do sobrenadante coletado, adicionou-se 0,5 ml de clorofórmio e 750 µl de água deionizada, seguindo-se de agitação e centrifugação (2000 rpm, 10 minutos), para a separação da fase aquosa. Em seguida, uma alíquota da solução metanólica foi retirada e transferida para tubos de ensaio. Os tubos com a solução foram colocados em banho-maria, a 35 °C por volta de 30 minutos à 1 hora para evaporação do clorofórmio residual, e, então determinou-se o volume restante. Retirou-se alíquotas da solução metanólica, para as

dosagens de sacarose. A cada alíquota de 100 µl da fase aquosa adequadamente diluída, adicionou-se 100 µl de KOH 30 %, Seguindo agitação. A mistura foi aquecida a 100 °C por 10 minutos e, após resfriamento, adicionou-se 3,0 ml de solução de antrona 0,2 % em ácido sulfúrico, a mistura foi agitada e aquecida a 40 °C por 20 minutos. Após resfriamento, agitaram-se as amostras por 10 segundo. Ao fim do processo foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 620 nm, de acordo com o método preconizado por Van Handel (1968).

2.2.18 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x7, totalizando 14 tratamentos, sendo analisados como fator A os dois regimes hídricos (com deficiência hídrica e sem deficiência hídrica) e como fator B (Progênes). Cada tratamento estava representad por cinco repetições, totalizando 70 unidades experimentais, cada qual composta por uma planta/saco.

Os resultados das análises fisiológicas e bioquímicas foram submetidos aos testes de Shapiro – Wilks (SHAPIRO & WILKS, 1965), e levene (BOX, 1953) para verificação da normalidade e homocedasticidade dos dados. Existindo o atendimento das pressuposições para análise de variância, os dados foram submetidos a apreciações estatísticas.

Para avaliar o efeito comparativo da deficiência hídrica entre as progênes, procedeu-se à análise de variância e os valores médios foram comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa “Statical Analysis System” (SAS INSTITUTE, 2000).

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Variáveis ambientais

A radiação fotossintética ativa (PAR) alcançou média de 999,4 µmol⁻².s⁻¹. Já a temperatura ao longo do experimento situou-se em torno de 26 °C e a umidade relativa do ar em 66%. Enquanto, o déficit de pressão de vapor da atmosfera (DPV) atingiu valor de 0,82 kPa. Já as médias do DPV para todas as progênes, temperatura da folha são demonstrado na Tabela 3.

Estudo envolvendo o controle dos aspectos fisiológicos em condições naturais são afetada pelas condições climáticas, no entanto, são necessários um melhor entendimento dos fatores que mais influenciam o metabolismo da planta (SANT’ ANNA, 2009).

Tabela 3 - Médias para déficit de pressão de vapor, temperatura da folha, para as setes progênes de cupuaçuzeiro.

Progênes		DPV (kPa)	T °C (folha)
32	CONTROLE	0,72	28,8
	DH	0,78	28,9
42	CONTROLE	0,62	28,7
	DH	0,83	29,4
46	CONTROLE	0,63	29,0
	DH	0,71	29,1
47	CONTROLE	1,23	27,4
	DH	1,29	27,8
57	CONTROLE	0,96	27,9
	DH	1,04	28,4
215	CONTROLE	0,72	28,2
	DH	0,82	28,4
1074	CONTROLE	0,58	29,0
	DH	0,63	29,2

* D.H- deficiência hídrica

2.3.2 O potencial hídrico foliar

O potencial hídrico é empregado como parâmetro para analisar o status hídrico da planta, explicando os fluxos de água no sistema Solo - Planta - Atmosfera. A análise de variância revelou efeito significativo ao teste Scott - Knott ($p < 0,05$), em folhas de *Theobroma grandiflorum*, para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos para o potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}).

As progênes 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle apresentaram valores de -0,16, -0,18, -0,18, -0,15, -0,12, -0,18 e -0,13 MPa, respectivamente, enquanto para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores médios variaram de -2,5, -1,3, -2,5, -1,8, -1,4, -2,5 e -3,3 MPa, respectivamente. Dessa forma, a restrição hídrica promoveu decréscimo significativo no Ψ_{am} de 1.462%, 622%, 1.288%, 1.100%, 1.066%, 1.288% e 2.438%, respectivamente, em relação às progênes controle (Figura 5A).

Em relação ao potencial hídrico do xilema, também foi observado efeito significativo para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos. As progênes 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle apresentaram valores de -1,6, -1,24, -1,3, -1,2, -1,2, -1,6 e -0,7 MPa, respectivamente. Porém, para as progênes submetidas à deficiência hídrica os valores foram de -2,7, -2,04, -2,9, -2,6, -2,2, -2,7 e -5,2 MPa, respectivamente, desse modo, a deficiência hídrica promoveu diminuição no potencial hídrico xilemático de 68%, 65%,

123%, 117%, 83%, 68% e 642%, respectivamente, em relação às progênes controle (Figura 5B).

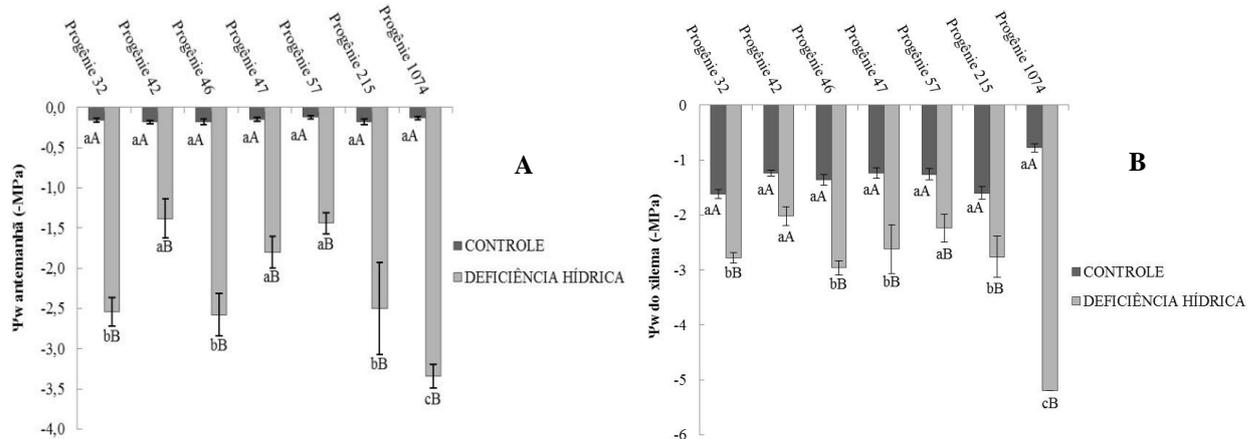
De modo geral, os resultados demonstraram relevância na determinação do Ψ_{am} e xilemático, tendo em vista que as ponderações feita na avaliação do antemanhã, mostraram que o potencial hídrico das progênes aproximam-se ao potencial hídrico do solo, sendo capaz de sugerir uma estratégia de ajustamento osmóticos. Já o potencial hídrico xilemático, denotam valores mais negativos, por se tratar de um horário de máxima demanda evaporativa para a espécie, qual está retida à restrição hídrica, por conseguinte, acentua os efeitos da deficiência hídrica no solo, induzindo a planta a redução o seu potencial hídrico (TAIZ & ZEIGER, 2013).

A deficiência hídrica reduziu o status hídrico de todas as progênes provocando diminuição do Ψ_w foliar. Isso pode ter ocorrido em função da baixa disponibilidade de água no solo ocasionando a decomposição das raízes (TAIZ & ZAIGER, 2013), diminuição da permeabilidade da membrana (OLIVEIRA NETO, 2010), perda da turgescência celular (MANSUR et al., 2000), desidratação dos tecidos (ULISSES, 2016) e conseqüentemente a redução do processo metabólico da planta (TAIZ & ZAIGER, 2013).

A redução do potencial hídrico está relacionada à perda de água por evapotranspiração. A diminuição do Ψ_w em planta sob condição de seca também pode está relacionada ao aumento dos solutos nos tecidos das folhas (PAGTER et al., 2005), como os teores de açúcares e aminoácidos. O acúmulo de solutos no citoplasma e no vacúolo das células vegetais, submetidas ao déficit hídrico, promoveria a absorção de água nas plantas, permitindo às células manterem a pressão de turgor (TAIZ & ZEIGER, 2013) suavizando o efeito da deficiência hídrica.

Diversos autores corroboram com resultado desse trabalho encontrando redução significativa para o potencial hídrico foliar em plantas em condição de deficiência hídrica (PINCELLI, 2010; VILELA, 2011; SANTOS, 2013; VITAL, 2014; BEZERRA, 2015; ULISSES, 2016).

Figura 5 - Potencial hídrico antemanhã (A) e xilemático(B) em folhas de progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênes na mesma condição hídrica, já letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.3 Fotossíntese

De acordo com análise de variância houve diferença significativa ($p < 0,05$) para interação dos fatores quanto à taxa de assimilação líquida da fotossíntese (A) entre os tratamentos hídricos. As progênes 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas aos tratamentos controle apresentaram valores de 9,1, 7,3, 6,4, 4,9, 6,9, 7,1 e 7,3 $\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente, entretanto, para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores foram de 2,5, 2,4, 1,6, 1,7, 1,0, 1,9 e 1,1 $\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente, ou seja, um decréscimo de A de 72%, 67%, 75%, 65%, 85%, 73% e 84%, respectivamente, quando comparada às plantas controles (Figura 6A).

A redução da taxa fotossintética em progênes de cupuaçuzeiro submetidas à deficiência hídrica, possivelmente está associado ao fechamento estomático realizado pelas plantas como mecanismo para atenuar a perda de água por transpiração, mantendo a turgescência celular. A redução da condutância estomática encontrado nesse estudo, também pode ter influenciado negativamente na fotossíntese, restringindo a disponibilidade de CO_2 no mesofilo foliar.

A diminuição da taxa fotossintética em plantas exposta à deficiência hídrica, pode estar relacionada à redução da concentração do teor de clorofila, justificado pelo reduzido teores de pigmento fotossintético encontrado neste estudo. A deterioração da clorofila em plantas sob restrição hídrica seria responsáveis pela fotoinibição e redução da eficiência fotossintética, além de outros processos celulares envolvidos, como; a divisão e expansão celular (LONG et al., 1994; WU et al., 2008;).

Flexas e Medrano (2002) atribuíram à diminuição da atividade fotossintética em plantas em condição de seca em função de fatores como; limitação estomática a entrada de CO_2 , danos ao aparato fotoquímico da fotossíntese, redução na síntese de ATP e diminuição na atividade da Rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase). Sanda et al. (2011), relataram que os mecanismos não estomáticos em nível de cloroplastos, como o transporte de elétrons e a fotofosforilação podem está envolvido na redução da fotossíntese em planta exposta a deficiência hídrica.

2.3.4 Condutância estomática

Observou-se que houve diferença estatística ($p < 0,05$) para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos quanto à condutância estomática (g_s). As progênes 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle, apresentaram média de g_s de 0,18, 0,16, 0,12, 0,16, 0,14, 0,19 e 0,18 $\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente, no entanto, para às progênes sob deficiência hídrica os valores encontrados foram de 0,02, 0,02, 0,01, 0,02, 0,01, 0,02 e 0 $\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente, Dessa forma, o déficit hídrico promoveu um decréscimo significativo na g_s de 89%, 88% 92%, 88%, 93%, 89% e 100%, respectivamente, em relação às progênes controle (Figura 6B).

A baixa concentração de água no solo reduz o Ψ_w nas folhas, refletindo no declínio da condutância estomática. Além disso, a diminuição da g_s pode está relacionada à redução do conteúdo relativo de água e, ao acúmulo de ácido abscísico (ABA) nas folhas, acarretando o fechamento estomático e conseqüentemente redução da condutância estomática.

O ácido abscísico é um dos hormônios mais estudado em plantas sob deficiência hídrica, e cientificamente é comprovado que a concentração em plantas submetidas à restrição hídrica tende aumentar, agindo como sinalizador positivo, sendo transportado da raiz para a parte aérea através de vasos xilemáticos, onde atua promovendo o fechamento estomático e conseqüentemente redução da condutância estomática (CORDEIRO, 2012).

De modo geral, os baixos valores de g_s encontrados, expressa uma estratégia das plantas para conservar um balanço hídrico favoráveis, minimizando a perda de água e mantendo certo turgor foliar, na tentativa de manter a atividade fotossintética nas plantas (SOUZA, 2012). Além disso, outro fator que pode explicar a redução da g_s nas progênes é a diminuição da abertura estomática, causando um decréscimo na E no tratamento sob deficiência hídrica, em função da elevação do DPV no decorrer do dia. Sant' Anna (2009)

também encontrou valores críticos de g_s ($0,00 \text{ mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) em plantas submetidas à deficiência hídrica. Resultado semelhante foi encontrado neste trabalho para a progênie 1074.

O decréscimo significativo da g_s em plantas submetidas à restrição hídrica é corroborado por outros autores como (SANTOS, 2013; LAWLOR; TEZARA, 2009; SILVA; COSTA, 2009; GRAÇA et al., 2010; SILVA et al., 2012; OLIVEIRA, 2014).

