



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

Embrapa  
Amazônia Oriental

JOZE MELISA NUNES DE FREITAS

COMPORTAMENTO ECOFISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PLANTAS JOVENS  
DE ACAPÚ (*Vouacapoua americana* Aubl.) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA  
HÍDRICA

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

Orientador: Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa  
Co-orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto

BELÉM  
2014

Freitas, Joze Melisa Nunes de

Comportamento ecofisiológico e bioquímico de plantas jovens de acapú  
(*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas à deficiência hídrica / por Joze Melisa  
Nunes de Freitas. – Belém, PA : Universidade Federal Rural da Amazônia ;  
Embrapa Amazônia Oriental, 2014.

100 f. il.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da  
Amazônia, Belém, 2014.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa; Co-orientador: Prof. Dr.  
Cândido Ferreira de Oliveira Neto

1. Essência florestal. 2. Essência florestal – Aspectos ecofisiológicos.  
3. Essência florestal – seca. 4. Bioquímica. 5. Água. I. Título.

CDD 634.95 21 ed.

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

JOZE MELISA NUNES DE FREITAS

COMPORTAMENTO ECOFISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE PLANTAS  
JOVENS DE ACAPÚ (*Vouacapoua americana* Aubl.) SUBMETIDAS À  
DEFICIÊNCIA HÍDRICA

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

Aprovada em 07 de fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa

Orientador

Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto

Co-orientador

Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA Capitão-Poço

Prof. Dr. Joaquim Albenílio Gomes da Silveira – 1º Examinador

Universidade Federal do Ceará - UFC

Dr. Roberto Lisboa Cunha – 2º Examinador

Universidade Federal Rural da Amazônia - EMBRAPA

Prof. Dr. Raimundo Lázaro Moraes da Cunha – 3º examinador

Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição – 4º Examinador

Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

**À DEUS, pelo dom da vida.**

**“Ninguém caminha sem aprender a caminhar, sem aprender a fazer o caminho caminhando, refazendo e retocando o sonho pelo qual se pôs a caminhar.”**

**Paulo Freire**

**DEDICO**

Aos meus pais, José Ferreira de Freitas e Maria Bernadete Nunes de Freitas, aos meus irmãos Jober Nunes de Freitas e Clinger José Nunes de Freitas e aos meus sobrinhos José F. de Freitas Neto e Francisco José N. de Freitas.

## **AGRADECIMENTOS**

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

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

Ao curso, aos coordenadores e aos professores do doutorado em ciências agrárias.

Ao Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa, pela orientação, pela sabedoria repassada desde o início da minha graduação, no mestrado e agora no doutorado, e pela amizade e paciência.

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

Ao Prof. Benedito Gomes Santos Filho, pelas críticas e sugestões importantíssimas dadas ao trabalho.

Ao Prof. Dr. Allan Klinger da Silva Lobato, pela grande ajuda e sugestões dadas no trabalho.

Aos Prof. Dr. Raimundo Lázaro Moraes da Cunha e Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição, e ao Dr. Roberto Lisboa Cunha, pelas críticas e sugestões valiosas ao trabalho.

Ao Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes da Silveira, da Universidade Federal do Ceará- UFC, que dispôs do seu tempo para participar da banca examinadora deste trabalho.

As pesquisadoras da Embrapa Amazônia Oriental, Sônia Maria Botelho pelas análises de solo, Noemi Vianna Martins Leão e Elizabeth Shimizu pelas mudas de acapu.

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

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

Aos funcionários da UFRA.

Ao grande amigo Roberto Borges Moreira Filho pela ajuda, pelos conselhos e pela força dada durante todo o curso.

Aos amigos e colegas de turma, em especial a Diocléa Almeida Silva Seabra, pelo companheirismo e amizade.

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

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

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>16</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>17</b>
<b>1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>23</b>
<b>2 CAPÍTULO 2- RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE PLANTAS JOVENS DE ACAPÚ (<i>Vouacapoua americana</i> Aubl.) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA .....</b>	<b>27</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>27</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>28</b>
<b>2.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
<b>2.2.1 Local e condução experimental.....</b>	<b>32</b>
<b>2.2.2 Delineamento experimental e análise estatística.....</b>	<b>33</b>
<b>2.2.3 Variáveis ambientais e biofísicas.....</b>	<b>33</b>
<b>2.2.4 Conteúdo relativo de água.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2.5 Trocas Gasosas.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.6 Determinações de ácido abscísico.....</b>	<b>35</b>
<b>2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3.1 Variáveis ambientais.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3.2 Potencial hídrico.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3.3 Conteúdo relativo de água(CRA).....</b>	<b>38</b>
<b>2.3.4 Fotossíntese.....</b>	<b>40</b>
<b>2.3.5 Condutância estomática.....</b>	<b>41</b>
<b>2.3.6 Transpiração.....</b>	<b>43</b>
<b>2.3.7 Concentrações de ácido abscísico.....</b>	<b>44</b>
<b>2.3.8 Massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total.....</b>	<b>46</b>
<b>2.4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
<b>APÊNDICE I.....</b>	<b>57</b>
<b>3 CAPÍTULO 3- RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE ACAPÚ (<i>Vouacapoua americana</i> Aubl.) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA.....</b>	<b>59</b>

<b>RESUMO.....</b>	<b>59</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>60</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>64</b>
<b>3.2.1 Local e condução experimental.....</b>	<b>64</b>
<b>3.2.2 Delineamento experimental e análise estatística.....</b>	<b>65</b>
<b>3.2.3 Coleta das plantas.....</b>	<b>65</b>
<b>3.2.4 Variáveis bioquímicas.....</b>	<b>65</b>
<b>3.2.4.1 Concentrações de nitrato.....</b>	<b>65</b>
<b>3.2.4.2 Concentrações de amônio livre.....</b>	<b>66</b>
<b>3.2.4.3 Atividade da glutamina sintetase.....</b>	<b>67</b>
<b>3.2.4.4 Carboidratos solúveis totais.....</b>	<b>67</b>
<b>3.2.4.5 concentrações de amido.....</b>	<b>68</b>
<b>3.2.4.6 Concentrações de sacarose.....</b>	<b>68</b>
<b>3.2.4.7 Glicina-betaína.....</b>	<b>69</b>
<b>3.2.4.8 Proteínas solúveis totais.....</b>	<b>69</b>
<b>3.2.4.9 Aminoácidos solúveis totais.....</b>	<b>70</b>
<b>3.2.4.10 Prolina.....</b>	<b>70</b>
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>70</b>
<b>3.3.1 Concentrações de nitrato.....</b>	<b>72</b>
<b>3.3.2 Concentrações de amônio livre.....</b>	<b>74</b>
<b>3.3.3 Atividade da glutamina sintetase.....</b>	<b>76</b>
<b>3.3.4 Concentrações de amido.....</b>	<b>78</b>
<b>3.3.5 Carboidratos solúveis totais.....</b>	<b>80</b>
<b>3.3.6 Concentrações de sacarose.....</b>	<b>82</b>
<b>3.3.7 Glicina-betaína.....</b>	<b>84</b>
<b>3.3.8 Proteínas solúveis totais.....</b>	<b>86</b>
<b>3.3.9 Aminoácidos solúveis totais.....</b>	<b>88</b>
<b>3.3.10 Prolina.....</b>	<b>90</b>
<b>3.4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>92</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICE II.....</b>	<b>99</b>

## LISTA DE FIGURAS

p.

*Voulocar na  
dissecação.*

**Figura 1** Potencial hídrico das folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

38

**Figura 2** Conteúdo relativo de água (CRA) em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

39

**Figura 3** Taxas de fotossíntese em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

41

**Figura 4** Condutância estomática em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

42

**Figura 5** Taxas de transpiração em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

44

**Figura 6** Concentrações de ácido abscísico (ABA) em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

45

**Figura 7** Concentrações de ácido abscísico (ABA) em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

46

**Figura 8** Massa seca da parte aérea (A), massa seca da raiz (B) e massa seca total (C) de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

48

**Figura 9** Concentrações de nitrato em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

73

**Figura 10** Concentrações de nitrato em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

73

**Figura 11** Concentrações de amônio livre em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

75

**Figura 12** Concentrações de amônio livre em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

75

**Figura 13** Atividade da glutamina sintetase em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de

déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

77

**Figura 14** Atividade da glutamina sintetase em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

77

**Figura 15** Concentrações de amido em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

79

**Figura 16** Concentrações de amido em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.....

79

**Figura 17** Concentrações de carboidratos solúveis totais em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de

probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

81

**Figura 18** Concentrações de carboidratos solúveis totais em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

81

**Figura 19** Concentração de sacarose em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

83

**Figura 20** Concentração de sacarose em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

83

**Figura 21** Concentrações de glicina-betaína em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes

hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

85

**Figura 22** Concentrações de glicina-betaína em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

85

**Figura 23** Concentrações de proteínas solúveis totais em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

87

**Figura 24** Concentrações de proteínas solúveis totais em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

87

**Figura 25** Concentração de aminoácidos solúveis totais em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

89

**Figura 26** Concentração de aminoácidos solúveis totais em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

89

**Figura 27** Concentrações de prolina em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

91

**Figura 28** Concentrações de prolina em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento.....

91

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** Variáveis fisiológicas. Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis fisiológicas. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento..... 58

**Tabela 2** Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST). Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis de massa seca. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento..... 58

**Tabela 3** Variáveis bioquímicas. Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis bioquímicas. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento..... 100

## LISTA DE SÍMBOLOS

- GOGAT- Glutamato sintase  
CRA- Conteúdo relativo de água  
MF- Massa fresca  
MS- Massa seca  
NNED- N-1-naftilelenodiamina dicloridrato  
ABA- Ácido abscísico  
GS- Glutamina sintetase  
GOGAT- Glutamato sintase  
N- Nitrogênio  
P- Fósforo  
K- Potássio  
MSPA- Massa seca da parte aérea  
MSR- Massa seca da raíz  
MST- Massa seca total  
AA- Aminoácidos
- colocar na  
disponível*

## RESUMO

Os mecanismos adaptativos das espécies florestais nativas tem gerado bastante interesse, já que o conhecimento desses comportamentos potencializa a utilização dessas espécies em áreas degradadas. O objetivo desse trabalho foi determinar alguns mecanismos ecofisiológicos e bioquímicos de tolerância ao estresse por deficiência hídrica, principalmente no que concerne à assimilação de carbono e nitrogênio, concentrações de compostos orgânicos, e enzimas, envolvidas nesse processo. O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de ciências agrárias (ICA), localizado em Belém- Pará, no período de janeiro de 2012 a julho de 2012. Foram utilizadas mudas de acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em fatorial do tipo 2 x 4 (duas condições hídricas: controle e déficit hídrico x quatro tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. A imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação nos tempos 1 (zero dias de déficit hídrico), o tempo 2 (10 dias de déficit hídrico), o tempo 3 (20 dias de déficit hídrico) e o tempo 4 (30 dias de déficit hídrico). Durante o período do experimento as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa às médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Além disso, foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa ASSISTAT Versão 7.7 beta. O potencial hídrico e o conteúdo relativo de água reduziram drasticamente conforme foi aumentando o tempo de estresse nas plantas. Os dados de fotossíntese, condutância estomática e transpiração apresentaram diminuição nas plantas mantidas sem irrigação, com o aumento do tempo de estresse hídrico, apresentando reduções mais pronunciadas no 20º e no 30º dia de estresse. A concentração de ABA aumentou expressivamente nas plantas submetidas à deficiência hídrica, tanto nas folhas, quanto nas raízes. As massas secas da parte aérea, da raiz e total diminuíram significativamente nas plantas sob déficit hídrico. O déficit hídrico induziu o aumento nas concentrações de amônio, sacarose, prolina e glicina betaina, assim como nos teores de aminoácidos solúveis totais, carboidratos solúveis totais, tanto nas folhas, quanto nas raízes. Por outro lado a suspensão hídrica provocou redução nas concentrações de nitrato, da glutamina sintetase, do amido, e das proteínas solúveis totais nos tecidos foliares e das raízes. Os indicadores bioquímicos e fisiológicos observados mostraram-se eficientes para avaliar o estado metabólico das plantas de acapú submetidas à deficiência hídrica. O acúmulo de prolina e glicina-betaina nos tecidos foliares resultantes da intensidade do déficit hídrico, não foram capazes de impedir a redução na produção de massa seca das plantas jovens de acapú.

**Palavras-chave:** Espécie florestal, déficit hídrico, respostas bioquímicas, aspectos ecofisiológicos

## ABSTRACT

The adaptive mechanisms of native species has generated considerable interest, since knowledge of these behaviors enhances the use of these species in degraded areas. The aim of this study was to elucidate some ecophysiological and biochemical mechanisms of stress tolerance to water deficiency shown by plants Acapu, especially with regard to the assimilation of nitrogen, concentrations of organic compounds, and enzymes. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia (UFRA) belonging to the Institute of Agricultural Sciences (ICA), located in Belém, Pará, from January 2012 to July 2012. Seedlings acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) were used. The experimental design was a completely randomized type 2 x 4 (two moisture conditions: control and drought x four stroke assessment), with 5 repetitions, totaling 40 experimental units, in which each experimental unit consisted of one plant / pot. The plants were subjected to two water regimes [irrigated (control) and drought], being that the water deficit was obtained by withholding water at Time 1 (zero days of drought), time 2 (10 days of drought), time 3 (20 days of drought) and time 4 (30 days drought). During the experimental period the control plants were irrigated daily to replace water lost by evapotranspiration. Analysis of variance was applied to the results and when there was a significant difference to the averages were compared by Tukey test at 5% significance level. Moreover, we calculated the standard deviations for each treatment, with statistical analyzes performed by ASSISTAT Version 7.7 beta program. The water potential and relative water content was reduced dramatically as increasing the time of stress in plants. The data of photosynthesis, stomatal conductance and transpiration showed decrease in stressed plants maintained with increasing time of water stress, with more pronounced reductions in the 20th and 30th day of stress. The concentration of ABA increased significantly in plants under water stress in both leaves and root rot. The dry mass of shoot, root and total decreased significantly in plants under water stress. Drought induced an increase in the concentrations of ammonium, sucrose, proline and glycine betaine, as well as in total soluble amino acids, soluble carbohydrates in both leaves and root rot, causing the lowering of the osmotic potential in the species. Drought induced an increase in the concentrations of ammonium, sucrose, proline and glycine betaine, as well as in total soluble amino acids, soluble carbohydrates in both leaves and root rot. On the other hand the lack of water caused a reduction in nitrate, glutamine synthetase, starch, and total soluble protein in the leaves and roots. The observed biochemical and physiological indicators were effective to evaluate the metabolic state of Acapu plants subjected to water deficit. The accumulation of proline and glycine betaine in leaf tissues resulting from the intensity of water deficit, were unable to prevent the reduction in dry matter production of young plants Acapu.

**Keywords:** Forest species, water deficit, biochemical responses, ecophysiological aspects

## CAPÍTULO 1- CONTEXTUALIZAÇÃO

*Vouacapoua americana* Aubl., denominada vulgarmente de acapú, pertence à família Fabaceae e a subfamília faboideae. Ocorre na região amazônica; no Brasil, principalmente nos estados do Pará e Amapá, na mata pluvial de terra firme, e também nas Guianas. Sua madeira tem grande importância econômica, sendo empregada principalmente na construção civil e naval. A sua casca é medicinal, com propriedade anti-séptica, sendo utilizada na forma de pomada. É considerada uma ótima espécie para reflorestamento de áreas degradadas (LORENZI, 2009).

De acordo com Nascimento et al., (2011) as espécies arbóreas brasileiras têm despertado o interesse de vários pesquisadores em demonstrar comportamentos adaptativos que potencializam sua utilização em áreas que não apresentam condições favoráveis para outras espécies, sendo de grande importância silvicultural e econômica.

Para Neiman (2012), estamos vivendo atualmente em uma época de grandes preocupações ecológicas, devido ao grande quadro de degradação ambiental no planeta. Apesar do Brasil ainda ter muitas áreas preservadas, segundo a FAO (Organização mundial para agricultura e alimentação), ele foi considerado o país que mais desmatou na década de 70 e 80, e ainda hoje possui o título de campeão mundial de desmatamentos.

Segundo os dados do Projeto de Monitoramento da Floresta Amazônica por Satélites (Prodes) e do Instituto Nacional de Pesquisa Espaciais (Inpe), no período de agosto de 2012 a julho de 2013 o desmatamento na Amazônia subiu 28%, sendo que a área desmatada foi de 5.843 quilômetros quadrados. Os estados que lideraram o ranking de desmatamento foram o Pará, com 2.379 quilômetros quadrados, e o Mato Grosso, com 1.149 quilômetros quadrados (AGÊNCIA BRASIL, 2013).

A retirada total ou parcial da cobertura florestal, bem como o uso inadequado dessas áreas, reduz a biodiversidade local e pode levar à degradação dos solos através do processo de erosão e empobrecimento do mesmo pela desagregação, remoção e deposição das partículas para outro lugar, chegando a condições extremas de desertificação (SÁ et al., 1994). Para Costa e Foley (2000), é possível que no futuro ocorra um aumento da frequência e da severidade das secas sazonais na Amazônia, caso os eventos do EL Niño sejam associados aos efeitos do aquecimento global e a redução da pluviosidade decorrente do desmatamento e das queimadas.

Segundo Carvalho e Nepstad (1997), existem regiões na Amazônia, como o Sudeste do Pará, em que ocorrem períodos de déficit hídrico severos, com períodos de mais de 4 meses apresentando pluviosidade inferior a 40mm. O clima da Amazônia é úmido, e quente quase o ano inteiro, com temperatura média de 25°C, pouco flutuante ao longo das estações (NEIMAN, 2012). De acordo com Jipp et al., (1998), florestas situadas no nordeste, sul e sudeste do estado do Pará, suportam em média 5 meses de precipitação abaixo de 50mm, fazendo frente as perdas médias de 120mm de evapotranspiração, devido ao fato de possuírem sistemas radiculares profundos, que asseguram a absorção de água das camadas inferiores do solo.