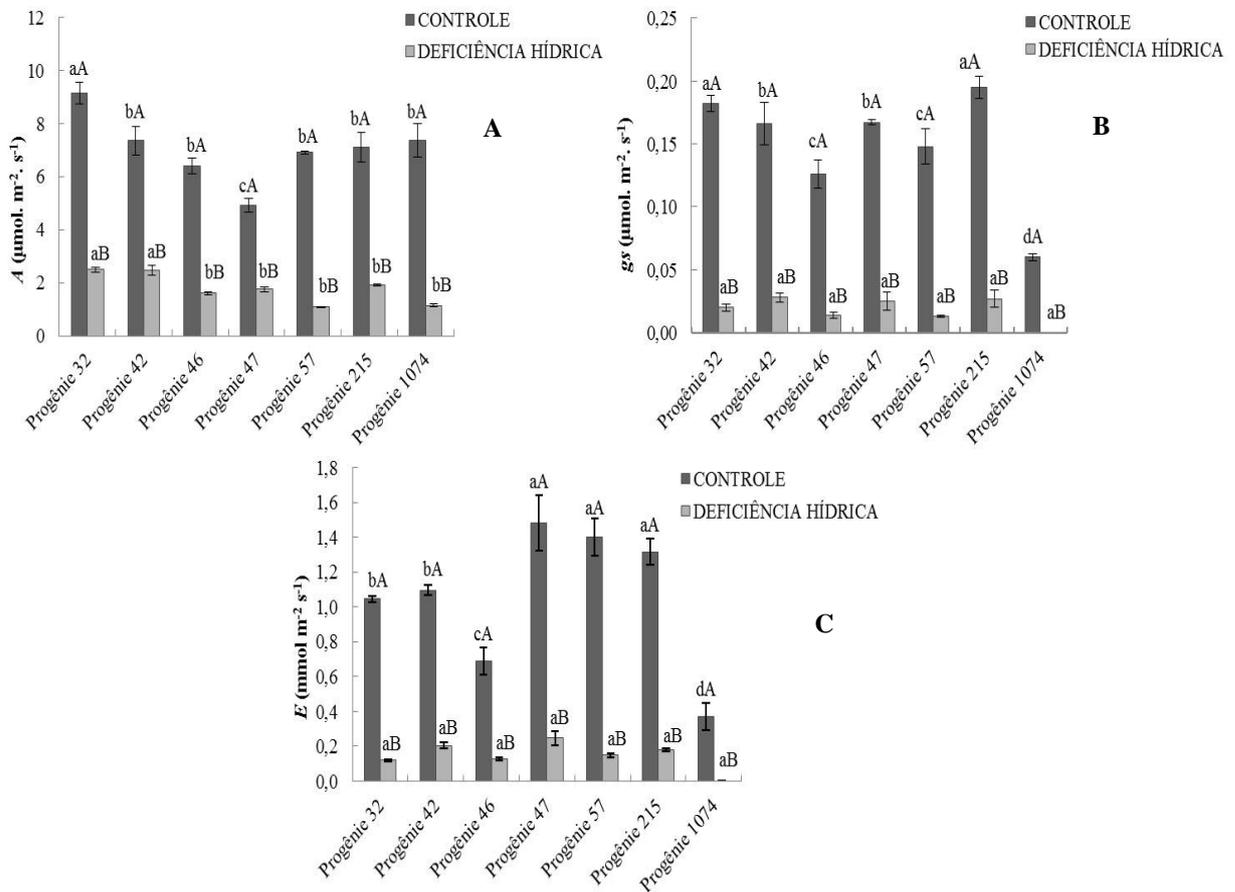
2.3.5 Transpiração

Observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para interação dos tratamentos para a taxa de transpiração foliar (E), seguindo tendência semelhante à g_s nas progênies submetidas à deficiência hídrica. As progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle, apresentaram média de 1,04, 1,09, 0,68, 1,48, 1,40, 1,31 e 0,36 $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente. No entanto, os resultados obtidos para as plantas sujeita a deficiência hídrica foi de 0,11, 0,20, 0,12, 0,24, 0,14, 0,17 e 0,00 $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente, ou seja, o estresse hídrico promoveu um decréscimo na E de 89%, 81%, 82%, 83%, 90%, 87% e 100%, respectivamente, quando comparadas as plantas controles (Figura 6C).

As plantas de uma forma geral quando sujeitas à deficiência hídrica, tende a promover o fechamento estomático, para impedir a perda de água por transpiração. A redução da E pode ter ocorrido em consequência do fechamento estomático, promovido pelo aumento da biossíntese ou da redistribuição do ácido abscísico em plantas sob deficiência hídrica (LIMA, 2015). O fechamento estomático diminui a E , reduzindo a capacidade de esfriamento, visto que a folha permanece recebendo radiação, promovendo aumento no déficit de pressão de vapor.

A diminuição da E também podem ser atribuída à diminuição da condutividade hidráulica das raízes, promovendo queda no P_w das folhas (ALVES, 2012). Outros autores confirmam o resultado observado nesse trabalho encontrando redução significativa na E em plantas submetidas à seca (NOGUEIRA et al., 2000; SILVA, 2013).

Figura 6 - Fotossíntese (A), condutância estomática (B) e transpiração (C) em folhas de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênies na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.6 Eficiência instantânea do uso de água

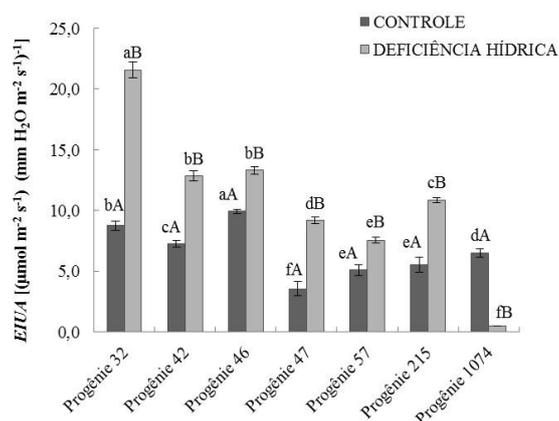
Os resultados da análise de variância ($p < 0,05$) mostraram diferença significativa para interação dos fatores quanto à eficiência instantânea do uso de água ($EIUA$) entre os tratamentos hídricos. As plantas controle de *Theobroma grandiflorum* apresentaram valores de 8,8, 7,2, 9,9, 3,6, 5,1, 5,5 e 6,5 [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\text{mm H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$] para as progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074, respectivamente, no entanto, para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores variaram de 21,6, 12,8, 13,3, 9,2, 7,5, 10,8 e 0,5 [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\text{mm H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$]. Dessa forma, o estresse hídrico promoveu um aumento significativo no $EIUA$ de 145%, 78%, 34%, 156%, 47%, e 96%, respectivamente. Já em relação à progênie 1074 houve diminuição significativa da $EIUA$ na condição de deficiência hídrica, provavelmente em função da reduzida taxa de transpiração apresentada pela referida espécie (Figuras 7).

O aumento da eficiência do uso da água em planta exposta a deficiência hídrica, está diretamente relacionada ao número de carbono fixado por unidade de água perdida. Uma frequente evidencia de monitoramento do solo desempenhado pelo sistema radicular, é através do aumento da *EIUA*, em consequência da baixa concentração hídrica no solo, gerenciando melhor a saída de água em função da entrada de carbono fixado (SUASSUNA, 2011).

Outro fator responsável pelo aumento da eficiência instantânea da água, em plantas submetidas à deficiência hídrica é a redução da fotossíntese, pois à medida que planta diminui a fotossíntese promove o aumento da sua eficiência. Portanto, a eficiência do uso de água é pautada com a taxa fotossintética, podendo também, apresentar relação inversa com a concentração interna de CO_2 , pois, para absorver o CO_2 a planta perde água, à medida que ocorre redução da absorção de CO_2 pode ocorrer o aumento na *EIUA* (SOUZA, 2014).

Dğadelen (2009) afirma que à medida que o suprimento hídrico do solo é reduzido, ocorre aumento da eficiência do uso de água. Já Chaves et al. (2009), relataram que a redução da *gs* também pode ter efeitos protetor, pois permite que a planta economize água e melhorando sua eficiência.

Figura 7 - Eficiência instantânea do uso de água (*EIUA*) em folhas de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênies, na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.7 Eficiência instantânea de carboxilação

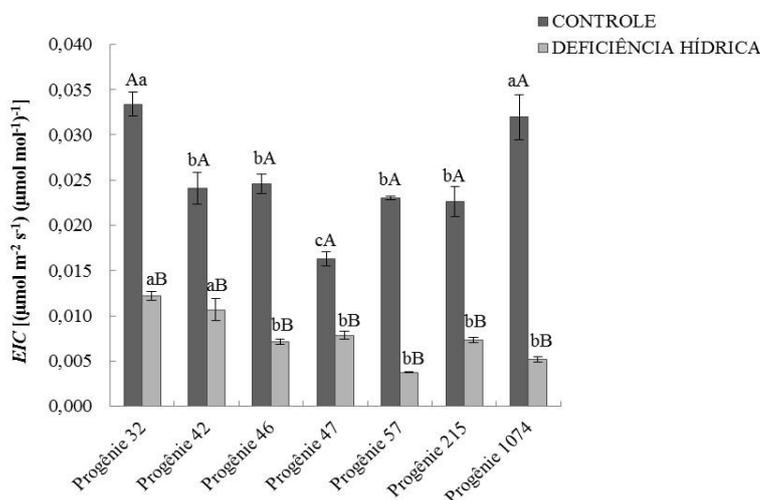
Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) para interação dos fatores quanto à eficiência instantânea de carboxilação (*EIC*). As progênies de *Theobroma grandiflorum* sob tratamento controle apresentaram valores de 0,03, 0,02, 0,02, 0,01, 0,02, 0,02 e 0,03 [$\mu\text{mol m}^{-2}$

$^2 \text{ s}^{-1}$) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) $^{-1}$], para as progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074, respectivamente, já para as mudas submetidas à deficiência hídrica os valores corresponderam a 0,01, 0,01, 0,007, 0,008, 0,004, 0,007 e 0,005, [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$], respectivamente, representando uma redução significativa da eficiência de carboxilação de 63%, 54%, 72%, 50%, 82%, 69% e 84%, respectivamente, comparadas as plantas submetidas ao tratamento controle (Figura 8).

Provavelmente, a redução da eficiência instantânea da carboxilação em progênies de cupuaçuzeiro submetidas à restrição hídrica, pode estar relacionada à redução da assimilação CO_2 , observada em todas as progênies. Uma vez que, o decréscimo da assimilação de carbono promovido pelo aumento da resistência estomática, além, da diminuição da fotossíntese e condutâncias estomáticas, também favorece a redução da eficiência de carboxilação (SOUZA, 2012).

Outro fator ligado à redução da *EIC* é a diferença de temperatura entre os tratamentos, já que, a restrição hídrica tende a promover aumento da temperatura em plantas estressadas. Carmo-Silva et al. (2012), relataram que é normal uma menor *EIC* nas plantas sob estresse hídrico, em virtude do aumento da temperatura.

Figura 8 - Eficiência instantânea de carboxilação em folhas de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênies na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.8 Concentração interna de carbono e relação carbono interno x externo

Análise de variância revelou diferença significativa ($p < 0,05$) para interação dos fatores, na concentração interna de carbono (*CI*) e relação carbono interno x externo (*CI/CA*).

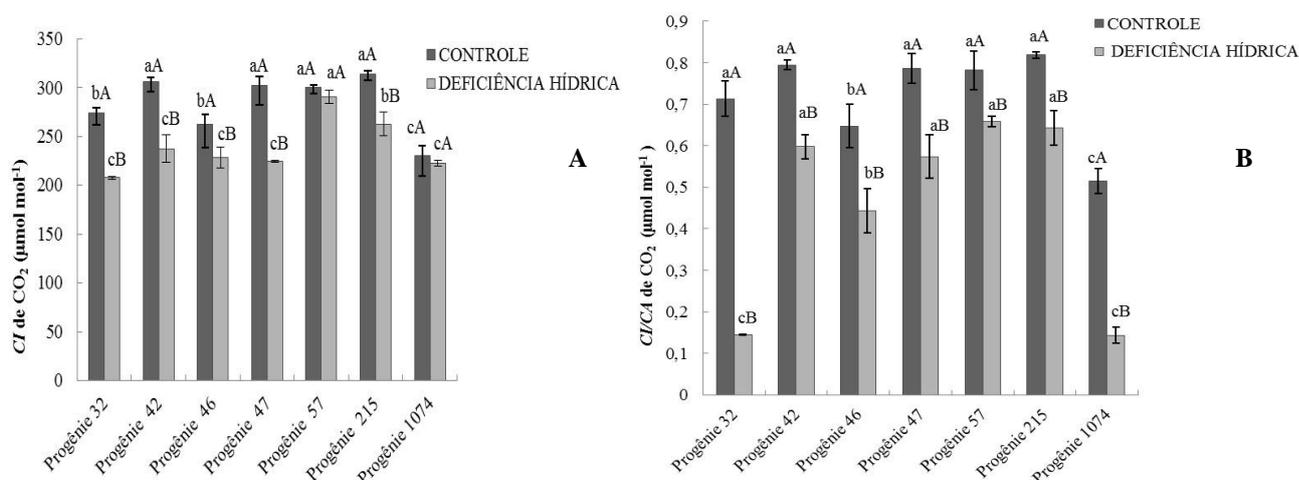
Em relação ao CI as progênes 32, 42, 46, 47 e 215 submetidas ao tratamento controle, apresentaram média de 274, 305, 262, 302 e 314 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente, no entanto, para as plantas sujeita a deficiência hídrica foi encontrado valores médio de 207, 237, 228, 224 e 291 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, ou seja, um decréscimo significativo da CI de 24%, 22%, 13% 26% e 7%, respectivamente, em comparação às progênes controle. Já para as progênes 57 e 1074 não houve diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 9).

Em relação à CI/CA as progênes 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle, apresentaram média de 0,71, 0,79, 0,66, 0,78, 0,78, 0,81 e 0,51 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente, no entanto, para as plantas sujeita a deficiência hídrica foi encontrado valores médio de 0,14, 0,59, 0,44, 0,57, 0,65, 0,64, 0,14 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente, ou seja, um decréscimo significativo da relação carbono interno x externo de 80%, 25%, 33%, 27%, 17%, 21% e 72%, respectivamente, em relação às plantas controles (Figura 9B).

A diminuição da taxa de assimilação de CO_2 em progênes de cupuaçuzeiro pode estar associada à redução da condutância estomática, sendo que a limitação estomática é o fator principal responsável pela restrição do desempenho fotossintético, uma vez que, quanto maior o fechamento estomático menor é a concentração de carbono para a câmara subestomática (KERBAUY, 2008). Além disso, a redução da transpiração também contribui para a redução da concentração de carbono. Portanto, a diminuição da taxa de assimilação de CO_2 ao longo da deficiência hídrica em progênes de *Theobroma grandiflorum*, pode ser atribuída à redução da disponibilidade de CO_2 no interior da folha, provocada pelo fechamento estomático promovido pela planta, em resposta a restrição de água no solo. O fechamento estomático aumenta a resistência de difusão do CO_2 para o sítio catalítico da Rubisco, originando um efeito negativo nos valores da concentração de carbono intercelular (DAMOUR; VANDAME; URBAN, 2009).

Portanto, o aumento da resistência à difusão gasosa e a redução na taxa de assimilação de CO_2 é resultado do fechamento estomático como resposta para evitar a perda de água por transpiração, em plantas submetidas à restrição hídrica (CHAVES & OLIVEIRA, 2004). Outros autores também observaram redução na assimilação de dióxido de carbono em plantas submetidas à deficiência hídrica corroborando com o resultado desse trabalho (CHAVES et al., 2009; ROCHA, 2014; LUÍS, 2009).

Figura 9 - Concentração de carbono interno (A) e relação CI/CA (B) em progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênies na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.9 Concentração de nitrato

A análise de variância apresentou diferenças estatísticas ($p < 0,05$) para interação dos fatores na concentração de nitrato. Para o tecido foliar houve diferença estatística nas concentrações de nitrato para as progênies 32, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle com valores médio de 0,56, 0,18, 0,33, 0,15, 0,21 mmol de $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ MS de tecido, respectivamente, já para as plantas sob deficiência hídrica, os resultados foram de 0,17, 0,05, 0,24, 0,06, 0,11 mmol de $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ MS de tecido, respectivamente, correspondendo uma redução de 70%, 72%, 27%, 60% e 47%, respectivamente, em relação às plantas controle. No entanto, para as progênies 42 e 46 não houve diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 10A).

Para a raiz foi encontrado diferença estatística para a interação dos fatores nas concentrações de nitrato (Figura 10B). As progênies 32, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas à irrigação apresentaram valores de 0,10, 0,27, 0,14, 0,15, 0,188 e 0,14 mmol de $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ MS de tecido, respectivamente, já para as plantas sob deficiência hídrica, os resultados foram de 0,04, 0,15, 0,05, 0,04, 0,13 e 0,05 mmol de $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ MS de tecido, respectivamente, correspondendo uma redução significativa de 63%, 42%, 63%, 72%, 28% e 59%, respectivamente na concentração deste íon. No entanto, para as progênies 42 não houve diferença estatística entre os tratamentos hídricos.