Devido o aumento da conscientização ambiental, e do interesse em pesquisas com espécies arbóreas nativas, tem-se dado mais importância à recuperação de áreas degradadas e/ou reflorestamento (CARNEIRO, 1995; JOSÉ, 2003; PAIVA, 2003). Porém, o custo dessas pesquisas torna-se elevado diante da necessidade de replantio decorrente dos altos índices de mortalidade das mudas. Na maioria dos casos, esse problema ocorre devido à falta de conhecimento dos aspectos ecofisiológicos das espécies e dos regimes hídricos, sujeitando-as a áreas propensas a estresses ambientais aos quais não estão adaptadas (CARVALHO FILHO et al., 2003).

A seleção de espécies para revegetação de áreas degradadas é a primeira etapa do reflorestamento. Essas áreas, em função dos desequilíbrios e das condições adversas de clima e solo, oferecem um ambiente impróprio ao crescimento das espécies, uma vez que elas estão em um ambiente natural alterado. Podem-se enumerar as altas temperaturas, as altas radiações, o déficit hídrico, a ausência de matéria orgânica, a degradação das propriedades físicas e químicas do solo, estas, na maioria das vezes implicando em carência nutricional para o desenvolvimento das espécies. O uso de espécies adaptadas a ambientes degradados e utilização de insumos, como adubos, pode levar ao êxito a atividade de reflorestamento em áreas degradadas (FERREIRA et al., 2006).

A água é o meio básico de vida e de energia para os seres vivos, muitos nutrientes inorgânicos necessários para muitos organismos, como as plantas, estão dissolvidos na água. O solo é o principal armazenador e fornecedor de água para as plantas, as raízes absorvem água que se aglutina às partículas do solo. Mais próximo à superfície das partículas do solo, existe uma força de atração chamada de potencial de água do solo, que adere mais fortemente a água as partículas do solo (RICKLEFS, 2012).

A distribuição dos vegetais na superfície terrestre depende mais da disponibilidade de água, que de qualquer outro fator ambiental (TURNER, 1986). Em meio aquoso ocorre a

difusão de minerais, solutos celulares e gases, tanto na célula, quanto entre órgãos. A relativa alta permeabilidade da maioria das paredes e membranas celulares resulta numa fase contínua para a difusão e translocação de solutos na planta. A água é também um importante reagente ou substrato para reações celulares imprescindíveis para todo o tipo de vida conhecida, como por exemplo, a fotólise da água, que é o processo inicial da fotossíntese. Ela é também a fonte do oxigênio molecular existente na atmosfera, que é produzido na fotossíntese, assim como do hidrogênio para reduzir o CO<sub>2</sub> a carboidrato (PIMENTEL, 2004).

A deficiência hídrica no solo limita intensamente o crescimento e o desenvolvimento das espécies vegetais em várias regiões do mundo e, particularmente, nas regiões nordeste e norte do Brasil, onde a distribuição dos recursos hídricos é irregular, essa limitação pode tornar necessário o uso da irrigação regularmente, uma prática dispendiosa e inacessível aos reflorestadores. Uma estratégia utilizada é o desenvolvimento de variedades vegetais tolerantes a seca através do melhoramento genético. Entretanto, qualquer que seja a opção, torna-se necessário conhecer os mecanismos fisiológicos e bioquímicos de resposta da espécie a esse tipo de estresse. O crescimento celular se mostra como a resposta mais sensível a falta de água no solo. Uma pequena redução no potencial hídrico do solo provoca diminuição no crescimento das células (SALISBURY; ROSS, 2012).

Quando se inicia o estresse hídrico na planta, ocorre uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas, que atuam como um mecanismo de defesa do vegetal, como diminuição da fotossíntese e da transpiração, redução da área foliar, aumento nas concentrações de ABA e prolina, entre outros. Em períodos longos de estresse, a planta pode parar de crescer e até morrer. Plantas jovens que ainda não possuem sistema radicular profundo tendem a ter mais dificuldades para sobreviver a um período de seca.

De acordo com Nogueira et al., (2005) a deficiência hídrica afeta todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo influenciar no alongamento e na diferenciação celular em função da redução na turgescência da célula, o que resulta na diminuição da área foliar, afetando a produção e a translocação de fotoassimilados para as novas áreas de crescimento (LUDLOW; MUCHOW, 1990; CARVALHO, 2005; LARCHER, 2006). O estresse hídrico tem como resposta final, a redução na produção e alocação de matéria seca por influenciar as trocas gasosas nas folhas (NOGUEIRA et al., 1998, SILVA; NOGUEIRA, 2003).

A tolerância ao déficit hídrico é uma característica muito importante em qualquer cultivo, principalmente de plantas nativas onde o processo de seleção natural ainda se encontra em andamento. A falta de água no solo constitui uma das mais importantes

limitações à produtividade e a distribuição dos vegetais, apresentando influência negativa em mais de 10% das áreas agrícolas do globo terrestre (BARTELS; SUNKAR, 2005). Além da diminuição da expansão celular (TAIZ; ZEIGER, 2013), vários processos fisiológicos, entre eles a síntese de aminoácidos, são amplamente alterados (SILVEIRA et al., 2002; SODEK, 2004; MARIN et al., 2006).

Uma função importante da água é a manutenção da turgescência celular, que é essencial para o aumento do volume celular e crescimento do vegetal, abertura dos estômatos e movimentos de folhas e flores (KRAMER; BOYER, 1995). A falta de um suprimento adequado de água no solo, diminui o Conteúdo relativo de água nos tecidos foliares, essa diminuição no CRA causa o fechamento estomático, afeta o fotossíntese, altera a integridade das membranas e causa a diminuição da atividade das enzimas envolvidas nas reações fotossintéticas (PIMENTEL, 2004). A falta de água no solo também afeta a síntese de proteínas, a atividade de algumas enzimas, como a nitrato redutase (SALISBURY; ROSS, 2012).

A fotossíntese, processo pelo qual a energia luminosa possibilita a redução do carbono, é essencialmente o reverso do metabolismo oxidativo dos carboidratos. Os carboidratos produzidos pela fotossíntese, portanto, servem como fonte de energia para o organismo que as produz, sendo de extrema importância para as plantas (VOET et al., 2000).

Como mecanismo de defesa, em condições de déficit hídrico as plantas utilizam substâncias osmorreguladoras, como os carboidratos, a prolina, os aminoácidos livres totais, a glicina betaína e a sacarose, quem possuem a finalidade de manter a água por mais tempo dentro do tecido vegetal (MUCHOW; CARBERRY, 1993). *Importante.*

Segundo Salisbury e Ross (2012), em potenciais hídricos ligeiramente mais negativos, assim como, em altas salinidades, além de outros estresses ambientais, o aminoácido prolina aumenta bastante, a partir do ácido glutâmico, e provavelmente a partir dos carboidratos. Para Van Rensburg et al., (1993), a prolina interage com enzimas e outras proteínas preservando suas estruturas e atividades, além de atuar como ajustador osmótico e estabilizador de estruturas proteicas.

À medida que a planta sofre com o estresse hídrico, a concentração de ácido abscísico (ABA) começa a aumentar nitidamente, tanto nas folhas, como nas raízes e em outros tecidos da planta. Esse aumento na concentração de ABA induz o fechamento dos estômatos e reduz a transpiração, além de, inibir o crescimento do broto, conservando mais água, e em alguns casos promover o crescimento da raiz (SALISBURY; ROSS, 2012).

*colocar c na  
difusão da Cx (Gm 10)*

De acordo com Scalón et al., (2011), várias espécies arbóreas nativas possuem potencial para o cultivo, podendo servir para diversos fins quer seja pelo valor ornamental, madeireiro, alimentício ou de preservação. Portanto, a melhoria do sistema de produção de mudas de espécies arbóreas nativas é necessária devido ao aumento na procura por tais espécies para a produção comercial, assim como para a recuperação de áreas degradadas (NIETSCHÉ et al., 2004).

Os aspectos ecofisiológicos, fitossanitários, e nutricionais das plantas após o plantio são indicadores importantes durante o monitoramento de cada espécie plantada na área de reflorestamento, porque fornecem informações sobre a interação das plantas com seu meio ambiente. As análises desses dados permitem traçar estratégias de intervenções tais como, introdução de espécies de melhor adaptação e correção do solo (MENDES et al., 2007). IMPORTANTE

O objetivo desse trabalho foi determinar alterações ecofisiológicas e bioquímicas de tolerância ao estresse por deficiência hídrica, exibido por plantas jovens de acapú, principalmente no que concerne à assimilação de carbono e nitrogênio, e concentrações de compostos orgânicos. De posse desse conhecimento espera-se utilizar o acapú no reflorestamento de áreas degradadas de modo mais consciente, e que os resultados obtidos possam ser usados de modo mais consciente na utilização de outras espécies com potencial florestal.

O trabalho foi dividido em três capítulos. No primeiro foi feita uma contextualização abordando de maneira geral a espécie avaliada, os efeitos provocados pelo déficit hídrico quanto à ecofisiologia e bioquímica das plantas.

No segundo capítulo foram analisados os parâmetros de trocas gasosas, relacionados com a produção da biomassa, assim como o potencial hídrico, o conteúdo relativo de água e as concentrações de ABA nas folhas e nas raízes das plantas de acapú (*Vouacapoua americana*), em condições de déficit hídrico.

No terceiro capítulo foram avaliadas as respostas bioquímicas pelas determinações de nitrato, amônio livre, atividade da glutamina sintetase, amido, carboidratos solúveis totais, sacarose, glicina-betaína, proteínas solúveis totais, e prolina nas folhas e nas raízes das plantas jovens de acapú sob déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Brasil; <http://agenciabrasil.ebc.com.br/noticia/2013-11-14/desmatamento-na-amazonia-aumenta-28>. Acessado em 06/12/2013.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences, Boca Raton, v. 24, n.1, p.23-58, 2005.

CARNEIRO, J. G. A. Produção e controle de qualidade de mudas florestais. Curitiba: UFPR /FUPEF/Campos: UENF, 1995. p.451.

CARVALHO, C. J. R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* (*S. parahyba* var. *amazonicum*) e *Schizolobium parahyba* (*Schizolobium parahybum*) à deficiência hídrica. Revista Árvore, v.29, n.6, p.907-914, 2005.

CARVALHO, C. J. R.; NEPSTAD, D. C. Amazonian forests at the edge: canopy phenology, water use and flammability of seasonally-dry forests. VI congresso brasileiro de fisiologia vegetal. Belém- Pará: Sociedade brasileira de fisiologia vegetal. 71-85p. 1997.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. Cerne, v.9, n.1, p.109-118, 2003.

COSTA, M. H.; FOLEY, J. A. Combined effects of deforestation and doubled atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations on the climate of Amazônia. J. Clim. 13: 18-34. 2000.

FERREIRA R. G.; CRUZ A. A.; BROCKI E. ; MELO M. G. G.; Espécies arbóreas potenciais para a recuperação de áreas degradadas na base de operações geólogo Pedro de Moura, Coari - AM. 2006.

JIPP, P. H.; NEPSTAD, D. C.; CASSEL, D. K.; CARVALHO, C. J. R. Deep soil moisture storage and transpiration in forests and pastures of seasonally-dry Amazonia. Climate change 39: 395-412, 1998.

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

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. Water relations of plants and soils. Academic Press, New York, 1995.

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

LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, SP, vol. 2, 3 ed. 384p. 2009.

LUDLOW, M. M.; MUCHOW, R. C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited. Advances in Agronomy, v.43, p.107-153, 1990.

MARIN, A.; SANTOS, D.M.M.; DOS; BANZATTO, D.A.; CODOGNOTTO, L.M. Influencia da disponibilidade hidrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 41, n. 2, p. 355-358. 2006.

MENDES, M. A. C.; LEITE, G. A.; SILVA, J. P.; PASIN, L. A. A. P. Análise do estado fitossanitário e nutricional de espécies arbóreas utilizadas no reflorestamento de uma área degradada após extrativismo. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG.

MUCHOW, R. C.; CARBERRY, P. S. Designing improved plant types for the semi-arids tropics: Agronomist viewpoints. In: PENNING DE VRIES, F. W. T.; TENG, P.; METSELAAR, K. (Eds). Systems Approchs for agricultural Development. Dordrecht: Kluwer, p. 37-61, 1993.

NASCIMENTO, H. H. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C.; SILVA, M. A. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. Viçosa, Maio/junho. Revista árvore, vol. 35, n.3. 2011.

NEIMAN, Z. Era verde?; ecossistemas ameaçados. São Paulo. Ed. Atual. 23<sup>a</sup> edição. 103p. 2012.

NIETSCHE, S. et al. Tamanho da semente e substratos na germinação e crescimento inicial de mudas de cagaiteira. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1321-1325, nov./dez.2004.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2005. p.22-31.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; BARBOSA, D. C.A.; MORAES, J. A. P. V. Trocas gasosas e relações hídricas em plantas jovens envasadas de três espécies da caatinga, submetidas à deficiência de água. Phyton, v.62, n.1/2, p.37-46, 1998.

PAIVA, H. N.; VITAL, B. R. Escolha da espécie florestal. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 42p. (Cadernos Didáticos, 93)

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

PIMENTEL, C. A relação da planta com a água. Seropédica, RJ: Edur, 189 p. 2004.

ROCHA, E.J.P. Balanço de umidade e influência de condições de contorno superficiais sobre a precipitação da Amazônia. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos. 210p. 2001.

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

SÁ, I. B.; FOTIUS, G. A.; RICHÉ, G. R. Degradação ambiental e reabilitação natural no trópico semi-árido brasileiro. In: CONFERÊNCIA NACIONAL E SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO DA DESERTIFICAÇÃO, 1994, Fortaleza. Anais. Fortaleza, p. 260-27.

SALISBURY, F. B; ROSS, C. W. Fisiologia das plantas. Cengage learning. 4.ed, São Paulo. 774p. 2012.

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

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

SILVEIRA, J.A.G.; ROCHA, I.M.A.; VIEGAS, R.A. Metabolic responses of cowpea and cashew plants exposed to salt and water stress: new aspects on proline accumulation. 2002. Disponivel em: <[sbbq.iq.usp.br/arquivos/regional/2002/cdresumo/Palestras/016.pdf](http://sbbq.iq.usp.br/arquivos/regional/2002/cdresumo/Palestras/016.pdf)>. Acesso em: 20 abr. 2012.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p, 2013.

TURNER, N. C. Adaptation to water déficits: Changing perspective. Austr. J. Plant Physiology, 43: 175-190. 1986.

VAN RENSBURG, L.; KRUGER, G. H. J.; KRUGER, H. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum*. Journal of Plant Physiology, v. 141, p. 188- 194, 1993.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. Fundamentos de bioquímica. Artmed editora, Porto Alegre, 931 p, 2000.

## CAPÍTULO 2- RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE PLANTAS JOVENS DE ACAPÚ (*Vouacapoua americana* Aubl.) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

### RESUMO

A espécie *Vouacapoua americana* Aubl., conhecida vulgarmente como acapú, é uma espécie arbórea nativa da Amazônia, possui madeira de lei e tem grande importância econômica no mercado interno e externo, sendo também utilizada na recuperação de áreas degradadas. O objetivo desse estudo foi avaliar os aspectos ecofisiológicos, bem como a produção de massa seca e a concentração de ABA em plantas jovens de acapú submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA), localizado em Belém- Pará, no período de janeiro de 2012 a julho de 2012. As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos [irrigado (controle) e déficit hídrico], sendo que o déficit hídrico foi obtido pela suspensão da irrigação nos tempos 1 (zero dias de déficit hídrico), o tempo 2 (10 dias de déficit hídrico), o tempo 3 (20 dias de déficit hídrico) e o tempo 4 (30 dias de déficit hídrico). Durante o período do experimento as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. O potencial hídrico nas plantas estressadas reduziu para -2,86 MPa e o CRA para 52,79%, aos 30 dias de déficit hídrico. A taxa fotossintética, a condutância estomática, a taxa de transpiração, reduziram significativamente com aumento do tempo de estresse hídrico na planta, apresentando reduções mais pronunciadas no 2º e no 3º após a indução dos tratamentos. A concentração de ABA aumentou expressivamente nas plantas submetidas à deficiência hídrica, tanto nas folhas, quanto nas raízes. As massas secas da parte aérea, da raiz e total diminuíram, significativamente, nas plantas sob déficit hídrico. A suspensão da irrigação por 10 dias alterou o metabolismo das plantas jovens de acapú, aumentando a concentração de ABA tanto nas folhas, quanto nas raízes, e reduzindo os parâmetros de trocas gasosas, assim como o CRA, e a massa seca das plantas jovens de acapú.