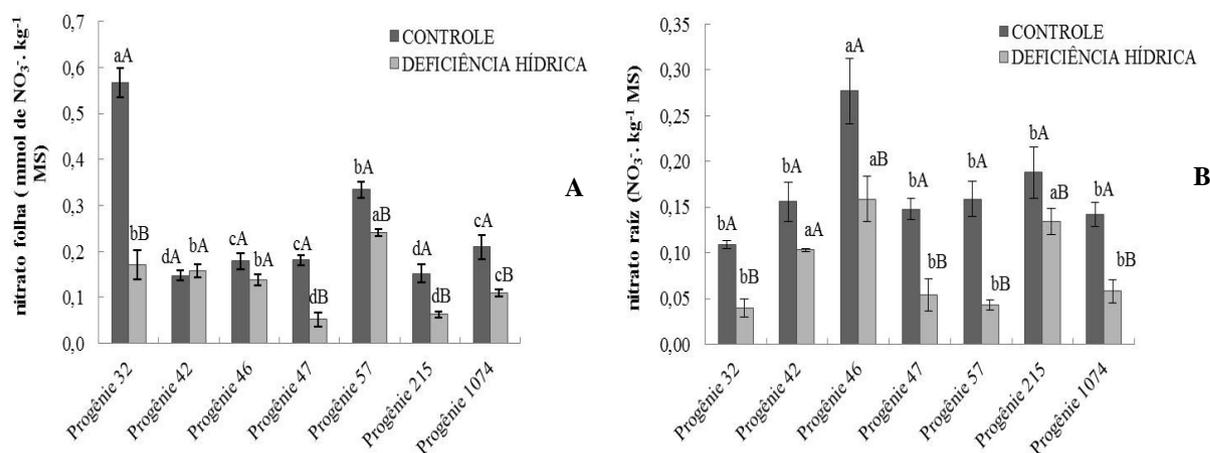
A planta assimila fundamentalmente o nitrogênio através do contato íon-raiz, realizado preferencialmente por fluxo de massa, onde o nitrato e o amônio são absorvidos e distribuídos para todas as partes da planta. A diminuição da concentração de nitrato nas folhas e raízes de

Theobroma grandiflorum, em condições de deficiência hídrica pode está associada á redução de água no solo e conseqüentemente a restrição da assimilação de nitrato do solo pelas raízes, uma vez que a movimentação desse nutriente ocorre através de via corrente transpiratória (vasos do xilema), refletindo com isso na baixa atividade da enzima redutase do nitrato (RN) nas folhas e raízes, tendo em vista que a enzima depende do fornecimento de nitrato (SHANER; BOYER, 1976).

Coll et al. (2001), relataram que o transporte predominantemente do nitrato acontece através do xilema até os órgãos superiores da planta, onde acontece o processo de redução e assimilação do nitrato. Processo este em que os íons H^+ são co-transportados juntamente com os íons NO_3^- para mais tarde ser reduzido através da enzima redutase do nitrato em nitrito, na própria raiz ou transportado para outros órgãos via corrente xilemático, para ser reduzido posteriormente (CAMPBELL, 2001).

A redução da assimilação de nitrato pelo tecido radicular, a atenuação do movimento de nitrato pelo xilema para folha, a inatividade da enzima pelo processo degradativo e baixo fluxo da corrente transpiratória, podem justificar a redução da concentração de nitrato em tecido foliar e radicular em plantas sujeita a restrição hídrica (TAIZ & ZAIGER, 2013).

Figura 10 - Concentração de nitrato (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênies na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.10 Atividade da redutase do nitrato

Os resultados das análises de variância mostraram diferença significativa ($p < 0,05$), para interação dos fatores na concentração da atividade da redutase do nitrato (RNO_3^-) em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum*. Em tecido foliares as progênies 32, 42, 46, 47,

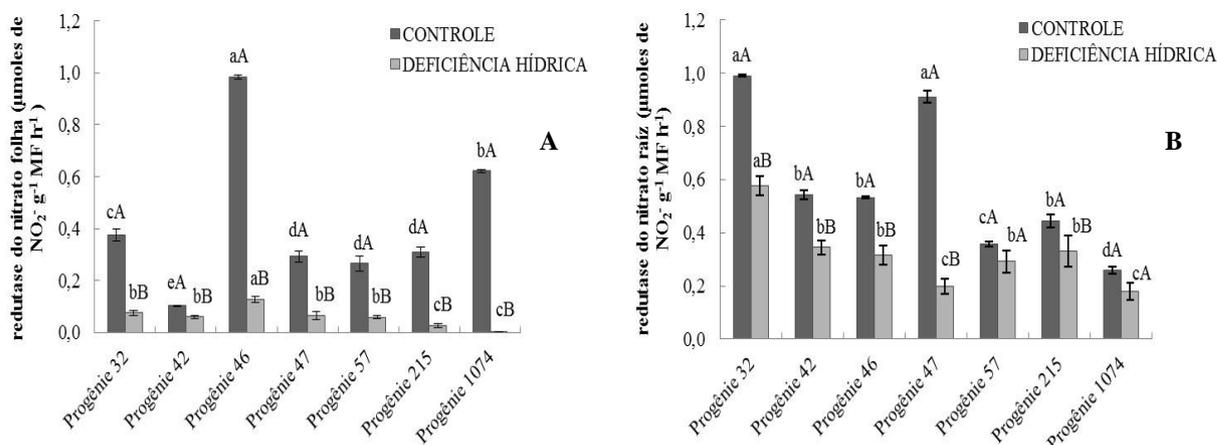
57, 215 1074 submetidas ao controle apresentaram valores com médias de 0,37, 0,10, 0,98, 0,29, 0,26, 0,30 e 0,62 $\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$, respectivamente, no entanto os teores da atividade da RNO_3^- em plantas sob deficiência hídrica variaram de 0,07, 0,06, 0,12, 0,06, 0,05, 0,02 e 0,002 $\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$, respectivamente, representando um decréscimo da ação da enzima de 80%, 40%, 87%, 77%, 77%, 91% e 99%, respectivamente, em relação às progênies submetidas ao tratamento controle (Figura 11A).

Para o tecido radicular, também foi observado redução significativa da atividade da redutase de nitrato, nas progênies 32, 42, 46, 47 e 215 submetidas ao tratamento controle foram encontrado valores médio de 0,99, 0,54, 0,53, 0,91 e 0,44 $\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$, respectivamente, já para as plantas sob deficiência hídrica, os valores foram de 0,57, 0,34, 0,31, 0,19 e 0,33 $\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$, respectivamente, Caracterizando redução da atividade da enzima de 42%, 37%, 41%, 79% e 25%, respectivamente, em relação às progênies submetidas ao tratamento controle. Já Para as progênies 57 e 1074 não foi encontrada diferença estatística (Figura 11B).

A redução da atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes de plantas de *Theobroma grandiflorum*, em condição de deficiência hídrica, possivelmente está relacionada à perda de absorção de nitrato, em função da elevada retenção da solução do solo promovida pela deficiência hídrica. O nitrato é um importante regulador da atividade da redutase do nitrato e do nitrito (CRAWFORD, 1995). Por tanto, a diminuição da concentração de nitrato em progênies de cupuaçuzeiro pode ter provocado a redução da atividade da RN, em função da enzima ser dependente do seu substrato. Pesquisa realizada por Santos et al. (2012), comprovam a dependência do RN ao seu substrato (nitrato). Embora a restrição hídrica influencie negativamente a atividade da redutase de nitrato, a diminuição da sua atividade está relacionada à redução do nível de transcrição da enzima (CHENG et al., 1992; VINCENTZ et al., 1993).

Contudo, plantas expostas a deficiência hídrica, tendem a promover à redução da fotossíntese em função do fechamento estomático, dessa maneira, sucede a intensa desidratação do mesófilo foliar, reduzindo a capacidade fotossintética da folha, diminuindo o influxo de nitrato e redução da atividade da enzima (BELO, 2015). Resultados deste estudo também foram observados por Castro et al., (2008) e Alves, (2012).

Figura 11 - Atividade da redutase de nitrato (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.11 Concentração de amônio livre

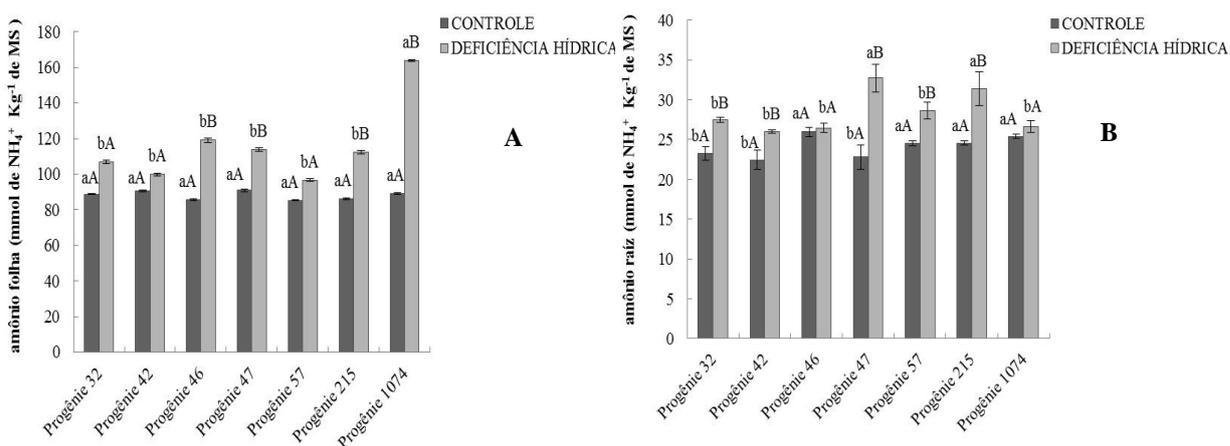
As análises de variância revelaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para interação dos fatores, na concentração de amônio (NH_4^+) em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum*. Em tecido foliar a deficiência hídrica promoveu o aumento do teor de NH_4^+ nas progênies 46, 47, 215 e 1074 passando de 8,5, 9,0, 8,6 e 8,9 mmol de NH_4^+ Kg^{-1} de MS nas plantas controle para 11,9, 11,3, 11,2 e 16,3 mmol de NH_4^+ Kg^{-1} de MS nas plantas submetidas da deficiência hídrica, respectivamente, revelando um acréscimo de 38%, 25%, 30% e 83% comparado às progênies submetidas aos tratamentos controle. Já para as plantas 32, 42 e 57 não foi observado diferença estatísticas entre os tratamentos hídricos (Figura 12A).

Para a raiz (Figura 12B), também foi observado um aumento significativa no teor de amônio. As progênies 32, 42, 47, 57 e 215 sob controle, foram encontradas valores de 23,3, 22,4, 24,5, 22,7 e 24,5 mmol de NH_4^+ Kg^{-1} de MS, respectivamente, já para as plantas sob deficiência hídrica os valores variaram de 27,4, 26,0, 32,7, 28,6 e 31,4 mmol de NH_4^+ Kg^{-1} de MS respectivamente, correspondendo um aumento de 17%, 16%, 44%, 16% e 28%, em relação às progênies submetidas aos tratamentos controles. No entanto, para as plantas 46 e 1074 não foi encontrada diferença estatísticas entre os tratamentos hídricos.

As plantas quando estão sujeita a deficiência hídrica, podem induzir a formação de amônio por meio da proteólise, ou através da indução de outras rotas de formação desse composto (TAIZ & ZEIGER, 2013). Pesquisas envolvendo atividade da glutamina sintetase (GS) e enzima desidrogenase do glutamato (GDH) /NADH, quando relacionada ao aumento

do teor de amônio nos tecidos das plantas em condição de deficiência hídrica, sugerem que o acréscimo da concentração desses íons, ocorre por meio da redução das atividades das enzimas GS e GDH (OLIVEIRA NETO, 2010). Além disso, o acúmulo do amônio nas plantas sujeita a deficiência hídrica também está relacionada ao processo de fotorrespiração do catabolismo de compostos nitrogenados, como aminoácidos e pela desaminação (DEBOUBA et al., 2007). Outra possível explicação para o acréscimo do teor de amônio em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum* pode estar relacionada à diminuição da fotossíntese, visto que esta alimenta o metabolismo do nitrogênio através do fornecimento de energia (ATP) e pela formação de poderes redutores (NADPH, FADH e NADH). Os resultados obtidos neste trabalho também foram observados por Ferreira et al. (2002), Zhou et al. (2004) e Queros (2010).

Figura 12- Concentração de amônio livre (A – folhas; B – raízes) progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as progênes na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.12 Concentração de aminoácidos solúveis totais

Os resultados obtidos nas folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum* mostraram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para interação dos fatores quanto à concentração de aminoácidos (AA). Em tecido foliar as progênes 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas aos tratamentos controle apresentaram médias de AA de 149, 123, 118, 120, 126, 120 e 116 μmol de AA g^{-1} de MS, respectivamente, já para as progênes sob deficiência hídrica os valores de aminoácidos foram de 179, 177, 168, 175, 212, 159, e 159 μmol de AA g^{-1} de MS, respectivamente, representando assim, um aumento significativo de 20%, 44%, 42%, 46%,

68%, 32% e 37 %, respectivamente, em relação às progênies submetidas ao tratamento controle (Figura 13A).

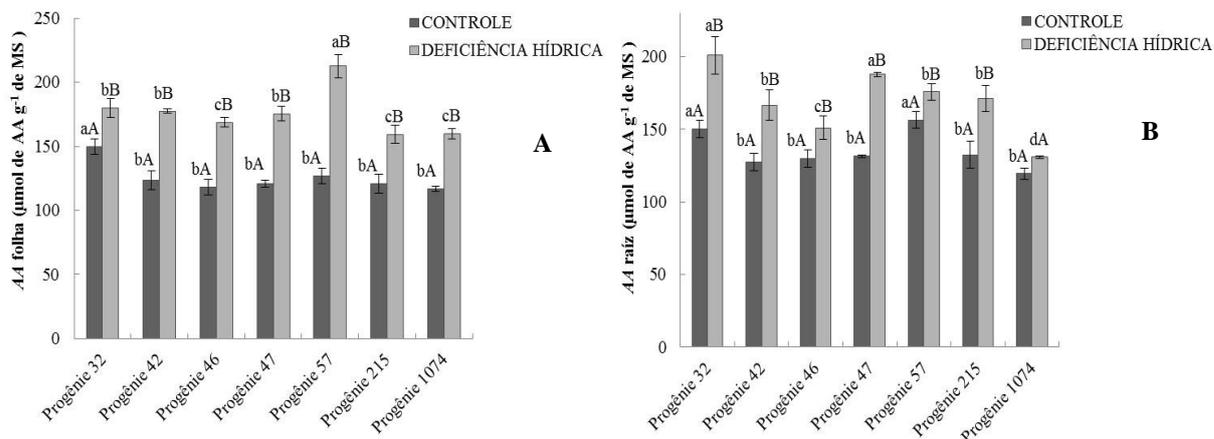
Em tecido radicular, as progênies 32, 42, 46, 47, 57 e 215 submetidas aos tratamentos controle apresentaram médias de AA de 150, 127, 129, 131, 156, 132 $\mu\text{mol de AA g}^{-1}$ de MS, respectivamente, já para as plantas sob deficiência hídrica, os valores de aminoácidos foram de 200, 166, 150, 187, 175 e 171 $\mu\text{mol de AA g}^{-1}$ de MS, respectivamente, representando um aumento significativo na concentração de AA de 33%, 31%, 16%, 43% 12% e 29%, respectivamente, em relação às progênies submetidas ao tratamento controle. No entanto, para a progênie 1074 não houve diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 13B).

O aumento dos aminoácidos, nas folhas e nas raízes de plantas de cupuaçuzeiro exposta à deficiência hídrica, pode ser atribuído à alteração do metabolismo do nitrogênio, com redução da síntese de proteína e acúmulo de aminoácidos (BRITO et al. 2008), mantendo assim a turgescência celular, além de servir de reserva de nitrogênio para a retomada de crescimento da planta ao final da deficiência hídrica.

Provavelmente, o acúmulo de aminoácido também esteja relacionado à alta concentração de amônio observado nesse estudo, isso pode ter favorecido a transformação desse composto em aminoácido. Além disso, o acúmulo de aminoácidos em plantas em condição de seca é justificado por distúrbios no tecido vascular como o floema, resultando na redução da translocação para outros órgãos e tecidos vegetal, contribuindo para o acréscimo desse aminoácido no metabolismo da planta (SUBBARAO et al., 2000).

O acúmulo de aminoácidos no citoplasma vegetal, em plantas sobre deficiência hídricas seria um mecanismo empregado para balancear o potencial osmótico entre o citoplasma e o vacúolo, evitando danos aos sistemas enzimáticos (MUNNS & TESTER, 2008), resguardando as estruturas e funções celulares, além de servir como fonte de energia metabólica (VADEZ & SHARM, 2008). Resultados semelhantes a este trabalho também foram encontrados por Catala et al.(2007), Lechinoski et al. (2007) e De Paula (2013).

Figura 13 - Concentração de aminoácidos solúveis totais (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.13 Concentração de proteínas solúveis totais

A análise de variância revelou efeito significativo pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$) em folhas de *Theobroma grandiflorum*, para interação dos fatores entre os tratamentos quanto à concentração de proteínas solúveis totais (*PST*).

Em tecido foliar, as progênies 32, 42, 46 e 57 submetidas ao tratamento controle apresentaram médias de 3,9, 4,0, 5,5 e 1,7 mg proteína/g MS, respectivamente, já para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores médios de *PST* foi de 17,5, 7,2, 14,1 e 10,8 mg proteína/g MS, respectivamente, indicando um aumento de 348%, 80%, 156% e 535%, respectivamente, em relação às progênies submetidas ao tratamento controle. Já para as progênies 47, 215 e 1074, não foi observado diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos (Figura 14B).

Pela análise de variância observou-se diferença estatística significativa no tecido radicular (Figura 14B). A progênie 215, apresentou média de 3,7 mg proteína/g MS para a planta submetidas ao tratamento controle, enquanto que para a progênie submetida à deficiência hídrica o valor foi de 5,6 mg proteína/g MS, representando um aumento de 51% comparada a controle. No entanto, para as plantas 32, 42, 46, 47, 57 e 1074 não foi encontrado diferença estatística entre os tratamentos hídricos.

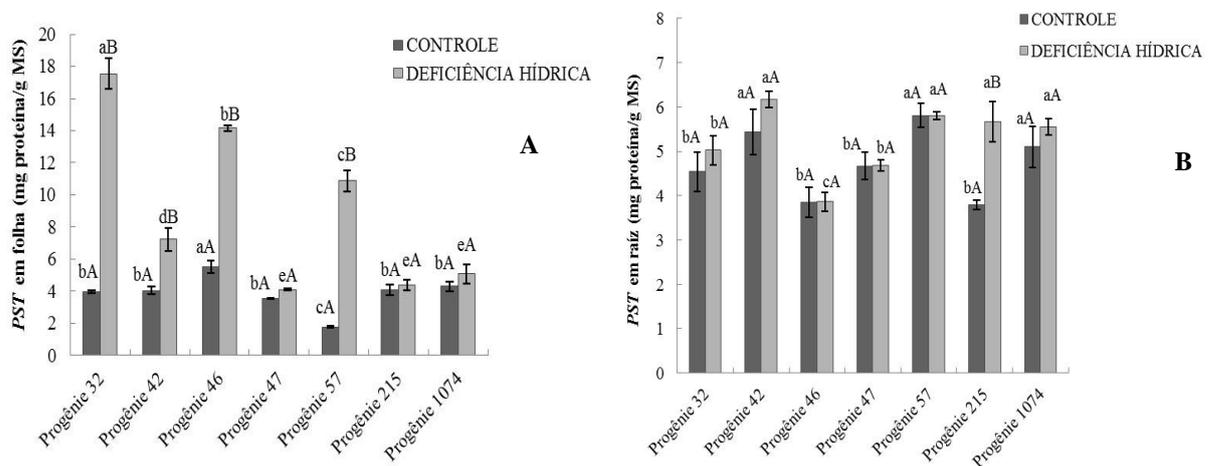
O acréscimo do teor de proteínas em progênies de cupuaçuzeiro submetidas à deficiência hídrica possivelmente está associada ao aumento da concentração de aminoácidos apresentado pelas plantas. Além disso, o acúmulo de proteína na célula vegetal pode ser oriunda da conservação de um estoque de nitrogênio para manter o metabolismo das plantas

ao final do estresse hídrico (MANSOUR, 2000). Desse modo, as proteínas conseguem sintetizar “novo” ou ter a expressão elevada, em resposta ao estresse hídrico (BELO, 2015).

O acúmulo de proteínas em plantas sujeita à deficiência hídrica, também é originada da mudança na expressão de proteínas relacionadas com metabolismo de nitrogênio em folhas e raízes, como a glutamina sintetase, que além de promover a remobilização de nitrogênio, elevando o N disponível, também é responsável pelo acúmulo de proteínas (SOARES, 2013). Além disso, a elevação da concentração desse composto pode estar relacionada a não degradação de proteínas, justificado pelo ajustamento osmótico, uma vez que, o acúmulo de carboidratos e proteínas ajuda na proteção contra a desidratação dos tecidos, funcionando como estabilizador de membrana celular auxiliando na manutenção do turgor celular (SANTOS, 2015).

O acréscimo no teor de proteínas em plantas em condição de deficiência hídrica também é relatado como mudança do potencial osmótico celular, promovendo um acúmulo de metabolitos, além de modificar as atividades enzimáticas e sínteses de proteínas (MARANVILLE & PAULSEN, 1970; SANTOS, 2010).

Figura 14 - Concentração de proteínas solúveis totais (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.14 - Concentração de prolina

De acordo com a análise estatística, referente à concentração de prolina em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum* foram encontradas diferenças significativas ao nível de 5%

de probabilidade para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos. Nas folhas das progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074, submetidas ao tratamento controle expuseram valores de 0,22, 0,62, 0,62, 0,58, 0,51, 0,53 e 0,54 $\mu\text{mol. g}^{-1}\text{MS}$, respectivamente, já para as plantas sob deficiência hídrica, os valores de prolina variaram de 3,52, 3,51, 3,11, 4,70, 4,65, 4,04 e 3,7 $\mu\text{mol. g}^{-1}\text{MS}$, respectivamente, ou seja, a deficiência hídrica promoveu um acréscimo significativo nos teores de prolina de 1500%, 466%, 401%, 710%, 802%, 662% e 585%, respectivamente, em comparação às progênies submetidas ao tratamento controle (Figura 15A).

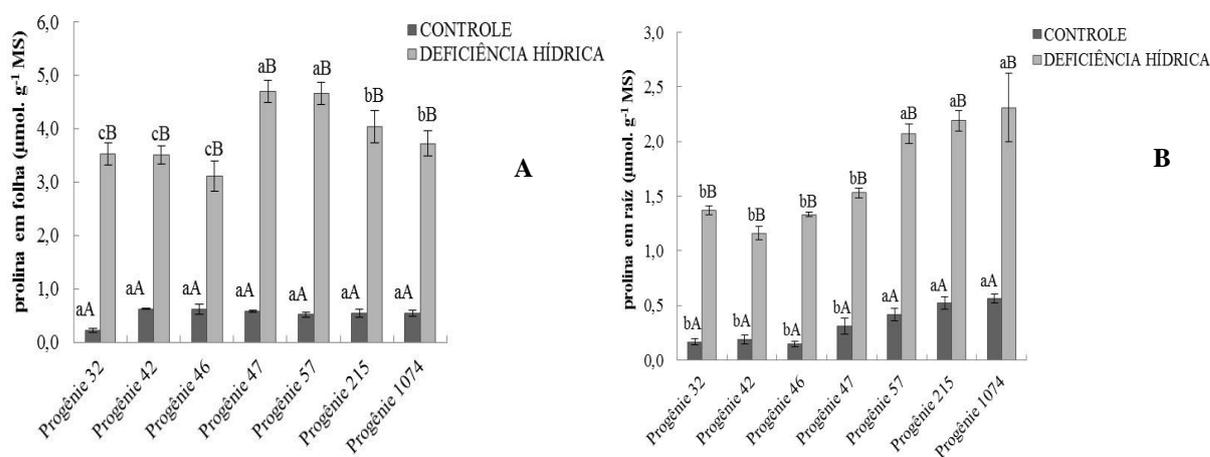
Para a raiz também foi encontrado diferença significativa na concentração de prolina, nas plantas 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas aos tratamentos controles, os valores médios foram de 0,16, 0,18, 0,14, 0,31, 0,41, 0,51 e 0,56 $\mu\text{mol. g}^{-1}\text{MS}$, respectivamente, no entanto, para as progênies sob deficiência hídrica os valores médios variaram de 1,37, 1,16, 1,33, 1,53, 2,07, 2,19 e 2,31 $\mu\text{mol. g}^{-1}\text{MS}$, respectivamente, indicando um aumento significativo na concentração de prolina de 720%, 517%, 804%, 390%, 397%, 321% e 311%, respectivamente, em relação às progênies submetidas aos tratamentos controles (Figura 15B).

O acúmulo de prolina em plantas em condição de deficiência hídrica, possivelmente está relacionado ao ajuste osmótico. Tal processo auxilia na manutenção da abertura estomática e no processo fotossintético, possibilitando que este atue em condição reduzida de água (HAYAT et al., 2012). Diversos trabalhos também atribuem a prolina como osmorregulador (QUEIROZ et al., 2010; CIA et al., 2012; SANTOS, 2013). Kishor et al. (2005), atribuem o acúmulo de prolina em plantas sujeita à deficiência hídrica em função da prevenção contra a diminuição da turgescência celular, resguardando a integridade celular e possibilitando a sequência de processos fisiológicos, essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas. A prolina acumulada funcionaria como energia e redistribuição de nitrogênio e carbono, para a recuperação de atividades fisiológicas na planta (HEMAPRABHA et al., 2013).

Plantas em processo de desidratação estimula a enzima P5CS (Pirrolina-5-carboxilato sintase) a atuar no cloroplasto transformando glutamato a prolina, ao mesmo tempo a enzima PDH (prolina desidrogenase) responsável pela degradação de prolina é inativada, promovendo o acúmulo deste metabólito na célula (SZABADOS & SAVOURE, 2009). Além disso, o acréscimo desse aminoácido seria uma estratégia da planta para promover a desintoxicação alternativa das espécies reativa ao oxigênio (EROs).

Para Freitas (2014), o acúmulo de prolina em plantas sob deficiência hídrica, provavelmente está relacionado ao aumento da atividade das enzimas proteolíticas, que atuam originando maior disponibilidade desse aminoácido livre. Hanson (1982) corrobora com resultado desse trabalho, enfatizando que é normal o acréscimo de 20 a 100 vezes na concentração desse aminoácido, após a exposição das plantas a deficiência hídrica.

Figura 15 - Concentração de prolina (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.15 Concentração de glicina - betaína

Observou-se diferenças significativas ($p < 0,05$), em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum*, para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos quanto à concentração de glicina. Na folha das progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 submetidas ao tratamento controle apresentaram médias de 5,1, 7,3, 8,3, 8,0, 6,3, 7,1 e 9,4 $\mu\text{mol.g}^{-1}$, respectivamente, enquanto que os teores de glicina encontrados nas plantas sob deficiência hídrica foi de 11,9, 9,5, 16,7, 13,7, 12, 15,5 e 13,7 $\mu\text{mol.g}^{-1}$, respectivamente, indicando um acréscimo de 133%, 30%, 101%, 71%, 90%, 118% e 45% respectivamente, em relação às progênies submetidas aos tratamentos controles (Figura16A)

Para o tecido radicular de cupuaçuzeiro as progênies 46, 47, 57 e 215 sob controle, apresentaram valores médios de 15,5, 15,3, 12,4 e 14,1 $\mu\text{mol.g}^{-1}$, respectivamente, enquanto que as concentrações de glicina para as progênies sob deficiência hídrica foram de 17,3, 18,6, 17,9 e 20,0 $\mu\text{mol.g}^{-1}$, respectivamente, representando aumento de 11%, 21%, 44% e 41%,

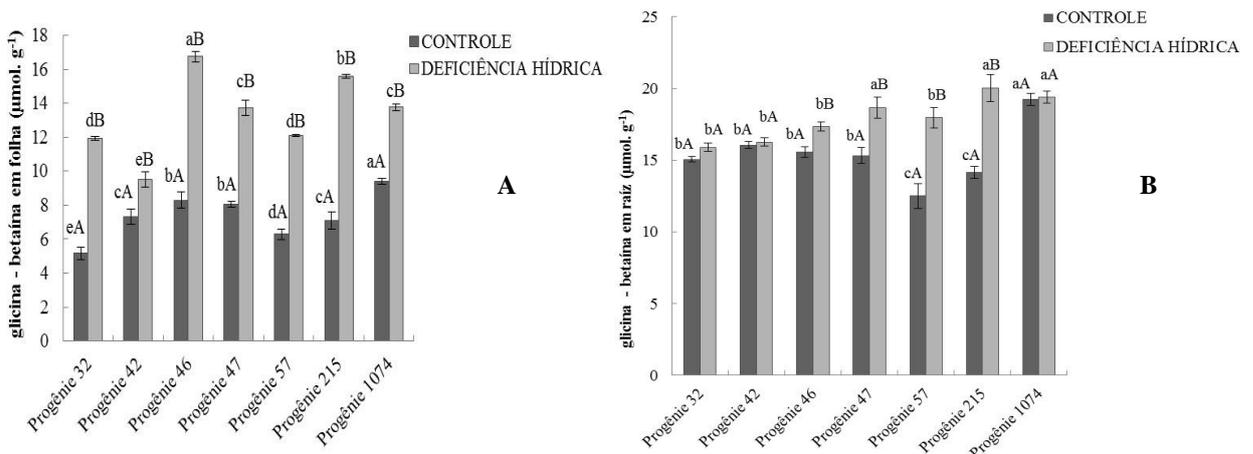
respectivamente em relação às plantas controle. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos para as progênes 32, 42, e 1074 (Figura 16B).

O aumento da concentração de glicina em progênes de *Theobroma grandiflorum* em condição de estresse hídrico pode estar associado ao mecanismo de defesa e proteção do metabolismo vegetal, uma vez que o acúmulo desse metabolito atua como osmólito compatível, conservando o “equilíbrio” da água entre a célula vegetal e o ambiente (CARLIN & SANTOS, 2009). O alto valor de glicina em plantas submetidas à deficiência hídrica também pode ser originária dos elevados teores de amônio, provenientes do processo final da fotorrespiração.