**Palavras-chave:** ABA, condutância estomática, fotossíntese, massa seca

## CHAPTER 2 - ECOPHYSIOLOGICAL RESPONSES AND DRY MATTER PRODUCTION IN YOUNG ACAPU (*Vouacapoua americana* Aubl.) EXPOSED TO WATER DEFICIT

### ABSTRACT

The species *Vouacapoua americana* Aubl., commonly known as acapu, is a native Amazonian tree species, have a hardwood and has great economic importance in domestic and foreign markets, is also used in recovery degraded areas. The aim of this study was to evaluate the ecophysiological aspects as well as the production of dry mass and concentration of ABA in acapu young plants exposed to water deficit. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia (UFRA) belonging to the Institute of Agricultural Sciences (ICA), located in Belém, Pará, from January 2012 to July 2012. The plants were subjected to two water regimes [irrigated (control) and water deficit], being that the water deficit was obtained by withholding water at Time 1 (zero days of drought), time 2 (10 days of drought), time 3 (20 days of drought) and time 4 (30 days drought). During the experimental period the control plants were irrigated daily to replace water lost by evapotranspiration. The water potential in stressed plants decreased to -2,86 MPa and 52,79 % for CRA, to 30 days of water deficit. The photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration rate, decreased significantly with increased duration of water stress on the plant, with more pronounced reductions from the 20<sup>th</sup> to the 30<sup>th</sup> after induction treatments. The concentration of ABA increased significantly in plants under water stress in both leaves and root rot. The dry mass of shoot, root and total decreased significantly in plants under water stress. The withholding water for 10 days alter the metabolism of young plants acapu, increasing the concentration of ABA in both leaves and root rot, and reducing the gas exchange parameters as well as the CRA, and dry mass of young plants acapu .

**Keywords:** ABA, stomatal conductance, photosynthesis, dry matter

## 2.1- INTRODUÇÃO

O acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.) é uma árvore tropical, de grande porte, sua madeira é considerada de lei, e tem grande importância no mercado interno e externo (ARAGÃO; ALMEIDA, 1997; FORGET et al., 1999), sendo recomendada em programas de enriquecimento de florestas exploradas e na recuperação de áreas degradadas (POELS et al., 1998). É uma espécie com diversas indicações de uso, inclusive medicinal (ARAGÃO; ALMEIDA, 1997).

No Estado do Pará, a espécie *Vouacapoua americana* ocorre no município de Belém até Igarapé-Açu, em Anajás e Aramá (parte ocidental da Ilha do Marajó); na ilha de Nazaré e no Macujubim (ilhas altas de Breves). É frequente à margem da Estrada de Ferro Alcobaça (rio Tocantins); abundante nos rios Acará, Gurupá e Xingu, abundante entre Vitória e Altamira; rios Cussari e Curuá do Sul; Serra do Almerim; região do alto Curuá de Alenquer, nas matas entre os campos de Ariramba e o rio Cuminapanema, terras altas do médio Trombetas (rio Acapu; rio Erepecuru próximo à cachoeira do Inferno). Além do estado do Pará, essa espécie pode ser encontrada nos estados do Amapá, Amazonas e Maranhão (LOUREIRO et al., 1979).

O déficit hídrico é um dos principais fatores limitantes do desenvolvimento e crescimento das plantas, apenas as espécies com mecanismos de resistência à seca podem prosperar em ambientes com limitação de água (GONZÁLES et al., 2012). As plantas podem apresentar várias respostas ao déficit hídrico, dentre elas, as respostas fisiológicas são capazes de identificar a condição hídrica que as plantas apresentam, alguns indicadores podem ser úteis no programa de melhoramento, visando a seleção de espécies resistentes ao déficit hídrico, os principais indicadores são a temperatura foliar, o CRA (MORALES, 2012) e a redução da condutância estomática ( $g_s$ ) (LAWLOR; TEZARA , 2009).

Segundo Voet et al., (2000), o meio para a maioria das reações bioquímicas é a água, ela participaativamente de muitas reações químicas que dão suporte a vida. Produtos de reações metabólicas, nutrientes, assim como produtos de descarte, dependem da água para o transporte dentro e entre as células. A oxidação da água para produzir oxigênio molecular,  $O_2$ , é uma reação fundamental para a fotossíntese, processo que converte a energia solar em forma química utilizável. A utilização dessa energia acaba por levar à redução de  $O_2$  novamente a água.

A falta de um suprimento adequado de água no solo, diminui o conteúdo relativo de água (CRA) nos tecidos foliares, essa diminuição no CRA causa o fechamento estomático,

afeta a fotossíntese, por consequência o crescimento e desenvolvimento, altera a integridade das membranas e causa a diminuição da atividade das enzimas envolvidas nas reações fotossintéticas (PIMENTEL, 2004).

A redução da disponibilidade de água no solo faz com que as plantas desenvolvam vários mecanismos para controlar a transpiração, e assim, impedir uma perda maior de água pelas folhas. Um dos principais mecanismos é o fechamento dos estômatos, evitando que a água escape para a atmosfera através da transpiração. À medida que o potencial hídrico da folha diminui, os estômatos se fecham, porém, além de evitar a perda de água, o fechamento dos estômatos também impede que o dióxido de carbono exigido para a fotossíntese entre na folha (RICKLEFS, 2012).

De acordo com Ricklefs (2012), as plantas modificam a fotossíntese em ambientes com alto déficit de água. Em ambientes secos e quentes não é possível manter os estômatos abertos, o que é um grande problema para as plantas, principalmente para as espécies C3, pois com o decréscimo dos níveis de CO<sub>2</sub> nas folhas, as plantas enfrentam sérias limitações em suas taxas de fotossíntese, e portanto no seu crescimento e produção.

O fechamento dos estômatos com o objetivo de reduzir a perda de água nas plantas sob deficiência hídrica, está relacionado ao aumento na concentração de ácido abscísico (ABA), nessas plantas. O ABA exerce seu efeito regulador através do Ca<sup>2+</sup> presente no citosol, o qual atua como mensageiro secundário na transdução do sinal, resultando no fechamento estomático. Várias pesquisas indicam que um grande número de respostas fisiológicas ao estresse pode ser simulado pela adição de ABA, destacando-se a redução da condutância estomática e da perda de água pelas folhas (KERBAUY, 2008).

A condutância foliar é constituída em pequena parte pela condutância cuticular da epiderme, e pela condutância estomática, quando os estômatos estão abertos. Portanto, a condutância é proporcional ao número e tamanho dos estômatos, além do diâmetro da abertura estomática, dependendo da interação de um grande número de fatores endógenos e ambientais, como a quantidade de água disponível no solo (TURNER 1991; LOPES; WANDELLI, 2003).

O déficit hídrico reduz a alocação de biomassa das folhas e dos caules e algumas vezes, aumenta a das raízes. Essa resposta da planta pode estar associada a um mecanismo de tolerância ao estresse hídrico, pois sob condições de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas tendem a investir mais biomassa no sistema radicular, permitindo maior crescimento de raízes e, consequentemente, aumento da capacidade de absorção de nutrientes (CORREIA; NOGUEIRA, 2004).

A redução da fotossíntese, do potencial hídrico, do CRA, da condutância estomática, e o fechamento dos estômatos, induzido pelo aumento na concentração de ABA, causados pelo déficit hídrico, promovem grandes prejuízos para as plantas, pois a energia e os produtos, como os carboidratos, gerados nesses processos são essenciais para um bom desenvolvimento e sobrevivência das plantas.

Oliveira Neto (2010) trabalhando com plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) constatou que a deficiência hídrica do solo, diminuiu a condutância estomática e, por conseguinte, a transpiração estando esse efeito relacionado com a diminuição do potencial hídrico foliar e ao aumento das concentrações de ABA. Rocha e Moraes (1997), trabalhando com plantas jovens de *Stryphnodendron adstringens* cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao déficit hídrico, observaram um decréscimo significativo nas variáveis de trocas gasosas (fotossíntese, condutância estomática e transpiração), aos 27 dias de estresse.

Os parâmetros de trocas gasosas, como a fotossíntese, podem ajudar no entendimento dos processos fisiológicos do acapú em condições de deficiência hídrica.

O objetivo desse trabalho foi analisar os parâmetros de trocas gasosa, relacionados com a produção da biomassa, assim como o potencial hídrico, o conteúdo relativo de água e as concentrações de ABA nas folhas e nas raízes das plantas de acapú (*Vouacapoua americana*), submetidas ao estresse hídrico.

EP 00

Ylma Cunha

## 2.2- MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1- Local e condução experimental

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de ciências agrárias (ICA), localizado em Belém-Pará, no período de novembro de 2011 a julho de 2012.

As mudas de acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.), foram cedidas pela Embrapa Amazônia Oriental, com aproximadamente três meses de idade, medindo 30 cm de altura, e uma média de 10 folhas, 70 folíolos e 4 cm de diâmetro. As sementes foram coletadas no parque Ecológico de Gunma localizado no município de Santa Bárbara – PA. Essas plantas foram aclimatadas durante 2 meses em casa de vegetação. Após este período, as plantas de acapú foram selecionadas uniformemente considerando altura, diâmetro do caule, número de folhas e número de folíolos sendo transplantadas para vasos com 30cm de altura por 30cm de diâmetro, com capacidade para 28kg de substrato.

Cada vaso foi completamente cheio com substrato, sobre uma camada de 0,02 m de pedras britadas para facilitar a drenagem do solo. O substrato utilizado para o crescimento das plantas foi uma mistura de 3:1:1 (v:v:v), solo arenoso superficial, cama de aviário e húmus de minhoca. Antes do transplantio foram feitos testes para verificar a capacidade de campo dos vasos. O processo de calagem para a correção do pH do solo e suplementação de macro e micronutrientes foram feitos com base em análises química do substrato, aplicando-se solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950).

Antes de serem submetidas aos tratamentos, todas as plantas jovens de acapú foram irrigadas diariamente durante 6 meses para mantê-las na capacidade de campo e para aclimatá-las às condições ambientais do experimento, sendo efetuada a pesagem do conjunto vaso/planta periodicamente, para reposição da água evapotranspirada, conforme diferença de peso.

As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: irrigado (controle) e déficit hídrico, no qual a imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação no período de 30 dias, sendo o tempo 1 (zero dias de déficit hídrico), o tempo 2 (10 dias de déficit hídrico), o tempo 3 (20 dias de déficit hídrico) e o tempo 4 (30 dias de déficit hídrico). Durante o período das análises, as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. Fez-se também o controle de plantas daninhas

manualmente. Não foi observada ocorrência de deficiência nutricional, bem como o ataque de pragas e patógenos.

A produção de biomassa foi medida no ato de cada coleta destrutiva (aos 0, 10, 20 e 30 dias de estresse hídrico), onde as plantas foram separadas em parte aérea e raiz. Essa biomassa após secagem em estufa de circulação forçada, a 70°C por 72 horas, foi utilizada para determinar a massa seca da raiz, a massa seca da parte aérea e a massa seca total, em balança analítica.

### **2.2.2- Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 (duas condições hídricas: controle e déficit hídrico, e quatro tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Além disso, foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa ASSISTAT Versão 7.7 beta preconizado por Silva (2013).

### **2.2.3- Variáveis ambientais e biofísicas**

As médias de temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR), e as temperaturas do ar e da folha (Tfol) foram avaliadas através medidor portátil IRGA (Infra-red Gas Analyser/ADC equipments - mod. LCI 6400, Hoddesdon, UK).

O potencial hídrico ( $\Psi_f$ ) foi determinado entre 08:00 e 10:00h, por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co., Albany, USA). Como amostras, folíolos maduros e completamente expandidos foram selecionados do segundo ou terceiro par de folhas a partir do ápice.

#### **2.2.4- Conteúdo relativo de água (CRA)**

O CRA foi determinado entre 06:00 e 07:00h em cada coleta. As plantas (ainda no vaso) foram levadas para o laboratório, onde foram retirados os discos para a determinação imediata do CRA. O método utilizado foi o descrito por Slavick (1979), foram retirados 30 discos foliares frescos (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, através de um vazador de aço- inoxidável, determinando imediatamente a massa dos mesmos ( $MF_1$ ) em balança analítica. Em seguida os discos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo 35 mL de água destilada e deixados na bancada ( $25^\circ C$ ) por um período de 6-7 horas. Posteriormente os discos foram colocados em papel de filtro para retirar o excesso de água e em seguida pesados para determinar a massa túrgida ( $MF_2$ ). Após, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa ( $70^\circ C$ ) por 24 h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS). Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme fórmula abaixo:

$$CRA = \frac{MF_1 - MS}{MF_2 - MS} \times 100 (\%)$$

Em que:

$MF_1$ = Massa fresca 1;

$MF_2$ = Massa fresca 2;

MS= Massa seca;

#### **2.2.5- Trocas gasosas**

A condutância dos estômatos ao vapor d'água ( $gs$ ), a transpiração ( $E$ ), a temperatura da folha ( $T_{fol}$ ), a fotossíntese ( $A$ ), e a concentração de  $CO_2$  no ar e na folha ( $362-192 \mu mol mol^{-1}$ , respectivamente) foram determinadas por meio do medidor portátil IRGA. As medições foram realizadas entre 09:30 e 10:30 h, horário determinado pela curva de fotossíntese x horário. As trocas gasosas foram medidas quando a densidade do fluxo de fôtons fotossintéticos foi superior a  $870 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ . Como amostras, folíolos maduros e completamente expandidos foram selecionados a partir de folhas do segundo ou terceiro par contados a partir do ápice.

## 2.2.6- Determinações de ácido abscísico (ABA)

As determinações de ABA foram realizadas no laboratório de fisiologia vegetal da UNICAMP (Universidade de Campinas). Para o extrato e purificação do ABA foi utilizado o protocolo descrito por Ross et al., (2004), com algumas modificações. Os tecidos de folha secos em estufa e moídos, foram macerados em N líquido com 100% de polyvinylpyrrolidone (PVPP). Foram utilizados 50 mg de massa seca das folhas e 200 mg de massa seca das raízes. Em seguida, foi colocado o solvente de extração (acetona/H<sub>2</sub>O/ácido acético: 80/19/1). Foi utilizado para a folhas e para as raízes, 1,5ml e 2,5ml do solvente de extração, respectivamente. O extrato foi transferido para outro tubo. O almofariz foi lavado com mais 500 µL do solvente de extração e transferido para o mesmo tubo, adicionando-se 40 ng de (-)-5,8',8',8' -d4-ABA deuteroado. As amostras foram então agitadas por 30 a 40 min a 4°C e centrifugadas (15000 x g/10 min/ 4°C). A partir de então, foram transferidos para outro frasco e o resíduo lavado com mais 20 µL do solvente de extração, centrifugado (15.000 x g/10 min/4°C) e o sobrenadante foi novamente coletado e adicionado ao primeiro sobrenadante. Os sobrenadantes combinados foram liofilizados, dissolvidos em 100 µL de metanol/ ácido acético (99/1) mais 900µL de H<sub>2</sub>O /ácido acético (99/1) e, em seguida, centrifugados (15000x g/2 min/4°C). O sobrenadante foi transferido para coluna de extração de fase sólida (SPE) (Oasis HLB 1, Waters, Mil Ford, MA, USA) e o ácido abscísico (ABA) e eluído com 1ml de metanol/H<sub>2</sub>O/ácido acético (80/19/1). O extrato foi liofilizado e o concentrado foi ressuspensionado em 220 µL de (85/15) (H<sub>2</sub>O/acetonitrila com 0,07% de ácido acético), agitado em baixa velocidade por 5 min (4°C), sonicado por 5 min e centrifugado (15.000 x g/10 min/4°C). O sobrenadante foi, em seguida, transferido para via injetora.

As separações cromatográficas das amostras de folhas e raízes foram feitas em um cromatografo líquido de alto desempenho (Shimadzu, Tóqui, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo (Micromass, modelo Quattro II com fonte Z-Spray™, Manchester, Reino unido). O HPCL possui duas bombas LC-ADvp, um detector UV/VIS SPD-10ADvp, um auto-injetor SIL-10ADvp e um controlador de sistema SCL-10Avp.

As análises foram feitas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa no modo de ionização *electrospray* negativo (HPCL/MS/ESI-). As amostras foram analisadas, utilizando-se de uma coluna cromatográfica C-18 Supelcosil (Supelco; 15cm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 mm de tamanho da partícula), com fluxo de 0,3 ml min<sup>-1</sup>. Os eluentes usados foram ácido fórmico 0,1% (A) e acetonotriila (B). O

gradiente linear utilizado foi de 15% até 100% de B em 20 min, 100% de B por mais 5 min, 100% a 15% de B em 2 min e 15% até 30 min. O comprimento de onda selecionado foi de 252 nm. As condições de ionização foram: voltagem do capilar de 4kV, temperatura da fonte de 100°C e temperatura de dessolvatação de 200°C, voltagem do cone de amostragem e extrator de 30V e 5V, respectivamente, energia de colisão de 15EV, fluxo de gás de secagem de -400 L.h<sup>-1</sup>, fluxo de gás de dessolvatação de 15 L.h<sup>-1</sup> e argônio como gás de colisão. Os dados foram processados pelo software MassLynx NT (versão 3,2, Micromass, Altricham, Reino Unido). A detecção e quantificação de ABA nas amostras foram feitas mediante o monitoramento de reações múltiplas (MRM) via seleção de transição de massa específica da molécula de interesse (para o ABA, 263- 153 e, para o ABAd<sub>4</sub>, 267- 156).

## 2.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1- Variáveis ambientais

A temperatura mínima e máxima do ar durante as coletas dos dados do experimento variou de 25,3 °C – 39,5°C. A umidade relativa do ar variou entre 62,5% a 89%. A média da radiação fotossinteticamente ativa foi de 870 $\mu\text{mol}^{-2}\text{ s}^{-1}$ .

A temperatura média da folha foi de 36,95 °C nas plantas mantidas irrigadas e de 37,99 °C nas plantas sob estresse hídrico, e o DPV variou de 1,92 KPa a 2,92 KPa.

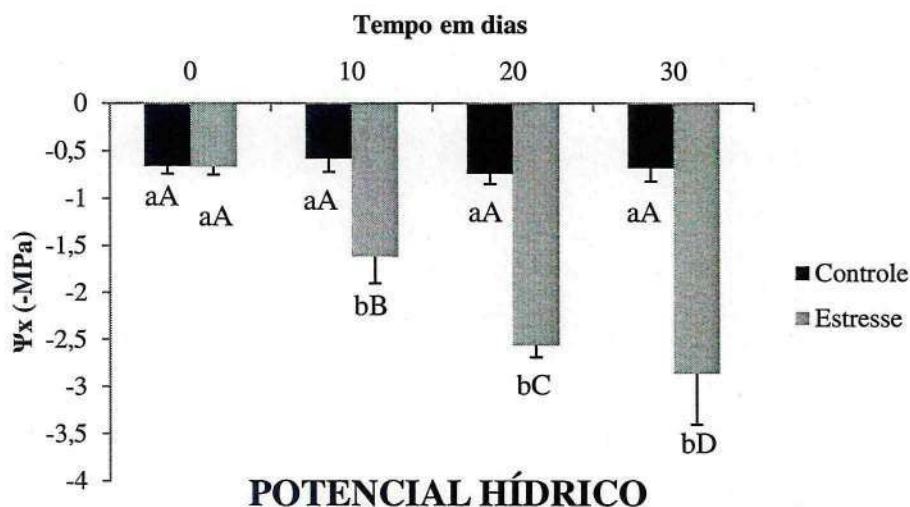
### 2.3.2- Potencial hídrico

Os potenciais hídricos das plantas mantidas sob deficiência hídrica reduziram significativamente com o aumento do número de dias sem irrigação (Figura 1). Enquanto as plantas irrigadas mantiveram média constante de -0,67 MPa ao longo do experimento, os valores para as plantas estressadas foram -0,66; -1,62; -2,56 e -2,86 MPa nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico, respectivamente. Essa redução no potencial hídrico foliar das plantas sob estresse hídrico, pode ser atribuída ao aumento da concentração de açúcares e aminoácidos, promovidos pela deficiência hídrica (Figuras 17 e 25) (CASCARDO et al., 1990).

O potencial hídrico é usado como medida do status hídrico da planta, além de governar o transporte de água através das membranas celulares. No entanto, em condições de seca, as plantas podem apresentar o potencial hídrico bastante negativo. Em geral esse tipo de estresse promove acumulação de solutos no citoplasma e no vacúolo das células vegetais, permitindo às células manterem a pressão de turgor, apesar dos baixos potenciais hídricos (NOGUEIRA et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013) De acordo com Pagter et al., (2005), o acúmulo desses compostos nas folhas diminui o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), o que aumenta a capacidade de absorção de água das plantas e atenua os efeitos do deficit hídrico no conteúdo relativo de água da planta.

Silva (2009), também observou diminuição acentuada no potencial hídrico de plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), com o aumento do tempo de deficiência hídrica, durante 27 dias, em casa de vegetação. Rocha e Moraes (1997) trabalhando com plantas jovens de *Stryphnodendron adstringens* cultivadas em casa de vegetação, submetidas

ao estresse hídrico induzido por suspensão de rega, obtiveram aos 30 dias de estresse, valores no potencial hídrico de até -2,7 MPa. Cordeiro (2012) trabalhando com plantas de mogno brasileiro, ipê amarelo e jatobá também constatou redução no potencial hídrico dessas espécies durante o período seco nas condições edafoclimáticas de Igarapé- Açú/ Pará.



**Figura 1.** Potencial hídrico das folhas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúscula, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 2.3.3- Conteúdo Relativo de água (CRA)

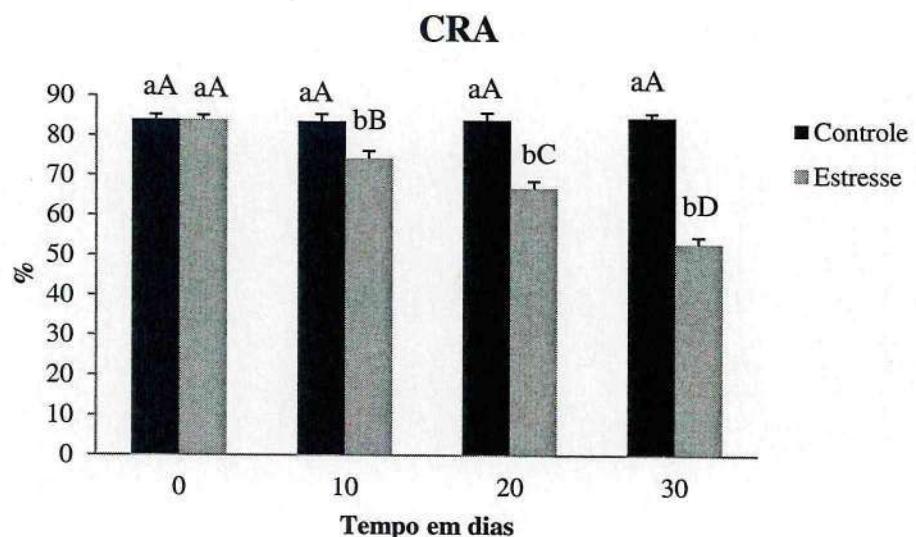
O conteúdo relativo de água nas plantas sob déficit hídrico reduziu significativamente ao longo do tempo, quando comparado às plantas mantidas irrigadas (Figura 2). As plantas irrigadas mantiveram média de 83,93% ao longo do experimento. Os valores apresentados pelas plantas submetidas ao déficit hídrico foram de 83,98%; 74,25%; 66,70% e 52,79% equivalentes a 0, 10, 20 e 30 dias de estresse hídrico (Tabela 1). A diminuição do conteúdo relativo de água dos tecidos foliares seguiu basicamente a mesma tendência observada nos valores do potencial hídrico como mostra a Figura 1.

Essa diminuição promove deformações na parede celular, ruptura e lise das membranas dos cloroplastos e mitocôndrias, e de outras organelas, reduzindo assim a atividade das reações associadas às membranas, como a atividade bioquímica da fotossíntese (PIMENTEL, 2005). Segundo Kerbauy (2004), a perda de turgor causada pelo déficit hídrico

provoca o fechamento estomático, a redução da fotossíntese (Figura 3) e da respiração, e a interferência de muitos processos metabólicos básicos.

O aumento da concentração de prolina no tecido foliar (Figura 27) tem sido relacionado com a diminuição do potencial hídrico da folha, Figura 1, (BLUM; EBERCON, 1976), com a diminuição do conteúdo relativo de água (PATIL et al., 1984) e com a resistência à difusão de vapor (WALDREN; TEARE, 1974). Dessa forma, o conteúdo relativo de água tem sido um dos principais determinantes da atividade metabólica e da sobrevivência foliar, atuando como um indicador importante de tolerância ao estresse hídrico (SCHONFELD et al., 1988).

Carvalho (2005) encontrou respostas semelhantes às obtidas neste trabalho, ao observar redução no CRA de plantas jovens de paricá (*Schizolobium amazonicum*) e guapuruvu (*Schizolobium parahyba*) submetidas a dois ciclos de deficiência hídrica, em casa de vegetação. Albuquerque et al., (2013) trabalhando com plantas de mogno africano em casa de vegetação, sob dois regimes hídricos (controle e déficit hídrico), observaram redução de 28% no CRA aos 14 dias de estresse hídrico.



**Figura 2.** CRA em folhas de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 2.3.4- Fotossíntese

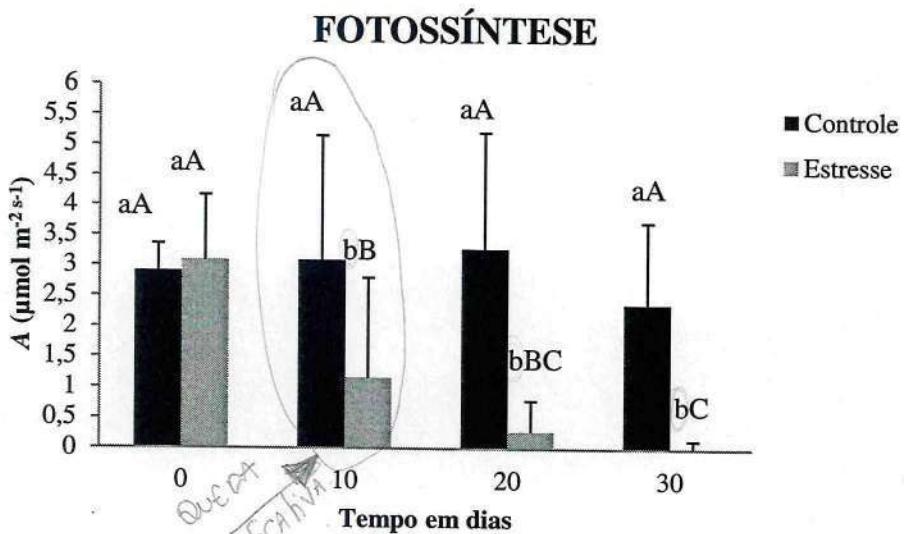
A taxa fotossintética ( $A$ ) diminuiu, significativamente, nas plantas sob déficit hídrico apartir do 10º dia de estresse hídrico, mas não diferiu estatisticamente nos valores observados aos 20 e 30 dias de déficit hídrico (Figura 3). As plantas irrigadas mantiveram a fotossíntese constante, apresentando média de  $2,91 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  entre os tratamentos. Os valores apresentados nas plantas submetidas à deficiência hídrica foram 3,09; 1,16; 0,28 e  $0,02 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para os tempos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse hídrico, respectivamente (Tabela 1). Aos 20 dias de estresse, a fotossíntese não diferiu estatisticamente nem do tempo com 10 dias, e nem do tempo com 30 de suspensão hídrica.

Essa diminuição na fotossíntese é induzida pela redução de água no solo, que promove o fechamento dos estômatos, devido principalmente, ao aumento da concentração de ABA na planta (Figuras 6 e 7), como resposta a diminuição do potencial hídrico e do conteúdo relativo de água nos tecidos foliares (Figuras 1 e 2, respectivamente). Aos 30 dias de déficit hídrico a fotossíntese líquida (Figura 3) foi nula, mostrando que neste potencial hídrico foliar (-2,8 MPa) ocorreu fechamento estomático total (Figura 4).

Segundo Flexas e Medrano (2002), a redução da fotossíntese em plantas submetidas à deficiência hídrica, pode ocorrer por diferentes razões, tais como limitação estomática a entrada de  $\text{CO}_2$ , danos ao aparato fotoquímico da fotossíntese, redução na síntese de ATP, e diminuição na atividade da Rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase) ou em sua taxa de regeneração.

Existem numerosos trabalhos mostrando que a fotossíntese (assimilação de  $\text{CO}_2$ ) pode ser limitada pelo fechamento dos estômatos, seja em resposta a um decréscimo no potencial hídrico foliar (SCHULZE; HALL, 1982), diminuição da umidade relativa do ar (LANGE et al., 1971; BUNCE, 1986; PRADO et al., 1995), ou como uma resposta direta dos estômatos ao déficit hídrico do solo (BLACKMANN; DAVIES, 1985; GOLLAN et al., 1986).

Resultados obtidos por Santana (2012) trabalhando com plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) mostram diminuição da fotossíntese nas plantas sob déficit hídrico. Gonçalves et al., (2009), trabalhando com plantas jovens de *Carapa guianensis* submetidas a deficiência hídrica e a reidratação, em casa de vegetação, observaram que a fotossíntese diminuiu 88% aos 21 dias de supressão de água.



**Figura 3.** Fotossíntese em folhas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 2.3.5- Condutância estomática

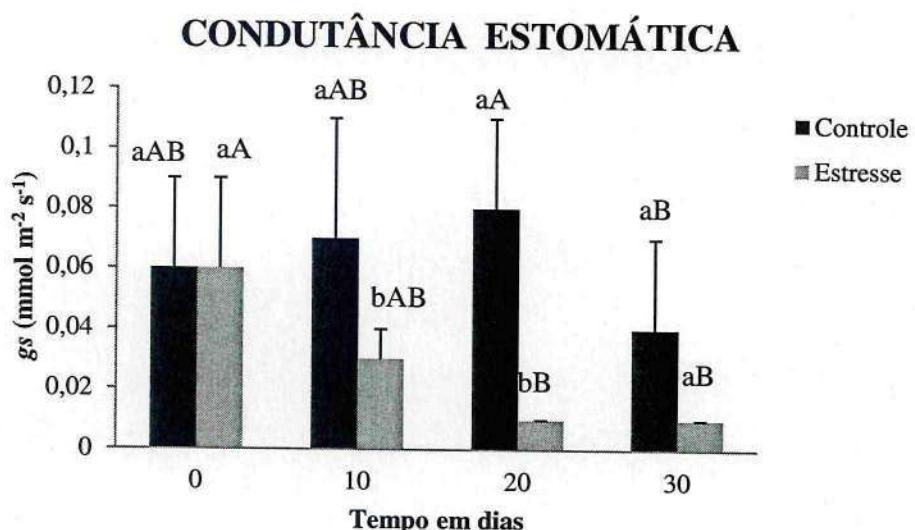
A longitânea estomática é controlada PELA FUNDIDAZ DAS CELULAS GUARDAS que REGULAM A ABERTURA ou FECHAMENTO DOS ESTÔMATOS.

A condutância estomática ( $g_s$ ) diminuiu, significativamente, nas plantas sobre déficit hídrico quando comparada às plantas mantidas irrigadas (Figura 4). No entanto, não houve diferença significativa nos valores de  $g_s$  entre os tempos com 20 e 30 dias de estresse. Os valores encontrados nas plantas submetidas à deficiência de água foram de 0,06; 0,03; 0,01 e 0,01  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico respectivamente (Tabela 1). As plantas mantidas sob controle apresentaram média de 0,06  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . À medida que o déficit hídrico aumentou, houve desidratação das células do mesófilo e diminuição do potencial hídrico das folhas (Figura 1), reduzindo a fotossíntese (Figura 3) e a condutância estomática.

O fechamento estomático, representa a causa primária da redução na taxa fotossintética e na taxa de transpiração (Figura 5) sob condições de deficiência hídrica, e essa redução se deve à diminuição na disponibilidade de  $\text{CO}_2$  nas câmaras subestomáticas das folhas, causada pelo fechamento dos estômatos (GONÇALVES et al., 2009). Uma das primeiras respostas ao déficit hídrico é a redução na condutância estomática, e um longo período de estresse pode provocar limitações na fotossíntese e no crescimento da planta (CENTRITO, 2003). O fechamento estomático é uma tentativa de manter o conteúdo hídrico

favorável nos tecidos das plantas sob déficit hídrico, por um maior tempo possível. Essa redução da abertura do poro estomático, todavia, restringe a troca de gases entre o interior da folha e a atmosfera causando diminuição na assimilação de CO<sub>2</sub> que é utilizado no processo fotossintético (KRIEG 1993; LARCHER 2000). A abertura estomática depende do estado hídrico da folha e da demanda evaporativa da atmosfera. Existem numerosas observações, como mostra Naves-Barbiero et al., (2000) ao trabalhar com duas espécies lenhosas *Rapanea guianensis* e *Roupala montana*, de que a condutância estomática diminui em resposta ao aumento do déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar, e que a resposta está relacionada à taxa de transpiração foliar (SCHULZE, 1993).

Resultados semelhantes foram observados em plantas de mogno-africano (ALBUQUERQUE et al., (2013) e em plantas de citrus submetidas ao estresse hídrico e a reidratação por Medina et al., (1999), os quais demonstraram diminuição na condutância estomática sob condições de estresse hídrico. Plantas jovens de mogno (*Swietenia macrophylla*) conduzidas em casa de vegetação, sob déficit hídrico, tiveram redução na condutância estomática e na transpiração, nos 20 primeiros dias de estresse (LIMA et al., 2007). Rocha et al., (1997) observou redução na  $g_s$  em plantas jovens envasadas de *Stryphnodendron adstringens*, pertencente a Família Leguminosae, sub-família Mimosoideae, submetidas a deficiência hídrica durante 30 dias em casa de vegetação.



**Figura 4.** Condutância estomática em folhas de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os desvios-padrões das médias.

### 2.3.6- Transpiração

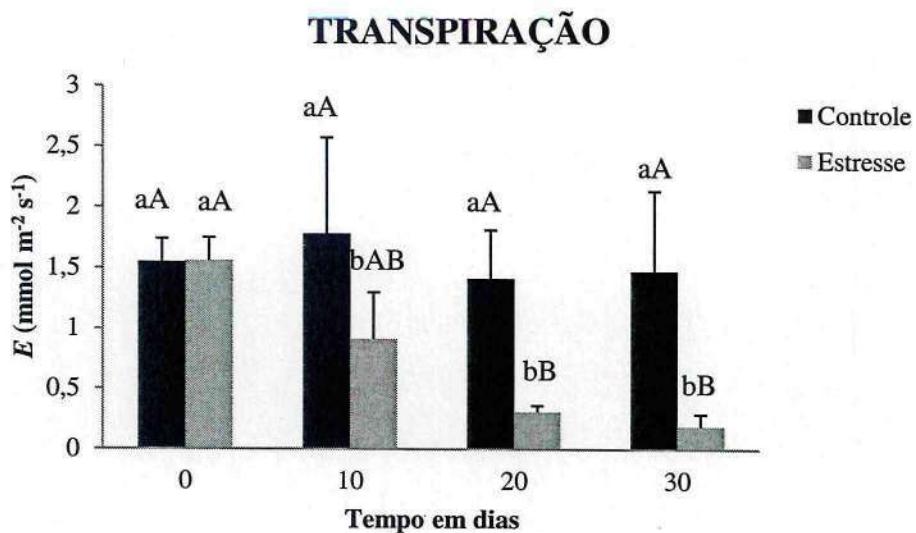
A transpiração foliar ( $E$ ) reduziu, significativamente, nas plantas sobre déficit hídrico quando comparada às plantas mantidas irrigadas (Figura 5), seguindo tendência semelhante à condutância estomática nas plantas submetidas a deficiência hídrica (Figura 4). Houve redução significativa em  $E$  desde o 10º dia de suspensão da irrigação, porém, tal redução, foi estatisticamente semelhante aos 20 e 30 dias de déficit hídrico. A média dos valores nas plantas mantidas irrigadas foi de  $1,56 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , enquanto que os valores obtidos nas plantas com deficiência hídrica foram de  $1,55; 0,91; 0,31$  e  $0,19 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente (Tabela 1).