Ressalta-se ainda, que o acúmulo de glicina-betaína em folhas e raízes de plantas expostas à deficiência hídrica, é uma resposta vegetal à diminuição da disponibilidade hídrica no solo, visando à proteção da membrana celular contra o estresse oxidativo (ASHRAF & HARIS, 2004). Para os mesmo autores, a concentração desse metabolito, ajuda na proteção da planta auxiliando na manutenção da turgescência celular, por meio do ajustamento osmótico das células.

Cordeiro (2012), trabalhando com três espécies nativas da Amazônia quando submetidas à deficiência hídrica, também encontraram comportamento semelhante a este estudo.

Figura 16 - Concentração de glicina- betaína (A – folhas; B – raízes) de progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênes na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.16 Concentração de carboidratos solúveis totais

Considerando a análise de variância, observou-se diferença estatística significativa para a interação dos fatores entre os tratamentos avaliados. Em tecidos foliar, as progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 sob controle, apresentaram teores de carboidratos solúveis totais (CST) de 0,60, 0,55, 0,58, 0,60, 0,59, 0,65 e 0,61 mg de CST. g⁻¹ MS, respectivamente, enquanto para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores foram de 0,75, 0,77, 0,77, 0,75, 0,75, 0,77 e 0,74 mg de CST.g⁻¹ MS, respectivamente, representando um aumento de CST de 25%, 40%, 32%, 25%, 27%, 18% e 21%, respectivamente, comparada as progênies submetidas aos tratamentos controles (Figura 17A).

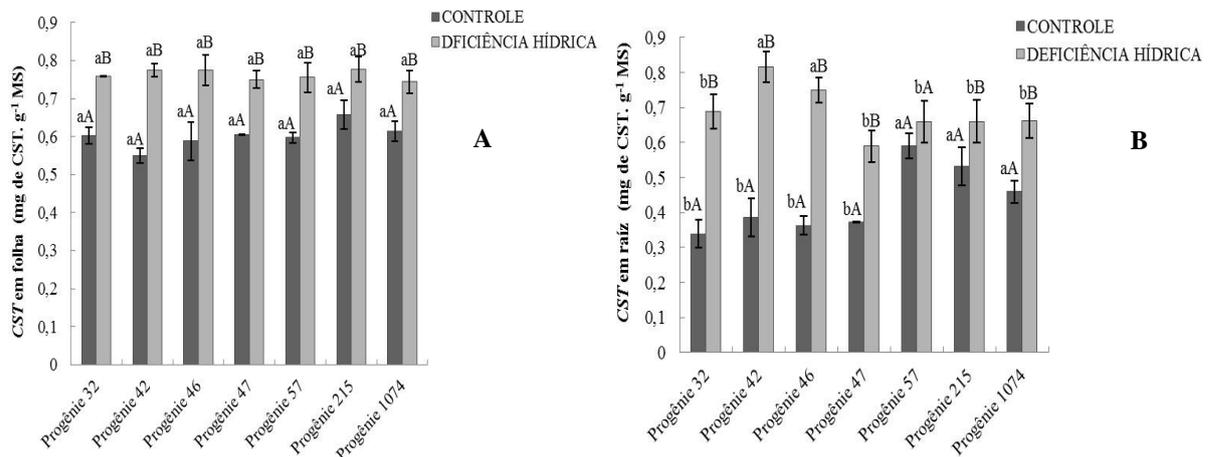
Em tecido radicular, foi encontrada diferença significativa para interação dos fatores no teor de carboidrato, para as progênies 32, 42, 46, 47, 215 e 1074 submetidas à irrigação, no qual os valores foram de 0,33, 0,38, 0,36, 0,37, 0,53 e 0,45 mg de CST. g⁻¹MS, respectivamente, Enquanto que para as plantas submetidas à deficiência hídricas os valores corresponderam a 0,68, 0,81, 0,74, 0,58, 0,65 e 0,66 mg de CST. g⁻¹ MS, respectivamente, ou seja, um aumento de 106%, 113%, 105%, 56%, 22% e 46% quando comparada as plantas controle. No entanto, para a progênie 57 não foi encontrado diferença estatística entre os tratamentos (Figura 17B).

O aumento da concentração de carboidratos solúveis totais, em progênies de cupuaçuzeiro submetidas à deficiência hídrica pode ter ocorrido em função da desidratação do tecido celular, e conseqüentemente, os teores de carboidratos tornam-se elevado em consequência da degradação do amido. Além disso, a queda da taxa fotossintética pode promover a neutralização do crescimento celular, restringindo a síntese do carboidrato para exportação, proporcionando o acúmulo desse metabolito nos tecidos vegetais. No entanto, o acúmulo de CST também pode ocorrer em resposta à ação da enzima amilase, que atua degradando o amido em carboidratos. O aumento do teor de CST em progênies de *Theobroma grandiflorum* sob deficiência hídrica, possivelmente está relacionado à resposta da planta a perda de água, por meio do ajustamento osmótico, este por sua vez, facilita a manutenção da abertura estomática e a atividade do aparelho fotossintético, permitindo que este opere em condições de baixa concentração do potencial hídrico (HAYAT et al., 2012).

A degradação da sacarose também pode contribuir para o acúmulo de CST em plantas em condição de seca, através da ação da enzima invertase que libera hexose que serão utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos, proporcionando o acúmulo de carboidratos

no tecido vegetal, quando não utilizado no referido processo (CHAVES FILHO & STACCIARINI-SERAPHIN, 2001).

Figura 17 - Concentração de carboidratos solúveis totais (A – folhas; B – raízes) de progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênes na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.17 Concentração de amido

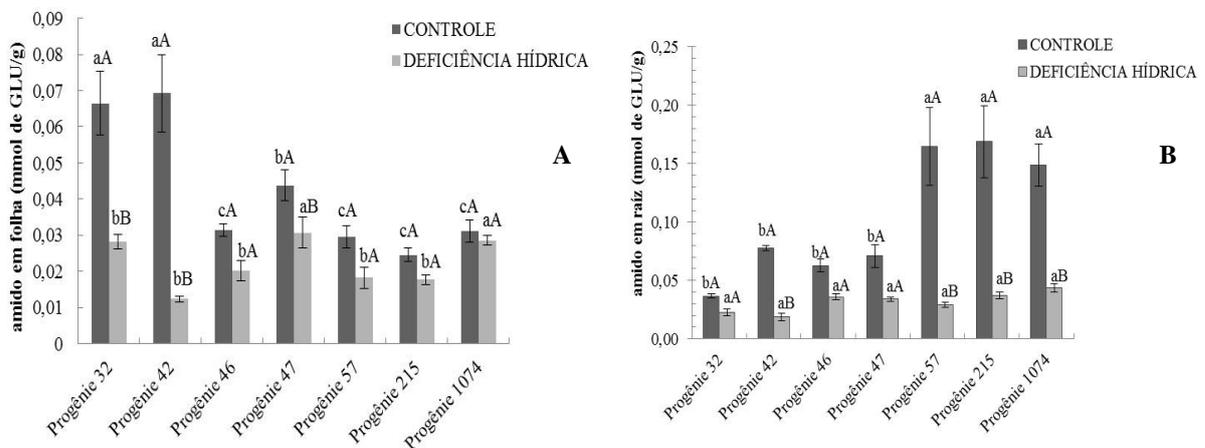
Foi verificada através da análise de variância referente à concentração de amido em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum* diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos. Na folha, foi encontrada redução no teor de amido nas progênes 32, 42 e 47 submetidas à irrigação, com valores de 0,06, 0,06 e 0,04 mmol de GLU/g, respectivamente. Já para as plantas submetidas à deficiência hídrica às médias foram de 0,02, 0,01 e 0,03 mmol de GLU/g, respectivamente, ou seja, uma redução de 67 %, 83 % e 25 % quando comparada com as plantas submetidas às plantas controles. No entanto, para as progênes 46, 57, 215 e 1074 não foi encontrado diferenças estatísticas entre os tratamentos (Figura 18A).

Para as raízes, também foi encontrado redução significativa no teor de amido. A concentração desse carboidrato nas progênes 42, 57, 215 e 1074 sob tratamento controle foram de 0,07, 0,16, 0,16 e 0,14 mmol de GLU/g, respectivamente, enquanto que para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores foram de 0,01, 0,02, 0,03 e 0,04 mmol de GLU/g, respectivamente, ou seja, uma redução de 86%, 88%, 81% e 71%, respectivamente, quando comparado às plantas submetidas aos tratamentos controle. Já para as progênes 32, 46 e 47, não foi notado diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos (Figura 18B).

A redução do teor de amido em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum* na condição de deficiência hídrica talvez tenha ocorrido devido à diminuição da fotossíntese e aumento da degradação do amido, através da ação das enzimas α e β amilase, originando novos carboidratos, promovendo o ajustamento osmótico nas células vegetais (FREITAS, 2014). Para Pinheiro et al. (2005), plantas em condição de deficiência hídrica, geralmente promovem hidrólise ou quebra do amido para elevar os teores de açúcares solúveis. Já Belo (2015), afirma que a diminuição do teor de amido em tecido vegetal em planta exposta à deficiência hídrica, pode estar relacionada à mobilização de açúcares para a produção de sacarose.

Enquanto, Melo et al. (2007), afirmam que a diminuição do amido em plantas sujeitas à seca está associado ao consumo destes açúcares para conservação e sobrevivência da planta. Esse mesmo comportamento foi observado por Grisi (2008) e Paula et al. (2013), ao estudarem plantas expostas a restrição hídrica.

Figura 18 - Concentração de amido (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.18 Concentração de sacarose

De acordo com a análise de variância, observou-se que houve diferença significativa em folhas e raízes de *Theobroma grandiflorum*, para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos. Na folha, foi encontrada diferença significativa para interação dos tratamentos, para as progênies 42, 46 e 1074, com valores médios de 6,6, 5,7 e 7,1 mg de sacarose/g MS nas plantas submetidas ao tratamento controles, respectivamente, enquanto,

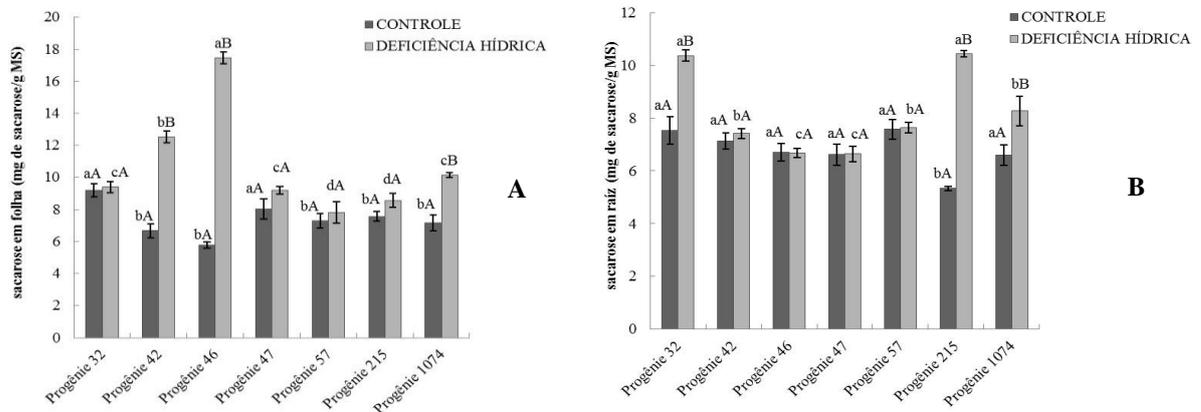
para as plantas contidas à deficiência hídricas os valores foram de 12,5, 17,4 e 10,1 mg de sacarose/g MS, respectivamente, ou seja, houve um incremento no teor de sacarose de 89%, 205% e 42,2%, respectivamente, comparada as plantas controle. No entanto, para as progênes 32, 47, 57 e 215 não foi encontrado diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos (Figura 19A).

Para a raiz de *Theobroma grandiflorum*, foi observada diferença significativa no teor de sacarose para as progênes 32, 215 e 1074 com valores referentes de 7,5, 5,3 e 6,5 mg de sacarose/g MS, respectivamente, nas plantas submetidas ao tratamento controle, enquanto para as plantas sob deficiência hídrica, a concentração de sacarose foi de 10,3, 10,4 e 8,2 mg de sacarose/g MS, respectivamente, ou seja, houve um aumento na concentração de sacarose de 32%, 96% e 26,1%, respectivamente, em relação às plantas submetidas aos tratamentos controles. Para as progênes 42, 46, 47 e 57 não foi encontrado diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos (Figura 19B).

O aumento na concentração de sacarose em folhas e raízes de cupuaçuzeiro pode ter ocorrido em função da redução do crescimento vegetal e conseqüentemente diminuir a exportação dos assimilados para os tecidos. No entanto, outro processo envolvido para o acúmulo de açúcar em plantas em condição de deficiência, pode estar associado à redução da fotossíntese e a quebra do amido através da enzima α e β -amilase em açúcares. Para Lee et al (2008), o acúmulo de carboidratos como a sacarose em plantas em condição de deficiência hídrica ocorre em função da hidrólise de amido.

Outro fator considerado responsável pelo aumento da concentração de sacarose, em plantas submetidas à deficiência hídrica seria o aumento da biossíntese de sacarose e outras substâncias iônicas, através da ação da enzima fosfato sintase que age na célula fotossintética situada no citosol, tornando várias enzimas inativas, com o papel de resguardar a integridade da membrana e proteínas em condição de estresse hídrico (LIU et al., 2011).

Figura 19 - Concentração de sacarose (A – folhas; B – raízes) de progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.19 Concentração de açúcares redutores

Considerando a análise de variância observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) na folha para a interação dos fatores dos tratamentos hídricos, para as progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 sob irrigação, apresentaram teores de 2,4, 2,5, 2,4, 2,4, 2,6, 2,6 e 2,3 mmol g MF^{-1} , respectivamente. No entanto, para as plantas submetidas à deficiência hídrica as médias variaram de 3,5, 3,4, 3,1, 3,4, 3,3, 3,6 e 2,9 mmol g MF^{-1} , respectivamente, representando aumento de açúcar redutor de 33%, 36%, 29%, 41%, 26%, 38% e 26%, respectivamente, comparada as progênies submetidas aos tratamentos controles (Figura 20A).

Na raiz de *Theobroma grandiflorum* (Figura 20B), também foi encontrado redução significativa ($p < 0,05$) para interação dos tratamentos nos teores de açúcares redutores, para as progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 e 1074 com valores de 2,7, 2,7, 2,0, 2,1, 3,1, 2,3 e 2,2 mmol g MF^{-1} , respectivamente, para as plantas submetidas à irrigação. Porém, para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores foram de 5,8, 5,2, 4,6, 4,2, 3,6, 2,9, e 3,2 mmol g MF^{-1} , respectivamente, ou seja, um aumento equivalente a 114%, 92%, 130%, 100%, 16%, 26% e 45% desses açúcares, quando comparada às plantas submetidas aos tratamentos controles.