A redução da transpiração ocorre devido ao fechamento estomático, que é promovido pelo aumento da biossíntese ou da redistribuição do ABA, hormônio regulador do fechamento estomático em plantas com deficiência hídrica (Figuras 6 e 7). De acordo com Taiz e Zeiger, (2013) a sensibilidade da planta em relação a determinados processos fisiológicos, é em geral, uma estratégia da planta, em enfrentar a falta de água no solo.

O decréscimo de  $E$  pode estar ligado ao comportamento estomático ao longo do estresse, possivelmente, devido ao potencial da água da folha e sua relação com o potencial da água no solo, além de outros fatores do ambiente, tais como luz e umidade relativa (NOGUEIRA et al., 2000).

Resposta semelhante foi encontrada por Silva (2007), que observou diminuição na taxa de transpiração das plantas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) sob déficit hídrico, em casa de vegetação. Oliveira et al., (2002) trabalhando com plantas de pupunheira submetidas ao estresse hídrico, em casa de vegetação, também observaram diminuição na taxa de transpiração dessa espécie a partir do 6º dia de deficiência hídrica.

Os resultados deste trabalho também concordam com os relatados por Nogueira et al., (2000), que observou redução na transpiração de mudas de aceroleiras (*Malpighia emarginata*), nos períodos crescentes de estresse hídrico, em casa de vegetação.



**Figura 5.** Transpiração em folhas de plantas jovens de acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 2.3.7- Concentrações de ácido abscísico (ABA)

As concentrações de ácido abscísico (ABA) nas folhas e nas raízes de acapú aumentaram, significativamente, com o tempo de estresse hídrico, em comparação as plantas sob controle (Figuras 6 e 7). Os teores médios de ABA nas plantas irrigadas, para folhas e raízes, foram de 52,43 e 65,78 ng g<sup>-1</sup> MS respectivamente. As plantas sob déficit hídrico apresentaram para as folhas, 54,44; 65,64; 90,62 e 182,39 ng g<sup>-1</sup> MS aos 0, 10, 20 e 30 dias de estresse, respectivamente, e para as raízes 65,78; 127,30; 171,77 e 239,74 ng g<sup>-1</sup> MS, nos mesmos intervalos de tempo. *AS CONCENTRAÇÕES DE ABA FORAM MUITO MAiores NAS RAÍZES.*

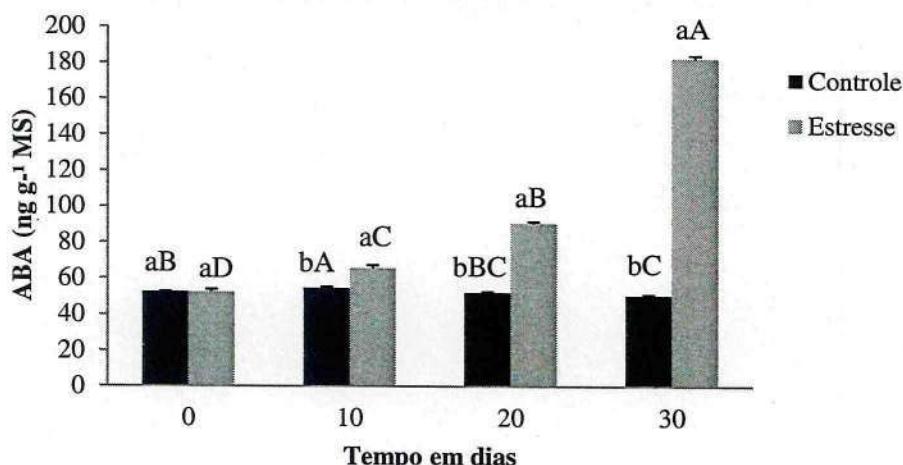
A diminuição de água no solo promove o aumento da produção desse ácido na planta, que age sobre o mecanismo estomático, sendo um dos primeiros sintomas das plantas ao perceberem o estresse. *Uma das principais funções do ABA é promover o fechamento estomático, e como consequência evitar a perda de água por transpiração em plantas sob deficiência hídrica (Figura 5).*

Segundo Kerbauy (2008), nas folhas um dos fatores que afetam a redistribuição do ABA durante o déficit hídrico é o pH. Nessas condições de deficiência hídrica a seiva do xilema e o fluido do apoplastro tornam-se *alcalinos*, promovendo diminuição no gradiente de pH entre o apoplastro e o simplasto. Essa alcalinização do pH promove a liberação do ABA

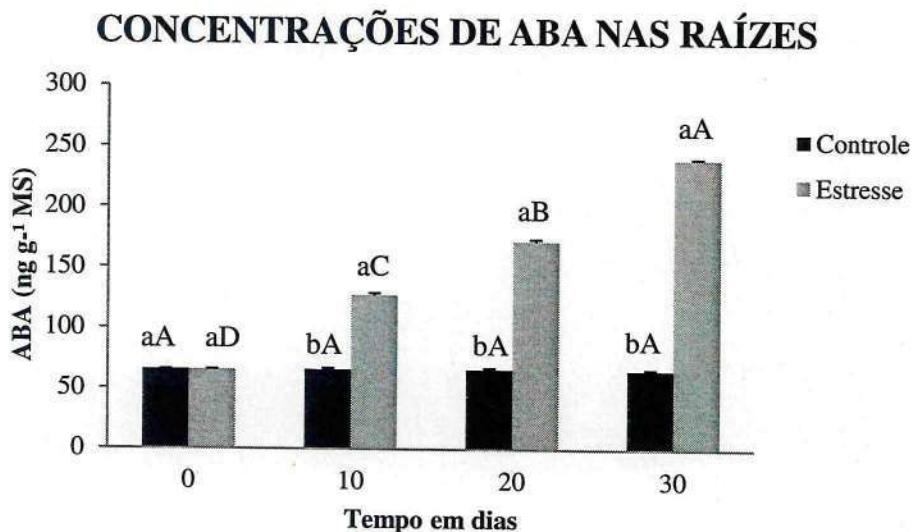
aprisionado no simplasto em direção ao apoplato, e/ ou previne sua saída deste último compartimento, onde, acumulado em maiores concentrações, fecha os estômatos (KERBAUY, 2008).

Silva (2007) trabalhando com plantas de café (*Coffea canefora*) sob déficit hídrico, encontrou resultados semelhantes aos deste trabalho, ao observar aumento nas concentrações foliares de ABA em resposta ao estresse hídrico quando as plantas apresentaram o potencial hídrico menor que -1,0 MPa. Alves (2010) também encontrou resultados similares, trabalhando com plantas jovens de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*), em casa de vegetação, submetidas à falta de água e ao alagamento, onde constatou aumento na concentração do ABA, tanto nas folhas quanto nas raízes sob deficiência hídrica.

### CONCENTRAÇÕES DE ABA NAS FOLHAS



**Figura 6.** Concentrações de ABA em folhas de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.



**Figura 7.** Concentrações de ABA em raízes de plantas jovens de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 2.3.8- Massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total

O déficit hídrico reduziu significativamente a massa seca da parte aérea (Figura 8 A), assim como a massa seca da raiz (Figura 8 B) e a massa seca total (Figura 8 C). Porém o efeito do tempo na massa seca da raiz, só foi observado em plantas com 30 dias de deficiência hídrica .

A massa seca da parte aérea diminuiu significativamente ao longo do experimento nas plantas estressadas. Os valores obtidos nas plantas mantidas sob controle foram, 63,1g; 61,0g; 67,2g e 85,7g equivalentes a 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. As plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram os valores de 63,1g; 51,4g; 44,4g e 39,5g aos 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. Essa redução nos valores de massa seca da parte aérea nas plantas submetidas à falta de água, possivelmente, deve-se a diminuição da taxa fotossintética dessas plantas, que diminui a produção dos fotoassimilados, bem como as possíveis alterações no metabolismo da planta como um todo. Esses resultados se assemelham aos encontrados por Santiago (2000) que observou redução na matéria seca da parte aérea em plantas jovens de sabiá (*Mimosa caesalpiniifoli*) submetidas ao estresse hídrico.

Na massa seca da raiz houve um decréscimo significativo apenas no 30º dia de estresse hídrico, cujo o valor foi de 14,6g. A média das plantas mantidas sob controle foi de 22,1g. Esse decréscimo na produção de matéria seca da raiz corrobora com vários trabalhos

de pesquisa sob estresse hídrico. Resultados semelhantes ao deste trabalho foram encontrados por Oliveira Neto (2010) trabalhando com plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), em casa de vegetação, submetidas a 30 dias de estresse hídrico, no qual observou uma redução na massa seca das raízes dessas plantas, em condições de redução de água.

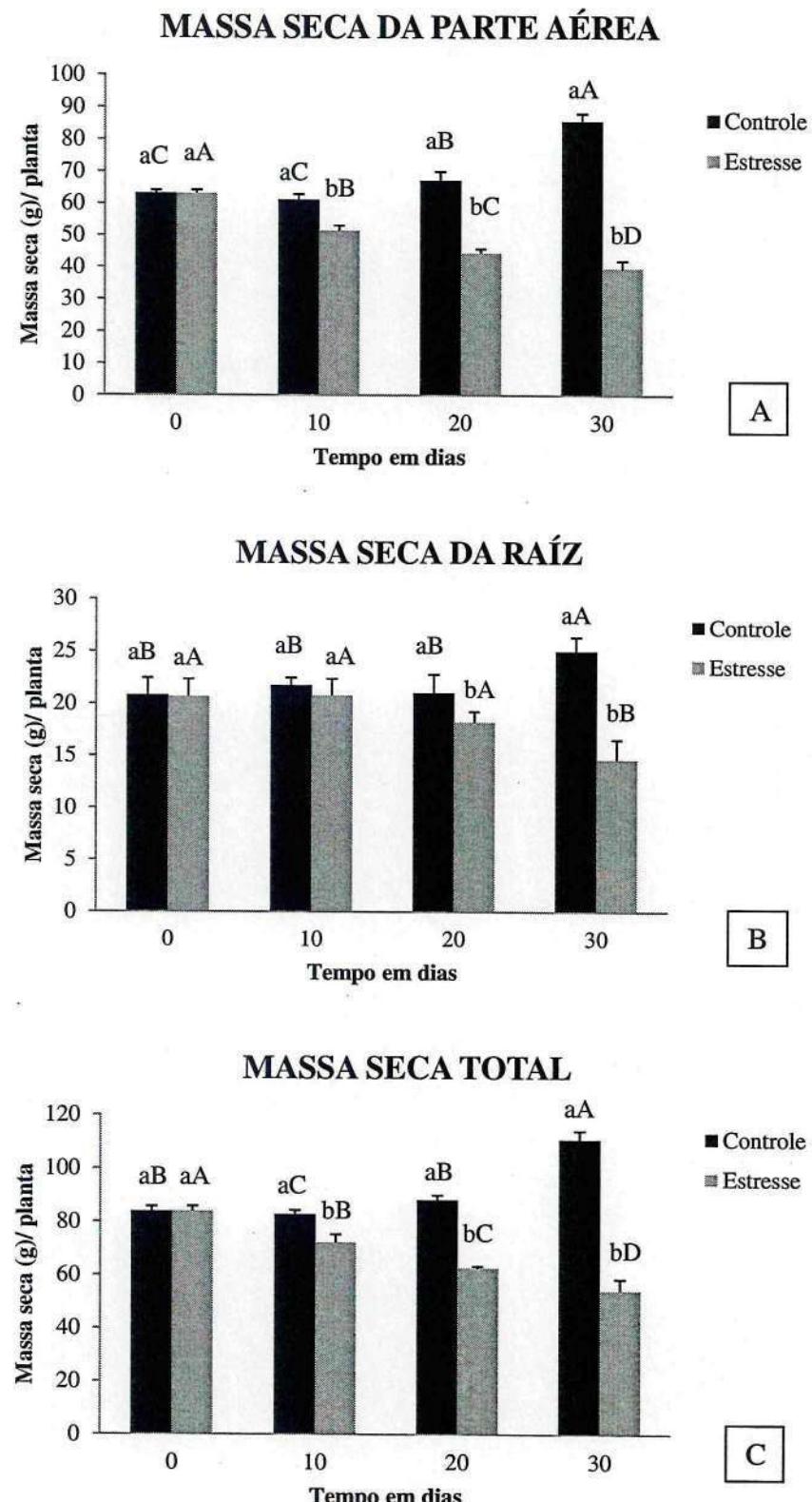
A suspensão da irrigação por 10 dias afetou significativamente a massa seca total das plantas de acapu ao longo do experimento. Os valores obtidos para a massa seca total nas plantas sob controle hídrico foram, 83,9g; 82,8g; 88,2g; 110,7g aos 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. Nas plantas sob deficiência hídrica os valores foram 83,0g; 72,2g, 62,6g; 54,1g, aos 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. Junior (2008), trabalhando com duas cultivares de mamoma submetidas ao estresse hídrico observou diminuição da matéria seca total nas plantas estressadas em relação às plantas mantidas irrigadas.

Cabral et al., (2004) trabalhando com plantas jovens de *tabebuia aurea* sob estresse hídrico, em casa de vegetação, observou uma redução da massa seca da parte aérea, da raiz e total das plantas, ao longo do experimento.

De acordo com Correia e Nogueira (2004) o estresse hídrico diminui a alocação de biomassa das folhas e dos caules e aumenta a das raízes. Essa resposta da planta pode estar associada a um mecanismo de tolerância ao estresse hídrico, pois, sob condições de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas tendem a investir mais biomassa no sistema radicular, permitindo maior crescimento de raízes e, consequentemente, aumento da capacidade de absorção de nutrientes.

A deficiência hídrica é uma das condições que mais limitam a produção primária dos ecossistemas e o rendimento das culturas, principalmente pelas restrições que impõem à fixação fotossintética do carbono (GRISI et al., 2008). Segundo Kozlowski (1984) a falta de água no solo afeta o desenvolvimento das plantas, diminuindo a massa seca das raízes e da parte aérea.

Para Larcher (2004) os efeitos da seca sobre os vegetais dependem da intensidade do estresse, da genética da planta e da duração desse estresse, podendo provocar diversas alterações ecofisiológicas na planta.



**Figura 8.** Massa seca da parte aérea (A), massa seca da raiz (B) e massa seca total (C) de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

## 2.4- CONCLUSÃO

A suspensão da irrigação por 10 dias foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas jovens de acapú, aumentando a concentração de ABA tanto nas folhas, quanto nas raízes, e reduzindo os parâmetros de trocas gasosas, assim como o CRA, e a massa seca das folhas, das raízes e a massa seca total das plantas jovens de acapú.

Plantas jovens de acapú toleram um potencial hídrico de até -2,86 MPa, nessas condições experimentais, embora tenham apresentado perdas significativas em relação as trocas gasosas e a produção de massa seca.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.48, n.1, p.9-16, jan. 2013.
- ARAGÃO, I. L.; ALMEIDA, S. S. Estrutura ecológica comparada de populações de acapu (*Vouacapoua americana* Aublet., Caesalpiniaceae) em duas florestas de terra firme na Amazônia Oriental. In: Lisboa, P. L. B. org. Caxuanã. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, p.277-290, 1997.
- BUNCE, J. A. Responses of gas exchange to humidity in populations of three herbs from environments differing in atmospheric water. *Oecologia*, 71:117-220, 1986.
- BLACKMAN, P. G.; DAVIES, W. J. Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. *Journal of Experimental Botany*, 36:39-48, 1985.
- BLUM, A.; EBERCON, A. Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*, 16:428-431, 1976.
- CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKUR, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. *Acta bot. bras.* 18(2): 241-251. 2004.
- CARPANEZZI, A. A.; COSTA, L. G. S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, C. F. A. Espécies pioneiras para recuperação de áreas degradadas: a observação de laboratórios naturais. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, 1990. Anais. São Paulo: SBS, 1990. v.3, p.216-221.
- CARVALHO, C. J. R. R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.29, n.6, p.907-914, 2005.
- CASCARDO, J. C. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; ALVES, J. D. Açúcares e compostos nitrogenados orgânicos na seringueira cultivada em solo com diferentes doses de gesso agrícola sob dois regimes hídricos. *Revista Bras. Fisiol. Veg.*, 5(1):35-40, 1990.

CENTRITO, M.; LORETO, F.; CHARTZOULAKIS, K. The use of low [CO<sub>2</sub>] to estimate dissensual and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of saltstressed olive saplings. Plant cell and environment. P.585-594, 2003.

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. Tese (Doutorado em ciências agrárias)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2012.

CORREIA, K. G.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. Revista de Biologia e Ciências da Terra, Belo Horizonte, v.4, n.2, 2004.

FARIA, J. M. R.; DAVIDE, A. C.; BOTELHO, S. A. Comportamento de espécies florestais em área degradada, com duas adubações de plantio. CERNE, v. 3, n. 1, 1997.

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. DOI: 10.1093/aob/mcf027.

FORGET, P. M.; MERCIER, F.; COLLINET, F. Spatial patterns of two rodent-dispersed rain forest trees *Carapa procera* (Meliaceae) and *Vouacapoua americana* Aublet. (Caesalpiniaceae) at Paracou, Journal of Tropical Ecology French Guiana, v. 15, n. 3, p. 301-313, 1999.

GOLLAN, T.; PASSIOURA, J. B.; MUNNS, R. Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. Australian Journal of Plant Physiology, 13:459-464, 1986.

GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E. M.; GUIMARÃES, D. G. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. Pesq. agropec. bras. v.44 n.1 Brasília Jan. 2009.

GONZÁLES, A.; TEZARA, W.; RENGIRO, E.; HERRERA, A. Ecophysiological responses to drought and salinity in the cosmopolitan invader *Nicotiana glauca*. Braz. J. Plant Physiol. vol. 24 n. 3, p. 213-222, 2012.

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 ‘catuai’ e ‘siriema’ submetidas ao estresse hídrico. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.32, n.6, p.1730-1736, Nov./dez., 2008

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

JUNIOR, G. B.; GUERRA, H.O. C.; CAVALCANTI, M. L. F.; LACERDA, R. D. L. Consumo de água e eficiência do uso para duas cultivares de mamona submetidas a estresse hídrico. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental v.12, n.4, p.350–355, 2008.

KERBAUY, G. B. Fisiologia Vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452 p. 2008.

KOZLOWSKI, T. T. Responses of woody plants to flooding. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.). Flooding and plant growth. San Diego: Academic, 1984.LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. Revisão técnica. São Carlos- SP: Rima. 531p. 2004.

KRIEG, D. R. Stress tolerance mechanisms in above ground organs. In: Proceedings of the Workshop on Adaptation of Plants to Soil Stress. INTSORMIL, Nebraska. p. 65-79, 1993.

LARCHER, W. Ecofisiologia Vegetal. São Carlos- SP: Rima. 531p. 2000.

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. Ann. Bot. 103:561-579, 2009.

LANGE, O. L.; LOSCH, R.; SCHUZE, E.D.; KAPPEN, L. Response of stomatal to changes in humidity. Planta, 100:76-86, 1971.

LIMA, A. P. B.; LOBATO, A. K. S. L.; OLIVEIRA NETO, C. F.; ALMEIDA, C. M.; GOUVEA, D. D. S.; MARQUES, L. C.; CUNHA, R. L. M.; COSTA, R. C. L. Transpiração e Condutância Estomática em Folhas de Mudas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King R.A) Submetidas ao Estresse Hídrico e à Reidratação. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 933-935, jul. 2007.

LOPES, O.; WANDELLI, E. Ecofisiologia. Disponível em: <http://www.usra.edu/iai/topics/ecophys/ecophis.html>. Acesso em: 8 out. 2003.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F. & ALENCAR, J. da C. Essências madeireiras da Amazônia. Manaus, Amazonas, INPA. V.I, p.187, 1979.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira ‘valênci’ sob deficiência hídrica. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 11(1):29-34, 1999.

MORALES, R. G. F. Resistência ao déficit hídrico em famílias de tomateiro derivados de *solanum pennellii*. Tese (Doutorado em agronomia/ fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, MG, Lavras, 2012.

NASCIMENTO, H. H. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C.; SILVA, M. A. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. Viçosa, Maio/junho. Revista árvore, vol. 35, n.3. 2011.

NAVES-BARBIERO, C. C.; FRANCO, A. C.; BUCCI, S. J.; GOLDSTEIN, G. Fluxo de seiva e condutância estomática de duas espécies lenhosas sempre-verdes no campo sujo e cerradão. R. Bras. Fisiol. Veg., 12 (2):119-134, 2000.

NOGUEIRA, D. T. S.; SILVA, M. L.; DOMBROSKI, J. L. D.; PINTO, J. R. S.; FREITAS, R. M. O. ; FARIA, 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, 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. R. Bras. Fisiol. Veg., 13(1):75-87, 2000.

OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A.; HABERMANN, G.; RODRIGUES, J. D. Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. Scientia Agricola, v.59, n.1, p.59-63, jan./mar. 2002.

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

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

PATIL, S. J.; PANCHAL, Y. C.; JANARDHAN, K. V. Effect of short term moisture stress on free proline and relative water content in different plant parts of maize genotypes. Indian Journal of Plant Physiology, 27:322- 327, Dec. 1984.

PIMENTEL, C. A relação da planta com a água. Seropédica, RJ: Edur, 189 p. 2004.

PIMENTEL, C. Respostas fisiológicas à falta d' água: Limitação difusiva ou metabólica? Estresses ambientais: Danos e benefícios as plantas- MXM Gráfica e editora. Recife: UFRP, Imprensa universitária, 500p. 2005.

PINHEIRO, H.A.; SILVA, J.V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V.M.; CÂMARA, C.A.; CABRAL, F.F.; OLIVEIRA, J.F.; CARVALHO, L.W.T.; SANTOS, J.M.; SANTOS FILHO, B.G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. Industrial Crops and Products, v. 27, 385-392, 2007.

POELS, R. L. H., GRAAF, N. R. de; WIRJOSENTONO, J. Growth and mortality of trees after various experimental silvicultural treatments for natural regeneration in Suriname. Hinkeloord Report, Sub-department of Forestry the Suriname, Agricultural University Wageningen. n. 25, 1998.

PRADO, C. H. B. A.; MORAES, J. A. P. V.; MATTOS, E. A. Gas exchange and leaf water status in potted plants of *Copaifera langsdorffii* . 2. Probable influence of low air humidity. Photosynthetica, 31(1):31-36,1995.

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

RIZZINI, C.T. Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira. Edgard Blucher, São Paulo, 1990.

ROCHA, A. M. S.; MORAES, P. V. Influência do estresse hídrico sobre as trocas gasosas em plantas jovens envasadas de *Stryphnodendron adstringens* (mart.) coville. R.Bras.Fisiol.Veg., 9(1):41-46, 1997.

RODRIGUES, M. S.; SILVA, R. C. M.; SECCO, R. S. Caesalpinieae (Leguminosae-Caesalpinoideae) do Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental, Município de Moju, PA, Brasil. *Hoehnea* 39(3): 489-516, 11 fig., 2012.

SANTANA, T. A. Relações hídricas e assimilação de carbono em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob deficiência hídrica. Dissertação (Mestrado em produção vegetal)- Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus- Bahia, 2012.

SANTIAGO, A. M. P. Aspectos do crescimento do sabiá (*Mimosa caesalpiniifolia* Benth.) em função da disponibilidade de água. Dissertação (Mestrado em botânica)- Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 63p. 2000.

SCHONFELD, M. A.; JONHSON, R. C.; CARVER, B. F.; MORNHINWEG, D. W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 28:526- 531, 1988.

SCHULZE, E. D. Soil, water deficits and atmospheric humidity as environmental signals. In Water deficits: plant responses from cell to community. Smith, J. A.C. and Griffiths, H. BIOS Scientific Publisher, Oxford, United Kingdom, 98-125, 1993.

SCHULZE, E. D.; HALL, A. E. Stomatal responses, water loss and CO<sub>2</sub> assimilation rates of plants in contrasting environments. In: LANG, O.; NOBEL P.; S.; OSMOND D.B. & ZIEGLER, H. Encyclopedia of Plant Physiology: New Series New York, Springer Verlag. v. 12B. p.181-230, 1982.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT Versão 7.7 beta - Homepage <http://www.assistat.com> DEAG-CTRN-UFCG, 2013.

SILVA, J. R. R. Comportamento ecofisiológico de plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* aubl.) sob dois regimes hídricos. Dissertação (Mestrado em agronomia)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2009.

SILVA, M. A. V. Avaliação fisiológica da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) sob déficit hídrico com vista para o reflorestamento. Dissertação (Mestrado em ciências florestais)- Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife- Pernambuco, 2012.

SOUZA, P. A.; VENTURIN, N.; MACEDO R. L. G.; ALVARENGA, M. I. N.; SILVA, V. F. Estabelecimento de espécies arbóreas em recuperação de área degradada pela extração de areia. *Cerne*, v.7, n.2, p.043-052, 2001.

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

TURNER, N. C. Adaptation to water déficits: a changing perspective. Australian Jouranal of plant physiology, v. 13, p. 175-190, 1991.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. Fundamentos de bioquímica. Artmed editora, Porto Alegre, 931 p, 2000.

WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. Plant and Soil, 40:689- 692, 1974.

## APÊNDICE I

**Tabela 1.** Variáveis fisiológicas. Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis fisiológicas. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.

Tratamentos	Variável	Tempo (dias)			
		0	10	20	30
Controle	$\Psi_w$ (MPa)	-0,66±0,08aA	-0,58±0,14aA	-0,74±0,11aA	-0,68±0,14aA
Déficit		-0,66±0,08aA	-1,62±0,28bB	-2,56±0,13bC	-2,86±0,54bD
Controle	CRA (%)	83,98±1,32aA	83,55±1,82aA	83,82±1,85aA	84,39±1,08aA
Déficit		83,90±1,08aA	74,25±1,80bB	66,70±1,84bC	52,79±1,66bD
Controle	A ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	2,84±0,45aA	2,89±2,06aA	3,28±1,93aA	2,37±1,35aA
Déficit		2,46±1,08aA	1,36±1,64bB	0,28±0,51bBC	0±0,13bC
Controle	$g_s$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	0,06±0,03aA	0,08±0,04aAB	0,09±0,03aA	0,05±0,03aB
Déficit		0,06±0,03aA	0,03±0,01bAB	0,01±0bB	0,01±0bB
Controle	$E$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	1,55±0,19aA	1,78±0,79aA	1,41±0,4aA	1,47±0,66aA
Déficit		1,55±0,19aA	0,91±0,39bAB	0,31±0,55bB	0,19±0,01bB

**Tabela 2.** Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST). Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis de massa seca. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.

Tratamentos	Variável	Tempo (dias)			
		0	10	20	30
Controle	MSPA (g/planta)	63,1±1,0aC	61,0±1,84aC	67,2±2,75aB	85,7±2,33aA
Déficit		63,1±1,0aA	51,4±1,68bB	44,4±1,33bC	39,5±2,49bD
Controle	MSR (g/planta)	20,2±1,65aB	21,7±0,75aB	21,0±1,78aB	25,0±1,36aA
Déficit		20,7±1,65aA	20,8±1,57aA	18,2±1,04bA	14,6±1,96bB
Controle	MST (g/planta)	83,9±1,84aB	82,8±1,57aC	88,2±1,72aB	110,7±2,6aA
Déficit		83,9±1,84aA	72,2±2,99bB	62,6±0,63bC	54,1±2,9bD

## CAPÍTULO 3- RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE ACAPÚ (*Vouacapoua americana* Aubl.) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

### RESUMO

A água é importante para os seres vivos, constituindo, em geral, cerca de 90% do peso das plantas; ela atua em, praticamente, todos os processos bioquímicos e morfológicos; é também responsável pela manutenção da turgescência atuando como reagente em várias importantes reações na planta. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do estresse hídrico sobre comportamento bioquímico das plantas jovens de acapú. O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de ciências agrárias (ICA), localizado em Belém- Pará, no período de janeiro de 2012 a julho de 2012. As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos [irrigado (controle) e déficit hídrico], sendo que o déficit hídrico foi obtido pela suspensão da irrigação. O tempo 1 (zero dias de déficit hídrico), o tempo 2 (10 dias de déficit hídrico), o tempo 3 (20 dias de déficit hídrico) e o tempo 4 (30 dias de déficit hídrico). Durante o período do experimento as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. O déficit hídrico induziu o aumento nas concentrações de amônio, sacarose, prolina e glicina betaina, assim como nos teores de aminoácidos solúveis totais, carboidratos solúveis totais, tanto nas folhas, quanto nas raízes, ocasionando o abaixamento do potencial hídrico na espécie. Por outro lado a falta de água provocou redução nas concentrações de nitrato, de glutamina sintetase, de amido, e das proteínas solúveis totais nos tecidos foliares e nas raízes. O estresse hídrico induziu expressivas alterações nas variáveis bioquímicas avaliadas. O déficit hídrico induziu o aumento nas concentrações de amônio, sacarose, prolina e glicina betaina, assim como nos teores de aminoácidos solúveis totais, carboidratos solúveis totais, tanto nas folhas, quanto nas raízes. Por outro lado a falta de água provocou redução nas concentrações de nitrato, da glutamina sintetase, do amido, e das proteínas solúveis totais nos tecidos foliares e das raízes.

**Palavras- chave:** Déficit hídrico, metabolismo do nitrogênio, substâncias osmorreguladoras

## CHAPTER 3- BIOCHEMICAL RESPONSES OF PLANT YOUNG ACAPU (*Vouacapoua americana* Aubl.) SUBMITTED TO WATER STRESS

### ABSTRACT

Water is important to living things, being in general around 90% of the weight of the plants; it operates in virtually all biochemical and morphological processes; it is also responsible for maintaining the swelling acting as a reagent in various important reactions in the plant. The aim of this study was to evaluate the influence of water stress on young plants of biochemical acapu behavior. The aim of this study was to evaluate the influence of water stress on young plants of biochemical acapu behavior. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal Rural University of Amazonia (UFRA) belonging to the Institute of Agricultural Sciences (ICA), located in Belém, Pará, from January 2012 to July 2012. The plants were subjected to two water regimes [irrigated (control) and drought], being that the water deficit was obtained by suspending irrigation. Time 1 (zero days of drought), time 2 (10 days of drought), time 3 (20 days of drought) and time 4 (30 days of drought). During the experimental period the control plants were irrigated daily to replace water lost by evapotranspiration. Drought induced an increase in the concentrations of ammonium, sucrose, proline and glycine betaine, as well as in total soluble amino acids, soluble carbohydrates in both leaves and root rot, causing the lowering of the water potential in the species. On the other hand the lack of water caused reduction in nitrate, glutamine synthetase, starch, and total soluble protein in the leaves and roots. Water stress induced significant changes in biochemical variables evaluated. Drought induced an increase in the concentrations of ammonium, sucrose, proline and glycine betaine, as well as in total soluble amino acids, soluble carbohydrates in both leaves and root rot. On the other hand the lack of water caused a reduction in nitrate, glutamine synthetase, starch, and total soluble protein in the leaves and roots.

**Keywords:** Water stress, nitrogen metabolism, substances osmorreguladoras

### 3.1- INTRODUÇÃO

Segundo Lorenzi, (2009) o acapú possui cerca de 15-30 m de altura, uma copa arredondada. Seu tronco é ereto e cilíndrico, com 50-90 cm de diâmetro, sem sapopemas basais, revestido por uma casca fina e quase lisa. É uma planta semidecídua, ciófita até heliófita, exclusiva da mata pluvial amazônica de terra firme, onde é medianamente freqüente, porém de dispersão irregular e descontínua.

A água é importante para os seres vivos, constituindo, em geral, cerca de 90% do peso das plantas, ela atua em, praticamente, todos os processos bioquímicos e morfológicos, é também responsável pela manutenção da turgescência atuando como reagente em várias importantes reações na planta, como a fotossíntese. Outra função relevante da água na planta é o seu papel na regulação térmica da planta, agindo tanto no resfriamento, como na manutenção e na distribuição do calor (FARIAS, 2005).

A assimilação do nitrogênio é um processo essencial, que controla o crescimento e o desenvolvimento das plantas e tem efeitos marcantes sobre a fitomassa e a produtividade final das culturas (LAM et al., 1996). O nitrogênio é bastante afetado pelo déficit hídrico, e é considerado um elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas e inúmeras enzimas (MIFLIN; LEA, 1976; HARPER, 1994; TAIZ; ZEIGER, 2013; KERBAUY, 2008). Em muitos sistemas de produção, a disponibilidade de nitrogênio é quase sempre um fator limitante, influenciando o crescimento da planta mais do que qualquer outro nutriente.

Os seres vivos são formados por uma enorme variedade de reações bioquímicas, e quase todas elas mediadas por uma série de extraordinários catalizadores biológicos conhecidos como enzimas. As enzimas aumentam a velocidade das reações químicas por meio da redução da barreira de energia livre que separa os reagentes dos produtos (VOET, et al., 2000). A redutase do nitrato (NR) é a enzima catalisadora da conversão do nitrogênio inorgânico na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) para a forma de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ). O nitrito formado é exportado para o cloroplasto e, posteriormente, transformado em amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) pela ação da nitrito redutase (SANCHEZ; HELDT, 1990). O amônio produzido é então incorporado em ácidos orgânicos, dando origem aos aminoácidos, a partir de reações subsequentes catalisadas pelas enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato sintetase (GOGAT). A enzima redutase do nitrato é altamente dependente do seu substrato, que é o nitrato, na falta de água no solo a

planta não absorve o nitrato, diminuindo a atividade dessa enzima e causando grandes prejuízos para a planta.

Segundo Ferreira (2002), alguns metabólitos nitrogenados, como o aminoácido prolina, tendem a acumular nos tecidos vegetais sob estresse hídrico, com objetivo de atuar no ajustamento osmótico das células. Como a assimilação do nitrogênio é reduzida sob condições de baixa disponibilidade de água no solo, supõe-se que tais compostos se originam da rotatividade de proteínas, é neste contexto, que as enzimas envolvidas na incorporação de amônia à compostos orgânicos, os quais podem agir como precursores para diferentes metabólitos, podem ter importante papel na sobrevivência de plantas durante o déficit hídrico.

De acordo com Voet et al., (2000), os aminoácidos comuns são conhecidos com  $\alpha$ -aminoácidos porque possuem um grupo amino primário ( $-\text{NH}_2$ ) e um grupo carboxílico ( $-\text{COOH}$ ) como substituintes do mesmo átomo de carbono. A única exceção é prolina, que possui um grupo amino secundário ( $-\text{NH}-$ ).

As proteínas são componentes estruturais essenciais das células e estão no centro da ação dos processos biológicos, exercem também funções regulatórias, controlando as condições intracelulares e extracelulares, mandando ainda, informações para outros componentes da célula. Praticamente todas as transformações moleculares que definem o metabolismo celular são mediadas pela catálise proteica (VOET et al., 2000).

Os carboidratos são as moléculas biológicas mais abundantes, eles são quimicamente mais simples do que os nucleotídeos ou os aminoácidos, contendo apenas três elementos, carbono, hidrogênio e oxigênio, combinados de acordo com a fórmula  $(\text{CH}_2\text{O})_n$  (VOET, et al., 2000). A concentração de carboidratos solúveis totais (sacarose, frutose e glicose principalmente) e insolúveis (amido) nos tecidos, para uso na manutenção e crescimento destes, é considerada como reguladora tanto da fotossíntese quanto da respiração (FARRAR, 1993). A concentração de açúcares no citoplasma (controlada pela demanda em outros tecidos) visa regular a taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  e/ou a síntese ou hidrólise do amido, ambos no cloroplasto (LEGGOD, 1996).

Com a desidratação, há uma diminuição do conteúdo de amido na célula, ocorrendo a redução na fotossíntese, e aumento de açúcares solúveis (ROSSIELLO et al., 1981b; PIMENTEL, 1999), devido a paralisação no crescimento celular e na síntese de sacarose (VASSEY; SARKEY, 1989) para exportação.

Devido a fatores climáticos e de degradação do meio ambiente a disponibilidade hídrica tem sido um grande problema para o desenvolvimento das plantas, principalmente em áreas desmatadas. Diante do exposto esse trabalho objetivou avaliar a influência do estresse hídrico sobre comportamento bioquímico das plantas jovens de acapú.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local e condução experimental

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pertencente ao Instituto de ciências agrárias (ICA), localizado em Belém-Pará, no período de novembro de 2011 a julho de 2012.

As mudas de acapú (*Vouacapoua americana* Aubl.), foram cedidas pela Embrapa Amazônia Oriental, com aproximadamente três meses de idade, medindo 30 cm de altura, e uma média de 10 folhas, 70 folíolos e 4 cm de diâmetro. As sementes foram coletadas no parque Ecológico de Gunma localizado no município de Santa Bárbara – PA. Essas plantas foram aclimatadas durante 2 meses em casa de vegetação. Após este período, as plantas de acapú foram selecionadas uniformemente considerando altura, diâmetro do caule, número de folhas e número de folíolos sendo transplantadas para vasos com 30cm de altura por 30cm de diâmetro, com capacidade para 28kg de substrato.

Cada vaso foi completamente cheio com substrato, sobre uma camada de 0,02 m de pedras britadas para facilitar a drenagem do solo. O substrato utilizado para o crescimento das plantas foi uma mistura de 3:1:1 (v:v:v), solo arenoso superficial, cama de aviário e húmus de minhoca. Antes do transplantio foram feitos testes para verificar a capacidade de campo dos vasos. O processo de calagem para a correção do pH do solo e suplementação de macro e micronutrientes foram feitos com base em análises química do substrato, aplicando-se solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950).

Antes de serem submetidas aos tratamentos, todas as plantas jovens de acapú foram irrigadas diariamente durante 6 meses para mantê-las na capacidade de campo e para aclimatá-las às condições ambientais do experimento, sendo efetuada a pesagem do conjunto vaso/planta periodicamente, para reposição da água evapotranspirada, conforme diferença de peso.

As plantas foram submetidas a dois regimes hídricos: irrigado (controle) e déficit hídrico, no qual a imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação no período de 30 dias, sendo o tempo 1 (zero dias de déficit hídrico), o tempo 2 (10 dias de déficit hídrico), o tempo 3 (20 dias de déficit hídrico) e o tempo 4 (30 dias de déficit hídrico). Durante o período das análises, as plantas controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. Fez-se também o controle de plantas daninhas

manualmente. Não foi observada ocorrência de deficiência nutricional, bem como o ataque de pragas e patógenos.

### **3.2.2- Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 (duas condições hídricas: controle e déficit hídrico, e quatro tempos de avaliação), com 5 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foi aplicada a análise de variância nos resultados e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Além disso, foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa ASSISTAT Versão 7.7 beta preconizado por Silva (2013).

### **3.2.3- Coleta das plantas**

Foram feitas quatro coletas destrutivas, sempre às 9:00 h da manhã; as plantas foram separadas em parte aérea e sistema radicular. Após as medições de massa fresca, as partes foram levadas para a estufa de circulação forçada de ar à 70°C por 72 horas); depois de seco, o material foi levado à balança analítica para a obtenção da massa seca de suas partes; e posteriormente foram separadas amostras secas de cada parte, moidas em moinho do tipo willey para preparo de pó fino, e armazenados em frascos hermeticamente fechados e colocados em um dessecador até o momento de serem usados nas análises bioquímicas.

### **3.2.4- Determinações das variáveis bioquímicas**

#### **3.2.4.1- Concentrações de nitrato**

Foram adicionados 100 mg de massa seca do tecido vegetal em tubos de ensaio com rolha de borracha contendo 5 mL de água destilada e colocadas para ferver em banho-maria a 100 °C por 30 minutos. Em seguida, os tubos foram colocados por alguns minutos para resfriar, até atingirem a temperatura ambiente, posteriormente, centrifugados, a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado em tubo de ensaio e o precipitado foi ressuspensido com outros 5 mL de água destilada, sendo repetido o procedimento da extração anterior. Em

seguida, os extratos foram coletados em um tubo de ensaio graduado e o volume foi completado com água destilada até atingir 10 mL. Os extratos obtidos foram congelados para posterior análise.

O método utilizado foi o de Cataldo et al., (1975), sendo os valores das alíquotas reduzidos para ¼ dos mencionados por esses autores. A reação foi preparada em tubo de ensaio, contendo 100 µL do extrato e 200 µL de solução de ácido salicílico 5% (p/v), marca Sigma, em ácido sulfúrico concentrado p.a. (Merck). Após agitação, em agitador de tubos tipo vortex. Esses tubos foram deixados à temperatura ambiente, por 20 minutos. Em seguida, lentamente, 4700 µL de NaOH 2M foram adicionados sob agitação para atingir o pH acima de 12. Após repouso à temperatura ambiente durante 15 minutos, as leituras foram feitas em espectrofotômetro a 410nm, usando água destilada + reagentes, como branco. A concentração de  $\text{NO}_3^-$  foi determinada a partir da curva padrão com  $\text{KNO}_3$  p.a (Sigma) e os resultados foram expressos em mmoles de  $\text{NO}_3^-$  / Kg MS de tecido.

### 3.2.4.2- Concentrações de amônio livre

O método utilizado foi o de Weatherburn (1967). 50 mg de massa seca (MS) foram transferidas para tubos de ensaio de 15 mL, adicionando-se 5 mL de água destilada e levados ao banho-maria por 30 min a 100° C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total. Em tubos de ensaio foi acrescentado 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 agitado em vortex e 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 mesmo tubos ao banho-maria por 20 min a 37° C. Após removidos os tubos do banho-maria foram deixados em repouso por 40 min e levados para fazer a leitura no espectrofotômetro a 625 nm e usando-se água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes como branco. As concentrações de amônio livre foi estimada a partir da curva-padrão construída com  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mmol de  $\text{NH}_4^+$  / Kg de MS.

### **3.2.4.3- Atividade de glutamina sintetase (GS)**

A massa seca dos tecidos vegetais foram maceradas em almofariz resfriados com nitrogênio líquido (- 196° C). Adicionou-se 0,2 mg de folhas da massa seca moída em 5 mL da mistura (2mL + 2 mL + 1mL/ 2 minutos cada) de tampão de extração TRIS-HCl 25 mM, pH=7,6, contendo : 10 mM de MgCl<sub>2</sub> . 6 H<sub>2</sub>O + 10 mM de β-2-mercaptoetanol + P.V.P. 5% (p/v) + 5 mM de EDTA-Na. Após trituradas, foram filtradas em pano fino de seda e centrifugadas à 30.000 g (21.000 rpm), em centrífuga refrigerada à 0° - 4° C ,pôr 30 minutos. O sobrenadante foi congelado para posterior análise.

A atividade de GS foi determinada pelo método de Kamachi et al., (1991). A reação foi preparada, em tubo de ensaio, com 600 μL de tampão de reação TRIS-HCl 0,25 M, pH=7 + 200 μ L de glutamato de sódio 0,3 M, pH=7 + 200 μ L de ATP 30 mM, pH=7 + 200 μ L de Mg SO<sub>4</sub> . 7 H<sub>2</sub>O 0,5 M + 500 μ L de extrato de folhas + 200 μ L de solução de hidroxilamina (NH<sub>2</sub> OH 1,0 M + NaOH 1,0 M, na proporção 1:1). Após, misturados rigorosamente, em agitador de tubos, tipo vortex e incubados em “banho-maria”, à 30 ° C, por 30 minutos. Em seguida, retiraram-se os tubos do “banho-maria” e adicionaram-se 500 μ L de solução férrica [ FeCl<sub>3</sub> . 6 H<sub>2</sub>O 10 % (p/v) em HCl 0,2 M + ácido tricloroacético (T.C.A.) 24 % (p/v) + HCl 50 % (v/v), na proporção 1:1:1 ]. Centrifugou-se, em centrífuga de mesa a 7.000 g, pôr 10 minutos. A leitura foi feita em espectrofotômetro à 540 nm , usando-se água “milli-Q + reagentes ( exceto solução de hidroxilamina) , como branco. A atividade da glutamina sintetase (GS), foi determinada a partir da curva padrão de γ-glutamil-hidroximato e os resultados foram expressos μmoles de γ-glutamil-hidroximato / g MS e μmoles de γ-glutamil-hidroximato / mg de Proteínas.

### **3.2.4.4- Carboidratos solúveis totais**

Foi utilizado o método descrito por Dubois, et al. 1956. Transferiu-se 50 mg de massa seca (MS) para tubos de ensaio de 15 mL, adicionar 5 mL de água destilada e levou-se ao banho-maria por 30 min a 100° C; Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total. Em tubos de ensaio colocou-se 100 μL do sobrenadante (realizar teste de diluição) + 400 μL de H<sub>2</sub>O e agitar em vortex. Adicionou-se 0,5 mL de fenol 5% e agitar em vortex. Adicionou-se uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Os tubos foram agitados em vortex.

### 3.2.4.5- Concentrações de amido

O método utilizado foi o de Dubois et al., (1956). Do resíduo da extração etanólica (50 mg/ 5,0 mL de etanol 80%, 30 min a 80° C) da massa seca moída das folhas e das raízes foi feita uma nova extração com 5,0 mL de HClO<sub>4</sub> 30% por 30 min a 25° C. Após a primeira extração, centrifugou-se (2000 rpm por 10 min) as amostras e coletou-se o sobrenadante. Em seguida, foi realizada uma nova extração nas mesmas condições, centrifugando e coletando os sobrenadantes. Os sobrenadantes foram unidos e aferidos ao volume para 10 mL com água destilada para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram colocados 100 µL do sobrenadante + 400 µL de H<sub>2</sub>O e agitou-se em vortex, adicionando-se 0,5 mL de fenol 5% e agitando no vortex, logo depois foi adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e novamente agitado os tubos em vortex e levado após 20 min de repouso ao espectrofotômetro a 490 nm. Para o cálculo das concentrações de amido utilizou-se uma curva-padrão de glicose e os resultados mmol de glicose/g de resíduo.

### 3.2.4.6- Concentrações de sacarose

A determinação das concentrações de sacarose foi feita através do método descrito por Van Handel (1968). Foi colocada 30 mg de massa seca e homogeneizadas em 1,5 mL de solução de MWC (metanol, clorofórmio e água; 12:5:3 v/v/v), durante 30 minutos sob agitação em tubos de eppendorf de 2,0 mL. O homogeneizado foi centrifugado a 10000 rpm por 10 min, coletou-se o sobrenadante, e o resíduo foi novamente extraídos com igual volume de MCW, seguindo-se uma nova centrifugação e coleta do sobrenadantes, onde os mesmo foram reunidos para obtenção do extrato total.

A cada 2,0 mL do sobrenadante foi adicionado 0,5 mL de clorofórmio e 750 µL de água deionizada, seguindo-se sob agitação e centrifugação (2000 rpm, 10') para a separação da fase aquosa. Após esse processo foi retirada com uma pipeta de Pasteur a fração aquosa metanólica (superior) e transferido para tubos de ensaio, a partir daí os tubos com a fração aquosa metanólica foram levados ao banho-maria para serem aquecidos a 35°C por 30' ou 1h para evaporação do clorofórmio residual e então foi determinado o volume restante.

Da fase aquosa metanólica obtida anteriormente foram tomadas alíquotas para as dosagens de sacarose segundo Van Handel, com algumas modificações:

A cada alíquota de 100 µL da fase aquosa adequadamente diluída (fazer teste de diluição) adicionou-se 100 µL de KOH 30% seguido de agitação, aquecendo a mistura a 100°C por 10 min e, após resfriamento, adicionou 3,0 mL de solução de antrona 0,2 % em ácido sulfúrico e a mistura ficou sob agitação e aquecida a 40°C por 20 min respectivamente. Após resfriamento, as amostras foram agitadas por 10 segundos e foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 620 nm. Para os cálculos, uma curva padrão de sacarose foi preparada e os resultados foram expressos em mg de sacarose/ g MS. Os resultados foram expressos mmol de GLU/ g MS.

### **3.2.4.7- Glicina-Betaína**

Foi utilizado o método descrito por Grieve e Grattan (1983). Transferiu-se 25 mg de massa seca (MS) em estufa para tubos eppendorfs de 2 mL, adicionou-se 2 mL de água destilada e agitou-se por 4 h no shacker a 25°C (extração a frio); Centrifugou-se a 10.000 rpm por 10 min a 25° C; Após a centrifugação coletou-se o sobrenadante para obtenção do extrato aquoso e depois descartaou-se o precipitado.

Em eppendorfs de 2 mL adicionou-se 250 µL do extrato aquoso + 250 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N (diluição da amostra 1:2); Os eppendorfs permaneceram durante 1h no banho de gelo (na geladeira - de 0° a 4° C); Em seguida, adicionou-se 200 µL de KI-I<sub>2</sub> gelado; Foram mantidos durante 16h a 0°C (banho de gelo na geladeira - 0° a 4°C); Centrifugados durante 15 min, 10.000 rpm, 0°C. Descartou-se o sobrenadante; Lavou-se o precipitado 2 vezes com 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N gelado com centrifugações por 5 min, 10.000 rpm, 0°C a cada lavagem (não agitau-se durante a lavagem); Após as lavagens, dissolveu-se o precipitado em 3 mL de 1,2-dicloroetano agitando vigorosamente; Realizou-se diluições 1:6 (diluição para a curva) e testou-se outras maiores (1:12, 1:24 ou 1:48 para as amostras - a diluição dependeu da quantidade de glicina-betaína precipitada); Após 2 a 2,5 h de descanso, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 365 nm. Durante todo o ensaio mantiveram-se as amostras entre as temperaturas de 0°C a 4°C. Os resultados foram expressos mg de glicina betaína/g MS.

### **3.2.4.8- Proteínas solúveis totais**

Foi utilizado o método descrito por Bradford, 1976. Em tubos de ensaio de 15 mL adicionou-se 100 mg de massa seca (MS) e depois 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25 mM pH 7,6). Em seguida, deixou-se sob agitação durante 2 horas no shacker com os tubos

devidamente lacrados. Após a extração, centrifugou-se os tubos em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 min) e coletou-se o sobrenadante para dosagem das proteínas solúveis. Em tubos de ensaio adicionou-se 100 µL da amostra ou ponto de diluição (no caso da curva padrão) + 2,5 mL do reagente de Bradford. Em seguida agitou-se os tubos manualmente e delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Após 15 min realizou-se as leituras a 595 nm, contra o branco que encerra 100 µL de água + 2,5 mL do reagente de Bradford. Os resultados foram expressos em mg proteína/ g MS.

### **3.2.4.9- Teores de aminoácidos solúveis totais**

Foi utilizado o método de Peoples et al., 1989. Transferiu-se 50 mg de massa (MS) para tubos de ensaio de 15 mL, adicionou-se 5 mL de água destilada e levou-se ao banho-maria por 30 min a 100° C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes foram coletados para obtenção do extrato total. Em tubos de ensaio adicionou-se alíquotas de 100 µL do extrato (se necessário realizar diluição) + 400 µL de água destilada; Em seguida, acrescentou-se 250 µL do tampão citrato 0,2 M pH 5,0 e 250 µL do reagente de ninhidrina. Após terem sido bem misturados em vortex, os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em banho-maria por 15 min à temperatura de 100° C; Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo e acrescentou-se 1,5 mL de etanol 50% (V/V). Após, os tubos permaneceram por 20 min em temperatura ambiente e em seguida realizou-se as leituras em espectrofotômetro a 570 nm. Os resultados foram expressos µmol de AA/ g MS.

### **3.2.4.10- Prolina**

Foi utilizado o método descrito por Bates et al., 1973. Transferiu-se 50 mg de massa seca (MS) para tubos de ensaio de 15 mL, adicionou-se 5 mL de água destilada e levou-se ao banho-maria por 30 min a 100° C. Após a extração, as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total. Em tubos de ensaio foram colocados 1,0 mL do sobrenadante + 1,0 mL de ninhidrina ácida + 1,0 mL de ácido acético glacial (os tubos foram fechados hermeticamente); Agitou-se os tubos hermeticamente fechados em vortex. Colocou-se em banho-maria a 100° C por 1 hora. Após 1 hora, interrompeu-se a reação em banho de gelo. Adicionou-se 2,0 mL de tolueno e agitar vigorosamente em vortex por 20 segundos (o tolueno extraia a substância cromófora

formando um complexo colorido = róseo para vermelho). Esperou-se atingir a temperatura ambiente. Aspirou-se com o auxílio de uma pipeta Pasteur de plástico a fase não-aquosa (cromóforo + tolueno = parte superior). A leitura foi feita em espectrofotômetro a 520 nm usando tolueno como branco. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol PRO}/1,0 \text{ mL alíquota}$ .