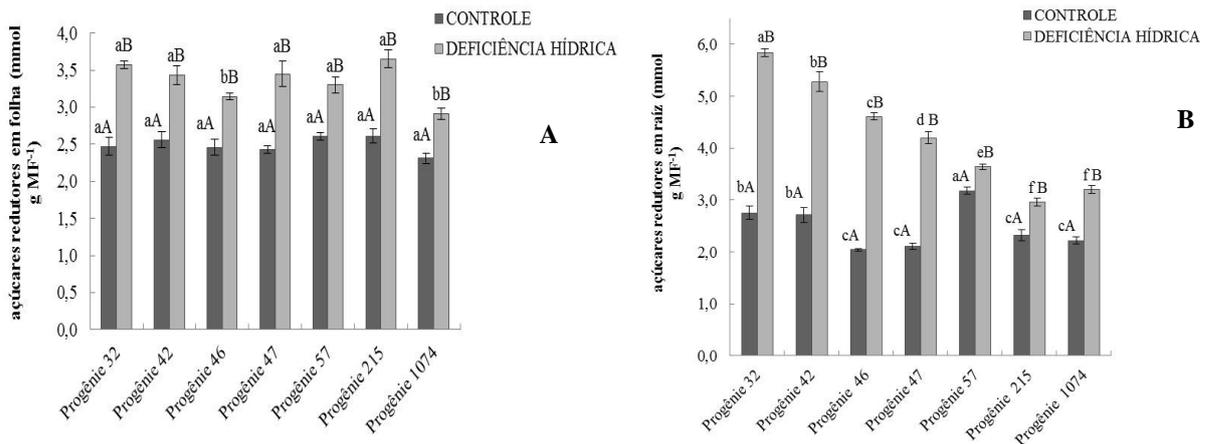
O acúmulo de açúcares em plantas expostas a deficiência hídrica pode ocorrer em decorrência da liberação de hexoses, oriunda da hidrólise da sacarose, em função da ação da enzima invertases, que pode disponibilizar monossacarídeo para os processos anabólicos ou

catabólicos, além de fornecerem açúcares redutores para o ajustamento osmótico (MELO, 2008).

Marur (1998) relata que o estresse hídrico promove ajustamento osmótico em função do acúmulo de solutos no simplasto, proporcionando um aumento no teor de carboidratos redutores, esse fator está associado à redução do potencial hídrico. O acúmulo de hexoses pode contribuir para o ajustamento osmótico, evitando maiores danos celular associado à desidratação celular (VALLIYODAN & NGUYEN, 2006).

O aumento da quantidade de açúcares redutores, em plantas submetidas à deficiência hídrica também pode ser explicada pela à degradação do amido nos tecidos que o acumulam em virtude da atividade da amilase (CHAVES FILHO et al., 2001).

Figura 20 - Concentrações de açúcares redutores (A – folhas; B – raízes) em progênies de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênies na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.20 Concentração de açúcares não redutores

De acordo com análise de variância houve diferença significativa ($p < 0,05$) para a interação dos fatores, em tecidos foliares e radicular, de progênies de *Theobroma grandiflorum* submetido à restrição hídrica. Na folha, foi encontrada redução significativo para interação dos fatores nos teores de açúcares não redutores (ANR), para as progênies 32, 42, 46, 47, 57 e 1074, com valores correspondendo a 0,35, 0,30, 0,34, 0,33, 0,33 e 0,38 mg g⁻¹ MS, respectivamente, nas plantas submetidas aos tratamentos controles. Para as plantas submetidas à deficiência hídrica os valores alternaram de 0,40, 0,43, 0,46, 0,40, 0,42, 0,46 mg

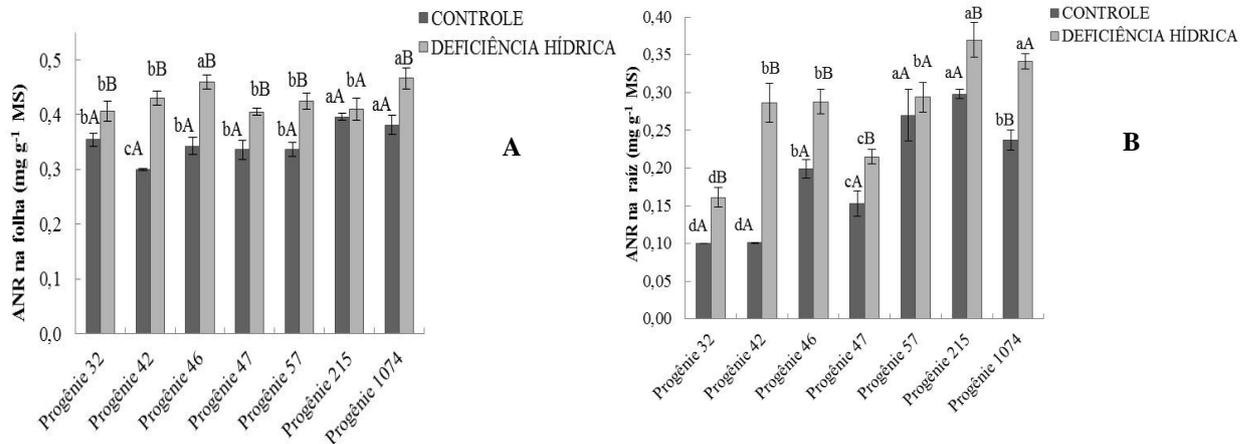
g⁻¹ MS, respectivamente, ou seja, um aumento significativo na concentração de ANR de 14%, 43%, 35%, 21%, 27% e 21%, respectivamente, quando comparada às plantas submetidas aos tratamentos controles. No entanto, para a progênie 215 não foi observado diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos (Figuras 21A).

Para as raízes de mudas de *Theobroma grandiflorum*, também foi observado redução significativa nos teores de ANR nas progênies 32, 42, 46, 47, 215 e 1074, com valores de 0,1, 0,1, 0,19, 0,15, 0,29 e 0,23 mg g⁻¹ MS, respectivamente, nas plantas submetidas à irrigação. Nas plantas sob deficiência hídrica, a concentração de açúcares não redutores foram de 0,16, 0,28, 0,28, 0,21, 0,37 e 0,34 mg g⁻¹ MS, respectivamente, representando um aumento na concentração desses açúcares de 60%, 180%, 47%, 40%, 27% e 47%, respectivamente, em relação às plantas submetidas aos tratamentos controles. Entretanto, não foi observada diferença estatística entre os tratamentos hídricos para as progênies 57 (Figura 21B).

O aumento da concentração de açúcares não redutores, em progênies de cupuaçuzeiro pode estar relacionado ao acúmulo de carboidratos em tecidos foliares e radiculares, tais acontecimentos é fruto das evidências do ajuste osmótico nas células das folhas e raízes, como estratégia para manter a turgescência celular, e assim garantir o andamento dos processos metabólicos nas plantas.

O ajuste osmótico é um processo que pode ocorrer no vacúolo ou citosol, com objetivo de conservar o balanceamento hídrico, resguardando a integridade celular para a continuidade das atividades vitais da planta. Este processo constitui um efeito adaptativo vegetal em virtude dos múltiplos efeitos causado pela deficiência hídrica (SILVA, 2013). O aumento da concentração de ANR em progênies de cupuaçuzeiro sugere que estas espécies apresentam mecanismo de ajuste osmótico, como forma de tolerar a deficiência hídrica, adaptando-a a sobrevivência sob esta condição (CHAVES FILHO & STACCIARINI, 2001).

Figura 21 - Concentração de açúcares não redutores (A – folhas; B – raízes) em progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênes na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das médias.

2.3.21 - Pigmentos fotossintéticos

De acordo com análise de variância o conteúdo de clorofilas *a* (Chl *a*), *b* (Chl *b*), clorofila total (Chl *total*), carotenoides e antocianina, em progênes de cupuaçuzeiro submetidas á deficiência hídrica, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para interação dos fatores entre os tratamentos hídricos.

O teor de clorofilas *a* para as progênes 32, 42, 47, 57, 215 e 1074 sob controle foram de 15,7, 14,5, 20,7, 14,5, 15,0 e 12,4 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, porém para as plantas submetidas à deficiência hídrica as médias equivaleram a 10,8, 9,8, 12,3, 6,3, 7,4 e 8,7 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, o que representou um decréscimo significativo nesse pigmento de 31%, 32%, 40%, 56%, 50% e 29%, respectivamente, quando comparado às progênes submetidas aos tratamentos controles. No entanto, para planta 46 não houve diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 22A).

Quanto ao teor de clorofilas *b* para as progênes 46, 57, 215 e 1074 sob controle, indicaram resultados de 4,8, 7,1, 6,1 e 12,4 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, entretanto, para as progênes submetidas à restrição hídrica os valores foram de 3,6, 4,3, 4,3 e 8,7 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, correspondendo a uma diminuição significativa de Chl *b* de 25%, 39%, 29% e 29 %, respectivamente, quando comparada as progênes controle. Para às progênes 32, 42 e 47 não houve diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 22B).

Para a clorofila total as progênies 32, 42, 47, 57, 215 e 1074 sob controle apresentaram médias de 21,9, 20,7, 25,9, 21,1, 21,8 e 23,1 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, no entanto, para as progênies sem irrigação as médias foram de 15,7, 15,9, 18,6, 12,3, 11,8 e 16,7 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, refletindo uma redução de clorofila total de 28%, 23%, 28%, 41%, 45% e 27%, respectivamente, em relação às plantas submetidas aos controles. Não houve diferença estatística para a progênie 46 entre os tratamentos hídricos (Figura 22 C).

Para os carotenoides as progênies 32, 47, 57 e 215 submetidas aos tratamentos controle apresentaram os valores médios que variaram de 3,8, 4,4, 2,6 e 3,6 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, contudo para as plantas sob deficiência hídrica os valores corresponderam a 2,4, 2,6, 1,7 e 2,2 mmol kg⁻¹ MF, respectivamente, o que representou uma diminuição desse pigmento em 39,4%, 29%, 34,6% e 42,1%, respectivamente, em relação às plantas submetidas aos tratamentos controles. Nas progênies 42, 46 e 1074 não foi observado diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 22 D).

Para as concentrações de antocianinas, as progênies 32, 42, 57 e 1074 em condição de hidratação foram encontradas valores de 0,016, 0,014, 0,017 e 0,034 mg /100g MF, respectivamente, enquanto para as progênies submetidas à deficiência hídrica os valores foram de 0,010, 0,007, 0,002 e 0,006 mg /100 g MF, respectivamente, o que representou uma diminuição nos teores desses pigmentos de 37%, 50%, 80% e 80%, respectivamente, em relação às plantas submetidas aos tratamentos controles. No entanto, as progênies 46, 47 e 215 não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos hídricos (Figura 22E).

A redução dos teores de pigmentos fotossintetizantes em progênies de Cupuaçuzeiro submetidas à deficiência hídrica, possivelmente está relacionada à exposição das clorofilas a agente de degradação como às espécies reativas de oxigênio (EROs). A diminuição nas concentrações de clorofilas, em plantas submetidas à deficiência hídrica pode estar associada ao processo fotooxidativos ou modificações na organização dos fotossistemas, de forma auxiliar como mecanismo fotoprotetor para os cloroplastos (ELVIRA et al., 1998; OTTANDER et al., 1995).

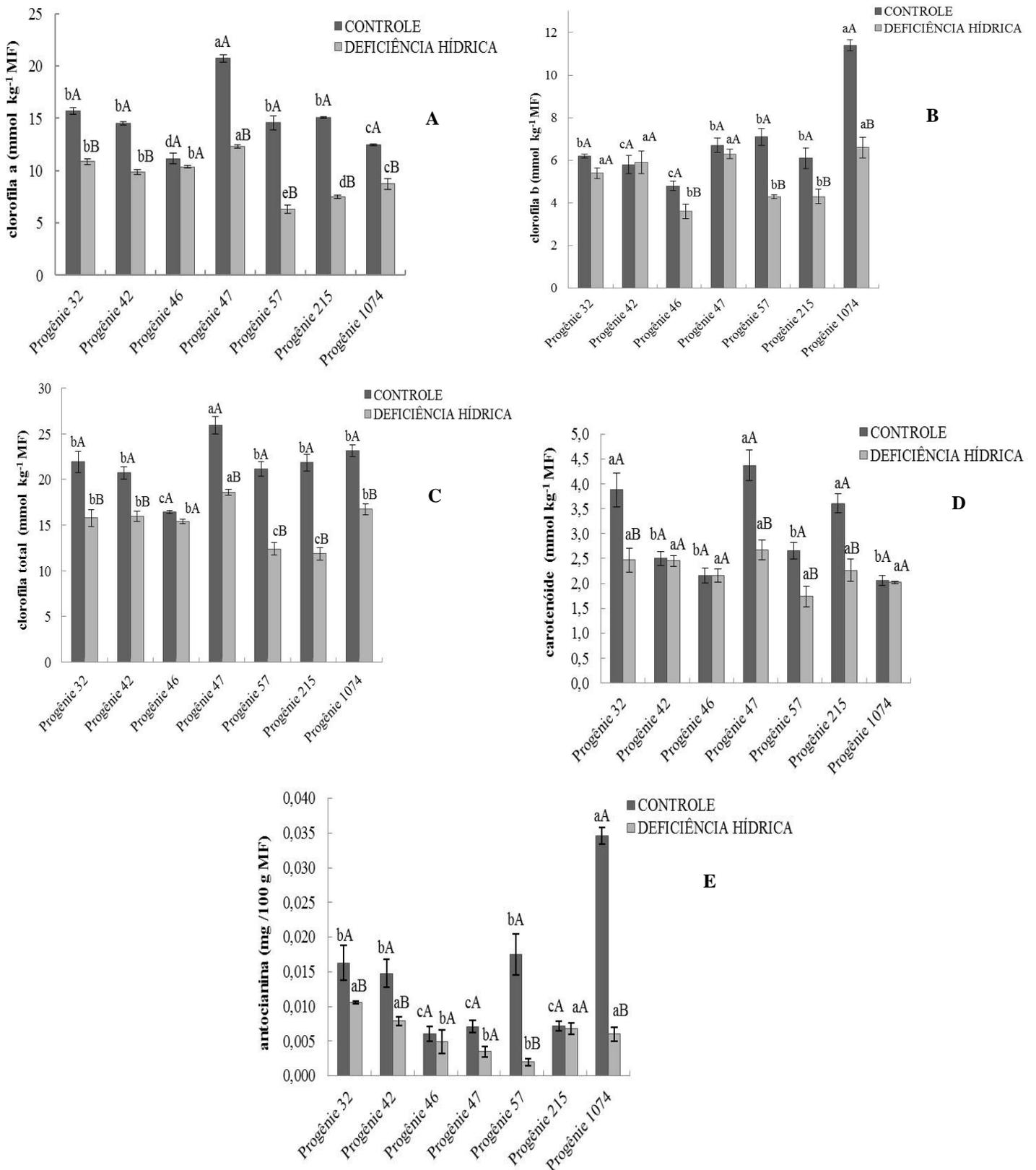
A deficiência hídrica promove a perda de pigmentos fotossintetizante nas folhas vegetais, através de modificações no metabolismo da planta, promovendo a elevação de espécies reativas de oxigênio (ERO's), originando danos nas membranas, desencadeados por processos oxidativos de lipídios e perda de eletrólitos pela célula (LISAR et al., 2012),

refletindo diretamente no aparelho fotossintético com reflexos negativo nos teores de pigmentos como clorofilas *a*, *b* e carotenoides (PAIXÃO et al., 2014).

A deterioração dos pigmentos fotossintéticos é reflexo do fluxo de elétrons nos fotossistemas, correlacionado com as diminuições significativas na taxa fotossintéticas líquida e concentração de carbono, resultando no aumento da produção de O_2^- e H_2O_2 nos cloroplastos (JALEEL et al., 2009), promovendo a peroxidação de lipídios e degradação dos pigmentos clorofilianos sob restrição hídrica (OLIVEIRA NETO, 2010).

Para Santos (2013), a planta em condição de deficiência hídrica promove modificações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do fotossistema e provavelmente incide na desestabilização da reação do FSII ou redução na capacidade fotossintética.

Figura 22- Concentração de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofilas Totais (C), carotenóides (D) e antocianina (E) em progênes de *Theobroma grandiflorum*, submetidas à deficiência hídrica e a irrigação.



Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$), entre as progênes na mesma condição hídrica, e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. As barras indicam erros padrões das

2.4 Conclusão

As progênies 32, 42, 46, 47, 57 e 215 foram as mais adaptadas aos 16 dias de restrição hídrica, considerando às respostas ecofisiológicas e bioquímicas.

A suspensão hídrica de 16 dias alterou o metabolismo bioquímico e fisiológico das progênies de *Theobroma grandiflorum*, promovendo redução nas concentrações de nitrato, amido, atividade da redutase do nitrato e nas variáveis relacionada às trocas gasosas com exceção da *EIUA*. No entanto, a deficiência hídrica também promoveu aumento nas concentrações de amônio, aminoácidos, proteínas, prolina, glicina, carboidratos, sacarose e açúcares redutores e não redutores.

O período de 16 dias de suspensão hídrica afetou negativamente às variáveis ecofisiológicas. No entanto, as progênies 32, 42, 47, 215 foram as mais tolerantes à deficiência hídrica considerando as respostas das trocas gasosas.

As progênies 32, 42, 46, 47, 57, 215 foram as mais tolerantes à deficiência hídrica em relação ao metabolismo do nitrogênio.

Todas as progênies sob deficiência hídrica apresentaram aumento na concentração das variáveis relacionada ao metabolismo do carbono. Sugerindo que o acúmulo desses osmólitos esteja relacionado às funções de osmoproteção.

Novos estudos são necessários visando detalhar o comportamento enzimático, molecular, genético e de crescimento das progênies em condições de campo, com o propósito de avaliar o desempenho destas em condições não controladas.

REFERÊNCIAS

- ALFAIA, S. S.; AYRES. M. I. C. Efeito de doses de nitrogênio, fósforo e potássio em duas cultivares de cupuaçu, com e sem sementes, na região da Amazônia central. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 320-325, Agosto, 2004.
- ALVES, G. A. R.; SANTOS FILHO, B. G.; LOBATO, A. K. S.; YUEN TAN, D. K.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C.L.; ÁVILA, F.W.; MARQUES, D.J.; GALATE, R.S. Water relations, nitrogen compounds and enzyme activities in leaf and root of young Yellow Lapacho (*Tabebuia serratifolia*) plants subjected to flooding. **Plant Omics**, v. 5, n. 3, p. 216-222, 2012.
- ALVES, R. M. **Implantação de um pomar de cupuaçuzeiro com a cultivar BRS Carimbó**. Brasília, DF: Embrapa, Belém, 40 p. il. Color. 2012.
- ALVES, R. M.; FERREIRA, F.N. **BRS Carimbó - a nova cultivar de cupuaçuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental**. Belém, PA. Embrapa Amazônia Oriental. (Comunicado Técnico 232), 2012. 8p.
- ALVES, R.M.; RESENDE, M.D.V. Avaliação genética de indivíduos e progênies de cupuaçuzeiro no estado do Pará e estimativas de parâmetros genéticos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.696-701, 2008.
- ALVES, R.M. **Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex. Spreng.) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. Piracicaba: ESALQ, 2002. 146p. Il. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ARAÚJO, S. A. C. Revisão, Fotoinibição da Fotossíntese, **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.
- ASHRAF M.; AKRAM N.A.; AL-QURAINY F.; FOOLAD M. R. **Drought Tolerance: Roles of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients**, In: Donald L. Sparks, *Advances in Agronomy*, Burlington: Academic Press, 2011, v.111, p. 249-296. Cap. 5.
- 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.; HARIS, P.J. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.
- ATAIDE, W. L. S. **mecanismos fisiológicos, bioquímicos, antioxidantes e crescimento em mudas de *Tachigali vulgaris* L.G. Silva & H.C. Lima submetidas à deficiência hídrica**. 2016. f 104. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2016.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207, 1973.

BELO, E. D. S.; NETO, A. P. C.; STEIN, V. C.; SILVA, S. M. G. Impact of drought and flooding stresses on Gabiroba plants. **Revistas de Ciências Agrárias**, v. 58, n. 4, p. 379-387, outubro/dezembro, 2015.

BEZERRA, B. K. L. **Adubação com silício e tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar**. 2015. 60 f. Dissertação (mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2015.

BOHNERT, H. J.; JENSEN, R. G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**. v. 14, p. 89-97, 1996.

BOX, G.E.P. Non-normality and tests on variances. **Biometrika**, v.40, p.318-335, 1953.

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

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science, Oxford**, v.2, n.2, p. 48-54, Feb, 1997.

BRITO, L.K.F.L.; SILVEIRA, J.A.G.; LIMA, L. L.F.; TIMÓTEO, A. R. S.; CHAGAS, R. M.; MARCEDO, C. E. C. alterações no perfil de frações nitrogenadas em calos de cana-de-açúcar induzidas por déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.6, p.683-690, 2008.

CAMPBELL, W. H. Structure and function of eukaryotic NAD(P)H: nitrate reductase. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v.58, n.2, p.194-204, 2001.

CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.9, p.1106-1113, 2009.

CARMO-SILVA, A. E. C.; GORE, M. A.; ANDRARE-SANCHES, P.; FRENCH, A. N.; HUNSAKER, D. J.; SALVUCCI, M. E. Decreased CO₂ availability and inactivation of Rubisco limit photosynthesis in cotton plants under heat and drought stress in the field. **Environmental and Experimental Botany**, v.8, p. 1–11, 2012.

CASCARDO, J. C. M., Oliveira, L. E. M., & ALVES, J. D. Açúcares e compostos nitrogenados orgânicos na seringueira cultivada em solos com diferentes doses de gesso agrícola sob dois regimes hídricos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.5, n.1, p. 31–34, 1993.

CASTRO, D. S.; LOBATO, A. K. da S.; MENDES, F. da S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; CUNHA, R. L. M.; COSTA, R. C. L. Atividade da redutase do nitrato em folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f) sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. 936-938, 2008.

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

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

CATUCHI, T. A.; GUIDORIZZI, F. V. C.; GUIDORIZZI, K. A.; BARBOSA, A. M.; SOUZA, G. M.; Respostas fisiológicas de cultivares de soja adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária**, Brasília, v.47, n.4, p.519-527, 2012.

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

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annal of Botany**. v.103, p.551–560, 2009.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 407, p. 2365-2384, 2004.

CHENG, C. L.; ACEDO, G. N.; CRISTINSIN, M.; CONKLING, M. A. Sucrose mimics the light induction of Arabidopsis nitrate reductase gene transcription. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 89, p.1861–1864, 1992.

CIA, M.C.; GUIMARÃES, A. C. R.; MEDICI, L. O.; CHABREGAS, S. M.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and – sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, Malden, v.161, p.313-324, 2012.

COLL, J. B.; RODRIGO, G. N.; GARCÍA, B. S.; TAMÉS, R. S. **Fisiologia vegetal**. 9ª. ed. Madrid: Piramide, 568p. 2001.

CORDEIRO, Y. E. M. **Potencial de uso em recuperação de áreas degradadas: um estudo de três espécies nativas da Amazônia oriental sob dois regimes hídricos**. 2012. 88f. Tese (Doutorado em ciências agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2012.

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 2, p. 229-234. 2007.

CRAWFORD, N.M. Nitrate: Nutrient and Signal for Plant Growth. **The Plant Cell**, v. 7, p. 859-868, 1995.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. N. York, Columbia Univ. Press, 1981, 1262 p.

DaMATTA, F. M. Exploring drought tolerance in coffee: a physiological approach with some insights for plant breeding. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.16, n.1. p.16, 2004.

DAMATTA, F.M.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S.; REGAZZI, A. J. Water relations of coffee leaves (*Coffea arabica* and *C. canephora*) in response to drought. **Journal of Horticultural Science**, v 68, p. 741-746, 1993.

DAMOUR, G.; VANDAME, M.; URBAN, L. Long-term drought results in a reversible decline in photosynthetic capacity in mango leaves, not just a decrease in stomatal conductance. **Tree physiology**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 675-84, 2009.

DE PAULA, M. T.; DOS SANTOS FILHO, B. G.; CORDEIRO, Y. E. M.; CONDE, R. A.; DAS NEVES, P. A. P. F.G. Ecofisiologia do Mogno Brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em sistemas agroflorestais no município de Santa Bárbara/PA. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia. v.9, n.16, p.813, 2013.

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

DĞADELEN, N.; BAŞAL, H.; YILMAZ, E.; GÜRBÜZ, T.; AkÇAY, S. Different drip irrigation regimes affect cotton yield, water use efficiency and fiber quality in western Turkey. **agricultural water management**, v. 96, p.111–120, 2009.

DUBOIS, M.; GILES, K. A.; HAMILTON, J. K.; ROBERS, P. A.; SMITHANAL, F.; CHEM. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

ELVIRA, S.; ALONSO R.; CASTILLO, F.J.; GIMENO, B.S. On the response of pigments and antioxidants of *Pinus halepensis* seedlings to Mediterranean climatic factors and long-term ozone exposure. **New Phytologist**, v. 138, p. 419–432, 1998.

FAHN, A. **Plant Anatomy**. 3^a ed. Pergamon Press. 544p, 1982.

FARHAD, M. S.; BABAK, A. M.; REZA, Z. M.; HASSAN, R. M.; AFSHIN, T. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v.5, p.55-60, 2011.

FERNANDES, J. R. Q.; **efeito da restrição hídrica no comportamento de progênies de cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum]**. 2016. 53f. (Trabalho de conclusão de Curso) - Universidade Federal Rural da Amazônia, 2016.

FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; OLIVEIRA, L. E. M. DE. PURCINO, A. A. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, v.89, p.183-189, 2002.

FREITAS, J. M. N. **Comportamento ecofisiológico e bioquímico de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas à deficiência hídrica.** 2014. f.102. Tese (Doutorado) Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2014.

GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; GUIMARÃES, D. G. Photosynthesis and water potential of andiroba seedlings submitted to water stress and rewetting. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 44, p. 8–14, 2009.

GRAÇA, J. P.; RODRIGUES, F. A.; FARIAS, J. R. B.; de OLIVEIRA, M. C. N.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ZINGARETTI, S. M. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 22, p.189-197, 2010.

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

GRISI, F. A.; ALVES, J. D.; CASTRO, E. M. de OLIVEIRA, C. de BIAGIOTTI, G.; MELO, L. A. de. Avaliações anatômicas foliares em mudas de café ‘catuaí’ e ‘siriema submetidas ao estresse hídrico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.6, p.1730-1736, Novembro, 2008.

GUHA, A.; SENGUPTA, D.; RASINENI, G. K.; REDDY A. R. An integrated diagnostic approach to understand drought tolerance in mulberry (*Morus indica* L.). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v.205, n.2, p. 144-151, 2010.

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

HAMDY, A.; RAGAB, R.; SCARASCIA-MUGNOZZA, E. Coping with water scarcity: water saving and increasing water productivity. **Irrigation and Drainage**, v. 52, p. 3–20, 2003.

HANSON, A. D.; HITZ, W.D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. **Annual Review of Plant Physiology**, v.33, p.163-203, 1982.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Role of proline under changing environments: **A review Plant Signaling e Behavior**, Austin, v.7, n.11, p. 1456-1466, 2012.

HEMAPRABHA, G.; SWAPNA, S.; LAVANYA, D. L.; SAJTHA, B.; VENKATARAMANA, S. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum sp.* hybrids). **Sugar Tech**, Nova Délhi, v.15, n1, p 9-16, 2013.

HODGE, J. E.; HOFREITER, B. T. Determination of reducing sugars and carbohydrates. **In: WHISTLER, J. E.; WOLFROM, M. L. (Ed.). Methods in carbohydrate chemistry.** New York: Academic Press, v. 1, p. 380-394, 1962.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P. A.; WAHID, M.; FAROOQ, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics

and pigments composition. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 11, p. 100-105, 2009.

JONES, H. G.; CORLETT, J. E. Current topics in drought physiology. **Journal of Agricultural Science**, v. 119, p. 291–296, 1992.

JONES, H. G.; SERRAJ, R.; LOVEYS, R.; XIONG, L.; WHEATON, A.; PREÇO, A. H. Imagem térmica infravermelha de copas para o diagnóstico remoto e quantificação de respostas de plantas ao estresse hídrico no campo. **Functional Plant Biology**, v.36, p.978-989, 2009.

KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431p.

KINGSTON- SMITH, A. H.; WALKER, R. P.; POLLOCK, C. J. Invertase in leaves: conundrum or control point. **Journal of experimental Botany**. v. 50, p. 735-743, 1999.

KISHOR, P. B. K.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; LAXMI, P. S.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**. v.88, p.424-438, 2005.

KIST, B. B.; VENCATO, A. Z. ; SANTOS, C.; CARVALHO, C.; REETZ, E. R.; POLL, H.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**. Santa Cruz do Sul, p. 128, 2012.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**. v. 25, p. 275–294, 2002.

LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany**, London, v.103, p.561-579, 2009.

LECHINOSKI, A. L.; FREITAS, J. M. N.; CASTRO, D. S.; LOBATO, A. K. da S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; CUNHA, R. L. M.; COSTA, R. C. L. Influência do estresse hídrico nos teores de proteínas e aminoácidos solúveis totais em folhas de Teca (*Tectona grandis L. f.*). **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p.927-929, 2007.

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

LIMA, E. G. S. **Respostas ecofisiológicas e bioquímicas em folhas de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) sob três regimes hídricos e suspensão dos estresses**. 2015. 40f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2015.

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

- LIU, C.; LIU, Y.; GUO, K.; FAN, D.; LI, G.; ZHENG, Y.; YU, L.; YANG, R. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six Woody plant species in karst habitats of southwestern China. **Environmental and experimental botany**, v.71, p.174-183, 2011.
- LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto. v.45, p.633-662, 1994.
- LUÍS, R. B. **Respostas de *Jatropha curcas* L. ao déficit hídrico. Caracterização bioquímica e ecofisiológica.** 2009. 61f. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa. 2009.
- MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 12, p. 1161- 1170, 2005.
- MANSOUR, M. M. F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. **Biologia Plantarum**, v.43, p.491-500, 2000.
- MANSUR, R. J.; NOGUEIRA, C.; CARVALHO, de A. B. D. Comportamento fisiológico em plantas jovens de quatro espécies lenhosas da caatinga submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. **Phyton**, v. 68, p. 97-106, 2000.
- MARANVILLE, J. E.; PAULSEN, G.M. Alteration of carbohydrate composition of corn (*Zea mays* L.) seedlings during moisture stress. **Agronomy Journal**, v.62, p.605-608, 1970.
- MARTINEZ, J. P.; LUTTS, S.; SCHANCK, A.; BAJJI, M., KINET, J. M. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1041-1051, 2004.
- MARUR, C. J. Fotossíntese e translocação de carboidratos em algodoeiros submetidos a déficit hídrico após a aplicação de cloreto de mepiquat. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 10, n. 1, p. 59-64, 1998.
- MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira ‘Valência’ sob deficiência hídrica. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.11, p.29-34, 1999.
- MELO, E. F. **Modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas em cafeeira progênie siriema sob deficiência hídrica.** 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; SOARES, A. M.; MELO, L. A.; ALVES, J. D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**. v. 34, n. 2, p.145-153, 3 tab, 2007.
- MORAIS, H.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P. H.; RIBEIRO, A. M. A; GOMES, J. C. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 38, n. 10, p. 35-40, 2003.

- MORGAN, J. M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review Plant Physiology**, v. 35, p. 289-319, 1984.
- MORGAN, J.M. Adaptation to water deficits in three grain legume species. Mechanisms of turgor maintenance. **Field Crops Research**, v. 29, p.91-106, 1991.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.
- NASCIMENTO, H. H. C do. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos em mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), sob condições adversas**. 2013. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) Federal Rural de Pernambuco Recife, 2013.
- NECHET, D. Análise da precipitação em Belém-PA, de 1986 a 1991. **Boletim de Geografia teor.** n. 23, p.150-156, 1993.
- NEUMANN, P. M. Coping mechanisms for crop plants in drought-prone environments. **Annal of Botany**, v. 101, p. 901–907, 2008.
- NOBRE, C. A.; SAMPAIO, G.; SALAZAR, L. Mudanças climáticas e Amazônia. **Ciência e Cultura**, v.59 p. 22-27. 2007.
- NOGUEIRA, D. T. S.; SILVA, M. L.; DOMBROSKI, J. L. D.; PINTO, J. R. S.; FREITAS, R. M. O. ; FARIAS, R. M. Potencial hídrico foliar de três espécies da caatinga. **X Congresso de Ecologia do Brasil**. São Lourenço – MG, 16 a 22 de Setembro de 2011.
- NOGUEIRA, G. A. S. **Respostas ecofisiológicas e bioquímicas de plantas jovens de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam) Urb. submetidas à deficiência hídrica e alagamento**. 2015. 67 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural da Amazônia Belém, 2015.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** v. 13, n. 1: p.75-87, 2000.
- NOGUEIRA, R. J. M.C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; NETO, E.B. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relação hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p.66-74, 2001.
- OBIDIEGWU, J. E.; BRYAN, G. J.; JONES, H. G.; PRASHAR, A. Coping with drought: stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. **Frontiers Plant Science**. v. 6, p.542, 2015.
- OLIVEIRA NETO, C. F. **Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento**. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2010.

OLIVEIRA, D. A. S. **Respostas Ecofisiológicas e morfoanatômicas de Licuri e Macaúba sob condições de campo.** 2014. 53 F. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife/PE, 2014.

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

OLIVEIRA, L. J.; SILVA, S. M.; NETTO, A. P. C.; SILVA, S. M.; SILVA, F. M. S. M. Características agrônômicas e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Campomanesia sp.* sob estresse hídrico, **Revista Agrarian**, v. 4, p. 43-53. 2011.

OTIENO DO, SCHMIDT MWT, ADIKU S, TENHUNEN J. Physiological and morphological responses to water stress in two *Acacia* species from contrasting habitats. **Tree Physiol.**, v. 25, p.361-371. 2005

OTTANDER, C.; CAMPBELL, D.; OQUIST, G. Seasonal changes in photosystem II organization and pigment composition in *Pinus Sylvestris*. **Planta**, v.197, p. 176-183. 1995

PAGTER, M.; BRAGATO, G.; BRIX, H. Tolerance and physiological responses of *Phragmites australis* to water deficit. **Aquatic Botany**, v.81, p.285-299, 2005.

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

PARENTE, V. de M. (Coord.). Cupuaçu. [Rio de Janeiro]: Fundação Getúlio Vargas; Manaus: Suframa. **Projeto potencialidades regionais estudo de viabilidade econômica.** p.62 2003.

PAULA, M. T.; SANTOS FILHO, B. G.; CORDEIRO, Y. E. M.; CONDE, R.A.; NEVES, P. A. P. F. Ecofisiologia do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em sistemas agroflorestais no município de Santa Bárbara-PA. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v.9, p. 16, 2013.

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

PEIXOTO, C. P.; CERQUEIRA, E. C.; SOARES, FILHO. W. S.; CASTRO NETO, M. T.; LEDO, C. A. S.; MATOS, F. S.; OLIVEIRA, J. G. Growth analysis of different citrus genotypes cultivated under water deficit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 439-443, 2006.

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.

PINCELLI, R. P. **Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas.** 2010. 65f. Dissertação (Mestrado em

Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mequita Filho", Botucatu. 2010.

PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 1, p. 101-108, 2005.

PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. 1926.

QUEIROZ, R.J.B. **Resposta fisiológica e molecular de dois genótipos de milho à limitação hídrica**. 2010. 167p. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, 2010.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: **Instituto Agrônômico**, p. 285, 2001.

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

RINNER, K. T.; SAURER, M.; STREIT, K.; SIEGWOLF, R. T. W. Evaluation of a liquid chromatography method for compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ analysis of plant carbohydrates in alkaline media. **Rapid Commun Mass Spectrom**, n. 26, p. 2173-2185, 2012.

ROCHA, M. A. M. **respostas morfológicas e fisiológicas de espécies lenhosas sob estresse hídrico, em solo com e sem adição de matéria orgânica**. 2014. 84f. Dissertação (Dissertação em Agronomia) Universidade Federal do Ceará – UFC, FORTALEZA- CE. 2014.

SAGRI. A fruticultura no Estado do Pará. Disponível em: http://www.sagri.pa.gov.br/files/pdfs/SEB_Cartilha_Frutal_18x21cm_OUT11_FINAL.pdf. Acesso em: 11 de Novembro de 2016.

SALES, C. R. G.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, R. S.; DOVIS, V. L.; LAGÔA, A. M. M. A. Trocas gasosas e balanço de carboidratos em plantas de cana-de-açúcar sob condições de estresses radiculares. **Bragantia**, v.71, p.319-327, 2012.

SANDA, S.; YOSHIDA, K.; KUWANO, M.; KAWAMURA, T.; MUNEKAGE, Y.N.; AKASHI, K.; YOKOTA, A. Responses of the photosynthetic electron transport system to excess light energy caused by water deficit in wild watermelon. **Physiol. Plant**. v.142, p. 247-264, 2011.

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

SANTOS, C. M. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da cana-de-açúcar sob estresses induzidos por deficiência hídrica e Paraquat**. 2013. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- Unesp, Campus Botucatu. SP. 2013.

SANTOS, F. C. B. dos. **Produção de mudas de cupuaçuzeiro em diferentes tipos e tamanhos de recipientes, substratos e arranjos**. 2008. 92f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Federal do Acre (UFA), Rio Branco-Acre, 2008.

SANTOS, F. S.; LIMA, G. P. P.; MORGADO, L. B. Tolerância e caracterização bioquímica em feijão - Caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. **Naturalia**, v.33, p.34-44, 2010.

SANTOS, H. R. B. **Abordagem multivariada de características fisiológicas foliares de cana-de-açúcar sob estresse**. 2015. 71f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa/Mg- 2015.

SANTOS, R. R.; ALMEIDA, A. A. da S.; ALMEIDA, J. C. R. Atividade da redutase do nitrato em mudas de açaizeiro adubadas com nitrogênio e potássio. **Revista biociência**, v.18, p.13-17, 2012.

SANTOS, V. S.; FILHO, S. M.; ALVES, R. M.; MELO, G. F. Abordagem bayesiana na comparação de substratos em mudas de cupuaçuzeiro. **Sigmae, Alfenas**, v. 2, n. 3, p. 107-114, 2013.

SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. M.; AND KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia Lam.*). **Ciências Florestais**, v. 21: p. 657-665, 2011.

SENGUPTA, D.; KANNAN, M.; REDDY, A. R. A root proteomics-based insight reveals dynamic regulation of root proteins under progressive drought stress and recovery in *Vigna radiata (L.) Wilczek*. **Planta**. v. 233, p.1111–1127, 2011.

SHANER, D.L.; BOYER, J.S. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays L.*) leaves. I. Regulation by nitrate flux. **Plant Physiology**, Maryland, v.58, p.499-504, 1976.

SHAPIRO, S. S. & WILK, M.B. An Analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52 p. 591- 411, 1965.

SHEN, X.; ZHOU, Y.; DUAN, L.; LI, Z.; ENEJI, A. E.; LI J. Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. **Journal of Plant Physiology**, v.167, n.15, p. 1248-1252, 2010.

SILVA, A. L. C; COSTA, W. A. J. M. Varietal variation in stomatal conductance, transpiration and photosynthesis of commercial sugarcane varieties under two contrasting water regimes. **Tropical Agricultural Research & Extension**, Kamburupitiya, v.12, n.2, p. 91-96, 2009.

- SILVA, E. C. A. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e enzimáticas em mudas de *Moringa oleifera* Lam submetidas a estresses abióticos.** 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, RECIFE. 2013.
- SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; NETO, A. D. A.; BRITO, J. Z.; CABRAL, E. L. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. **Série Botânica**, v. 59, n. 2, p. 201-205, 2004.
- SILVA, L. D. **Alterações Fisiológicas e Bioquímicas em genótipos de *Jatropha curcas* L. submetidos ao déficit hídrico.** 2013. 66f. dissertação (Dissertação de Mestrado) Universidade Estadual de Santa Cruz, fevereiro de 2013.
- SILVA, P. P.; SOARES, L.; COSTA, J. G.; VIANA, L. S.; ANDRADE, J. C. F.; GONÇALVES, E. R.; SANTOS, J. M; BARBOSA, G. V. S.; NASCIMENTO, V. X.; TODARO, A. R.; RIFFEL, A.; GROSSI-DE-AS, M. F.; BARBOSA, M. H. P.; SANT'ANA, A. E. G.; AND RAMALHO, NETO. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crop and Products**. v.37, p. 11-19, 2012.
- SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, v.81, p.337– 354, 2002.
- SOARES, C. Q. G. **Efeito do estresse hídrico na expressão de proteínas em duas variedades de soja contrastantes para o conteúdo de óleo e proteína.** 2013. 128f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de viçosa. MG, 2013.
- SOREN, K. R.; ALI, K.; TYAGI, V.; TYAGI, A. Recent advances in molecular breeding of drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.), **Indian Journal of Biotechnology**, New Delhi, v.9, p.233-251, 2010.
- SOUNIGO, O.; LACHENAUD, P.; BASTIDE, P.; CILAS, C.; N'GORAN, J.; LANAUD, C. Assessment of the value of doubled haploids as progenitors in cocoa (*Theobroma cacao* L.) breeding. **Journal of applied genetics**, v. 44, n. 3, 2003.
- SOUZA, A. M. S. **Estresse hídrico e expressão de genes no início de crescimento de algodoeiro naturalmente coloridos.** 2014. 75f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual da Paraíba/ Campinas Grande/PB, 2014.
- SOUZA, A. G. C.; RESENDE, M. D. V.; SILVA, S. E. L.; SOUZA, N. R. The cupuaçuzeiro genetic improvement program at Embrapa Amazônia Ocidental. **Crop Breeding And Applied Biotechnology**, Londrina, v.2, n.3, p.471-478, 2002.
- SOUZA, A. G. C.; SILVA, S. E. L.; TAVARES, A.M.; RODRIGUES, M. R. L. A cultura do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.). Manaus, p. 39, 1999, (EMBRAPA – CPAA. **Circular Técnica**, n. 2).
- SOUZA, V. F. D. **Estudo de rede para compreender as respostas fotossintéticas de cafeeiros em condições de deficiência hídrica.** 2012. 57f. .Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de lavras. Lavras/MG. 2012.

9STOCKER, T. F. D.; QIN, G. K.; PLATTNER, M.; TIGNOR, S. K.; ALLEN, J.; BOSCHUNG, A.; NAUELS, Y.; XIA, V.; BEX, AND P.M.; MIDGLEY, E.D.S. IPCC,: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 1535 pp, Cambridge Univ. Press, Cambridge, U. K. and New York. 2013

SUASSUNA, J. F. **tolerância de genótipos de citros ao estresse hídrico na fase de formação de porta-enxerto**. Campina Grande. 2011. p.96, Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em engenharia agrícola, área de concentração irrigação e drenagem, Unversidade Federal de Campina Grande, 2011.

SUBBARAO, G. V.; NAM, N. H.; CHAUHAN, Y. S.; JOHANSEN, C. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water stress. **Journal of Plant Physiology**, v.157, n.6, p.651-659, 2000.

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

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

ULISSES, E. A. dos. **Respostas morfofisiológicas de genótipos de cana-de-açúcar e cana energia sob diferentes regimes hídricos na fase inicial de crescimento**. 2016. 93f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo- AL. 2016.

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

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, p. 189-195, 2006.

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

VENTURIERI, G. A; ALVES, M. L. B.; NOGUEIRA, M.Q. O Cultivo do cupuaçuzeiro. **Informativo da Sociedade Brasileira de Fruticultura**, Campinas, v.4, n.1, p.15-17, 1985.

VILELA, R. D. **Alterações fisiológicas e bioquímicas de duas variedades de cana-de-açúcar sob estresse hídrico**. 2011. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2011.

VINCENTZ, M.; MOUREAUX, T.; LEYDECKER, M.T.; VAUCHERET, H.; CABOCHE, M. Regulation of nitrate and nitrite reductase expression in *Nicotiana plumbaginifolia* leaves by nitrogen and carbon metabolites. **Plant Journal**, v. 3 p.315-324,1993.

VITAL, C. E. **Estudo dos mecanismos fisiológicos e moleculares em cultivares de cana-de-açúcar contrastantes quanto à resposta ao déficit hídrico** Tese. 2014. 120f. Tese (Doutorado em Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

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

WU, F. Z.; BAO, W. K.; LI, F. L.; WU, N. Effects of water stress and nitrogen supply on leaf gas exchange and fluorescence parameters of *Sophora davidii* seedlings. **Photosynthetica**, v. 46, n.1, p. 40-48. 2008.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. *Plant Signaling & Behavior*, Bonn, v. 5, n. 6, p. 649-654, 2010.

ZANETTI, L. V.; MILANEZ, C. R. D.; GAMA, V. N. AGUILAR, M.A.; SOUZA, C. A. S.; CAMPOSTRINI, E.; FERRAZ, T. M.; FIGUEIREDO, F. A. M. M.; Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water deficit. **Pesq. agropec. Bras**, Brasília, v.51, n.3, p.215-223, abr. 2016.

ZHOU, W.; SUN Q.; ZHANG, C.; YUAN, Y.; ZHANG, J.; LU, B. Effect of salt stress on ammonium assimilation enzymes of the roots of rice (*Oryza sativa*) cultivars differing in salinity resistance. **Acta Botanica Sinica**, v. 46, n. 08, p. 921-927, 2004.