## RESULTADOS E DICUSSÃO

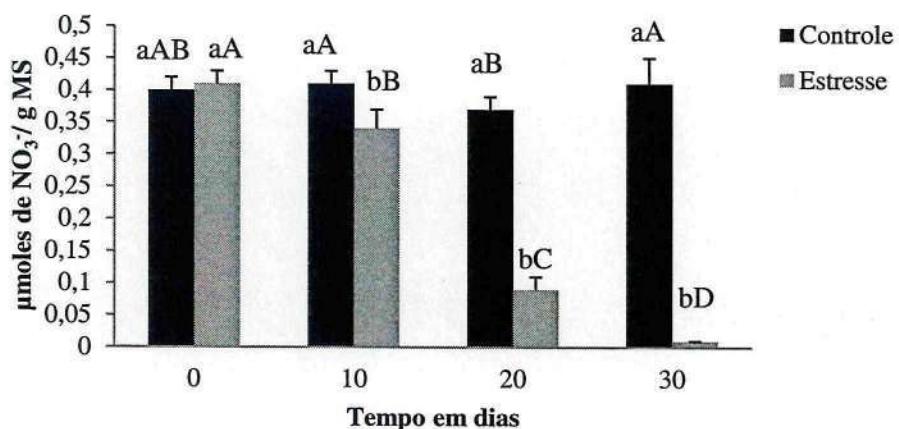
### 3.3.1- Concentrações de nitrato

Os resultados mostram que a concentração de nitrato diminuiu consideravelmente nas folhas e nas raízes das plantas submetidas ao estresse hídrico (Figuras 9 e 10), ocorrendo diferença significativa ao longo do experimento. Os valores encontrados para as folhas foram 0,40; 0,34; 0,09 e 0,01 µmoles de  $\text{NO}_3^-$ / g MS para os tempos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse hídrico, respectivamente. E para as raízes os menores valores também foram para o 20º e 30º dia, 0,07 e 0,02 µmoles de  $\text{NO}_3^-$ / g MS respectivamente. A média dos valores nas plantas controle foi de 0,39 µmoles de  $\text{NO}_3^-$ / g MS nas folhas e de 0,57 µmoles de  $\text{NO}_3^-$ / g MS nas raízes.

O nitrato é a principal forma de nitrogênio absorvida do solo pelas plantas, seguido do amônio. A diminuição gradativa de água no solo promoveu a diminuição da absorção de nitrato do solo pelas raízes e consequentemente diminuiu o transporte deste para as folhas através da corrente transpiratória (xilema), diminuindo também a atividade da enzima redutase do nitrato que é altamente dependente do seu substrato que é o  $\text{NO}_3^-$  (SHANER; BOYER, 1976). Segundo Coll et al., (2001) o transporte majoritário do nitrato ocorre através do xilema até os órgãos superiores da planta, onde acontece o processo de redução e assimilação do nitrato.

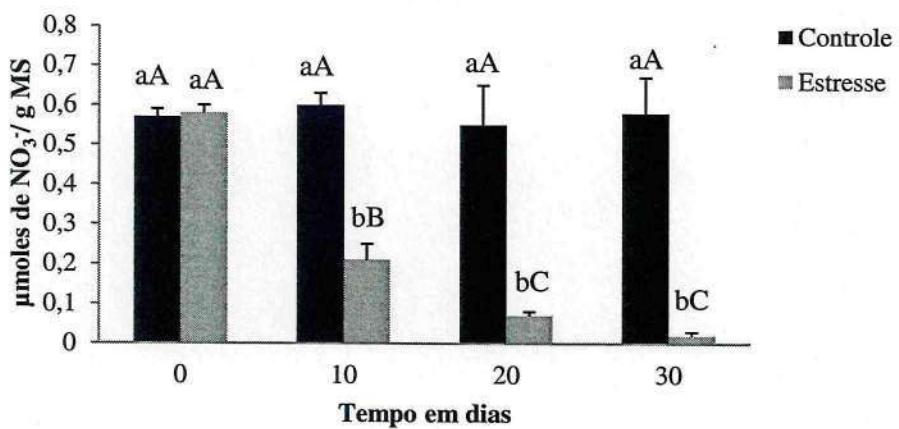
Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira Neto, (2010) em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento, que observou diminuição da concentração de nitrato nas folhas e nas raízes sob deficiência hídrica.

### CONCENTRAÇÕES DE NITRATO NAS FOLHAS



**Figura 9.** Concentrações de nitrato em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE NITRATO NAS RAÍZES



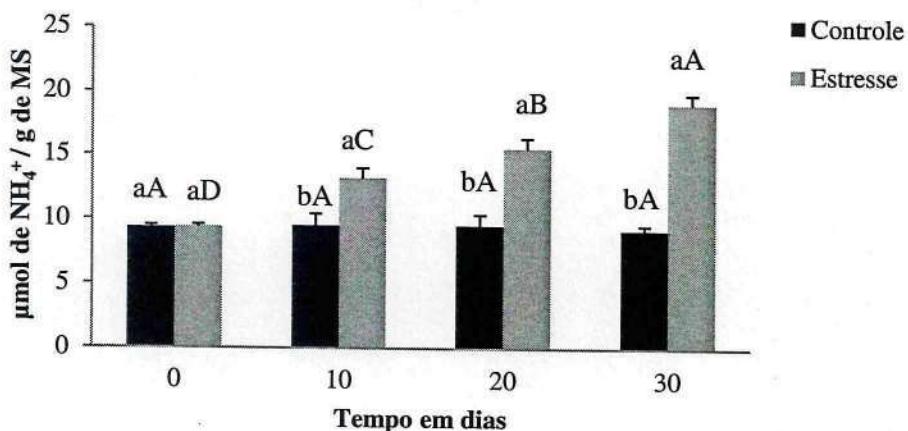
**Figura 10.** Concentrações de nitrato em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.3.2- Concentrações de amônio livre

Foi observado aumento significativo na concentração de amônio tanto nas folhas, quanto nas raízes de acapú entre os regimes hídricos, e conforme a intensidade do tempo de estresse hídrico foi aumentando, embora nas raízes esse aumento significativo tenha ocorrido somente aos 20 e 30 dias de déficit hídrico (Figuras 11 e 12). Os valores para as folhas durante a supressão da irrigação foram de 9,39; 13,19; 15,51 e 19,02  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+$  / g de MS para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse, respectivamente, e para as plantas sob controle a média dos resultados nas folhas foi de 9,39  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+$  / g de MS. Nas raízes a concentração de amônio nas plantas mantidas sob controle foi de 20,26  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+$  / g de MS e os valores nas raízes das plantas sob deficiência hídrica foi de 20,26; 21,27; 21,27 e 35,36  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4^+$  / g de MS para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. O déficit hídrico pode ter induzido outras rotas de formação de amônio livre, através dos quais pode ter ocorrido um acréscimo desse íon induzido pela quebra das proteínas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Segundo Zhou et al., (2004) as enzimas que assimilam o amônio, como a glutamina sintetase, são afetadas pelo estresse hídrico, promovendo maior concentração dos íons amônio nos tecidos, Ferreira et al., (2002), aponta a fotorrespiração como uma das rotas da formação do  $\text{NH}_4^+$ .

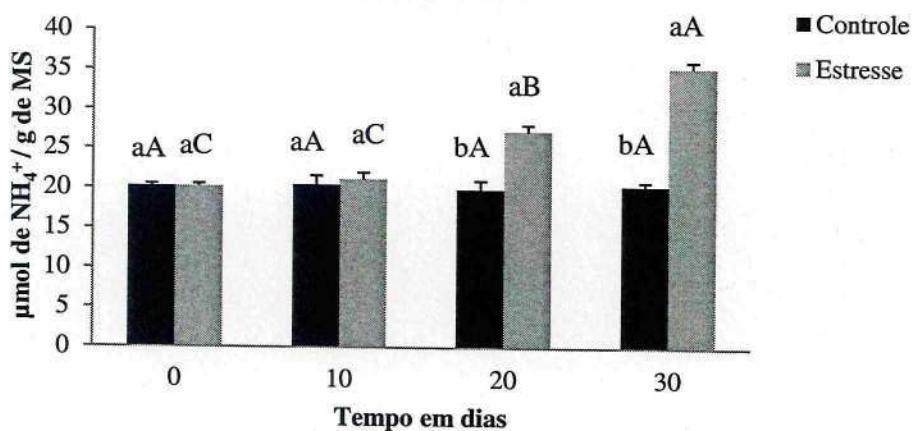
Para Oliveira Neto (2010) a elevação na concentração de amônio também ocorre devido a possível redução da fotossíntese, visto que esta mantém o metabolismo do nitrogênio através do fornecimento de energia (ATP) e pela formação de poderes redutores (NADPH, FADH e NADH), como observado nesse trabalho (Figura 3). Alves (2010) trabalhando com plantas jovens de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) em condições de déficit hídrico e alagamento, observou um acréscimo na concentração de amônio livre de 31, 7% nas folhas e de 44,7% nas raízes dessa espécie quando submetidas à falta de água no solo.

### CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIO LIVRE NAS FOLHAS



**Figura 11.** Concentrações de amônio livre em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIO LIVRE NAS RAÍZES



**Figura 12.** Concentrações de amônio livre em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

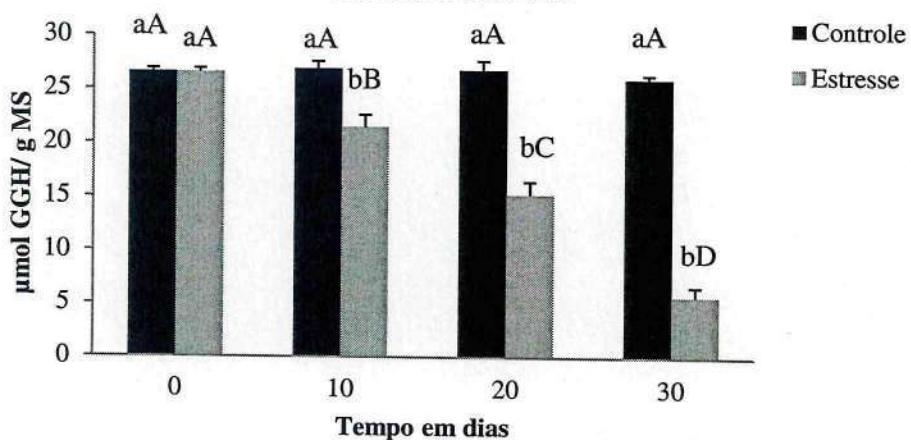
### 3.3.3- Atividade da glutamina sintetase

A atividade de glutamina sintetase (GS) apresentou redução significativa nas plantas submetidas ao déficit hídrico, tanto nas folhas, quanto nas raízes, ao longo do experimento (Figuras 13 e 14). Os valores de atividade da GS para as folhas foram 26,59; 21,49; 15,31 e 5,77  $\mu\text{mol GGH/gMS}$ , para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse respectivamente, ao passo que, a média da atividade da GS nas folhas das plantas irrigadas foi de 26,59  $\mu\text{mol GGH/gMS}$ . Já nas raízes os valores foram de 24,72; 18,12; 12,35 e 5,05  $\mu\text{mol GGH/gMS}$  para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico respectivamente, contra a média de 24,67  $\mu\text{mol GGH/gMS}$  nas raízes das plantas controle.

Possivelmente, a redução da atividade dessa enzima está relacionada com a diminuição da fotossíntese, visto que o ATP e o poder redutor sintetizados durante a etapa fotoquímica influenciam na assimilação do  $\text{NO}_3^-$ , do  $\text{NH}_4^+$  e dos aminoácidos no interior dos cloroplastos (KERBAUY, 2008). No metabolismo do nitrogênio a enzima GS catalisa a conversão do aminoácido glutamato em glutamina por meio da reação que envolve a participação de glutamato, amônio, ATP (MCNALLY et al., 1983). Segundo Edwards e Coruzzi (1989) uma das formas da GS, é induzida pela luz e participa no processo de utilização do  $\text{NH}_4^+$  na fotorrespiração. Para Ferreira et al., (2002) a GS precisa de amônio como substrato, e esse  $\text{NH}_4^+$  possivelmente vem de outras rotas metabólicas como a fotorrespiração a partir da oxidação da glicina, das desaminações, do catabolismo das proteínas e da síntese de lignina.

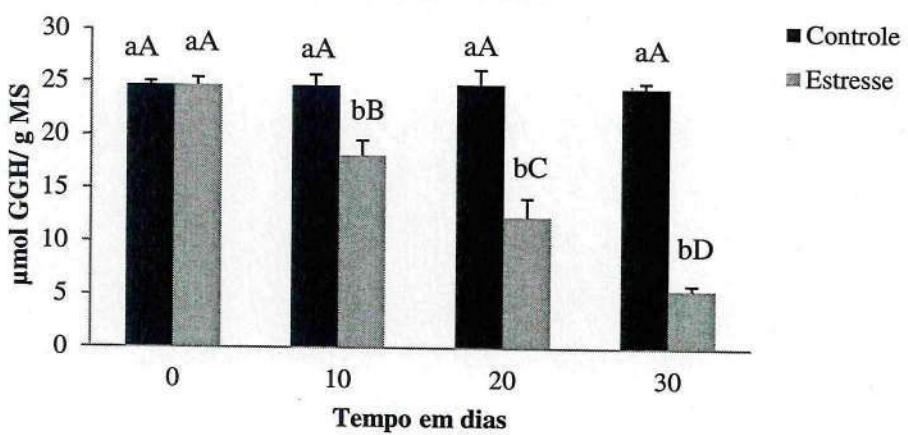
Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira (2013) que mostrou redução na atividade da GS em folhas e raízes de plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) sob deficiência hídrica no solo, em casa de vegetação. Oliveira Neto et al., (2009), trabalhando com sorgo (*Sorghum bicolor* L.), em casa de vegetação, também observou que a atividade da GS diminuiu nas plantas sobre estresse hídrico.

### ATIVIDADE DA GLUTAMINA SINTETASE NAS FOLHAS



**Figura 13.** Atividade da glutamina sintetase em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### ATIVIDADE DA GLUTAMINA SINTETASE NAS RAÍZES



**Figura 14.** Atividade da glutamina sintetase em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.3.4- Concentrações de amido

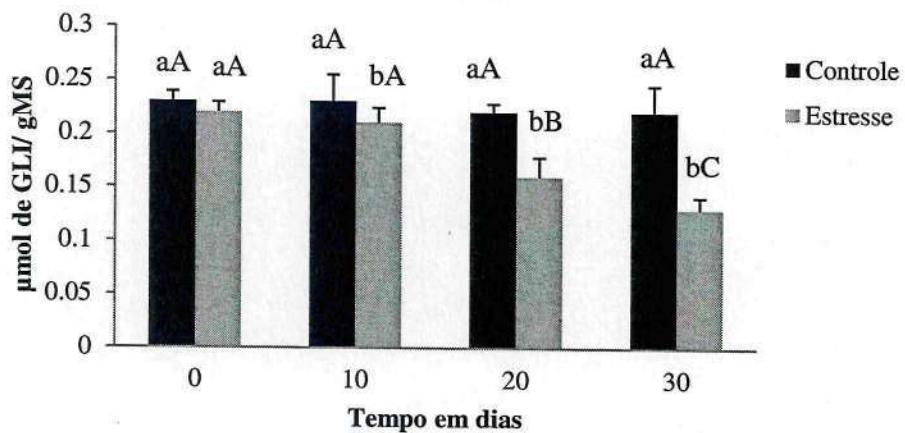
A concentração de amido nas folhas diminuiu significativamente entre os regimes hídricos, e também entre os dias de déficit hídrico, embora o tempo de 10 dias não tenha diferido estatisticamente do tempo com 0 dias. As concentrações mais baixas ocorreram com 20 e 30 dias, 0,164 e 0,134 µmol de GLI/ gMS, respectivamente, já as concentrações de amido nas plantas mantidas irrigadas não apresentaram diferença estatística entre os tempos (figura 15). Comportamento semelhante foi observado nas raízes, onde os níveis de amido também apresentaram significativa redução ao longo do experimento. Os menores valores observados foram no tempo 3 (20 dias) e no tempo 4 (30 dias) de, 0,05 e 0,02 µmol de GLI/ gMS, respectivamente (figura 16). Já a média das plantas hidratadas foi de 0,22 µmol de GLI/ gMS nas folhas e de 0,13 nas raízes µmol de GLI/ gMS.

A diminuição dessa concentração ocorre porque há diminuição da fotossíntese e um aumento da degradação do amido pelas enzimas  $\alpha$  e  $\beta$  amilase, formando novos açúcares, com o intuito de fazer um ajustamento osmótico nas células. Para Melo et al., (2007) a redução na concentração de amido, pode ser um indicativo de consumo destes açúcares para a manutenção da sobrevivência das plantas. Esses resultados corroboram com o trabalho de Paula et al., (2013) envolvendo plantas de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) em dois períodos de amostragem, seco e chuvoso, onde houve redução de 30% na média dos teores de amido nas folhas analisadas durante o período seco em comparação as analisadas no período chuvoso.

De acordo com Zeeman, Kossmann e Smith (2010), a concentração de amido nas folhas é maior do que nas raízes, porque uma parte do carbono assimilado na fotossíntese é retido nos cloroplastos na forma de amido, ao invés de ser convertido em sacarose para exportação para os sítios de crescimento. Nas raízes possivelmente ocorre uma diminuição do fluxo dos fotoassimilados das folhas para as mesmas, já que durante a falta de água no solo há uma redução do potencial de pressão positiva no floema (KERBAUY, 2008).

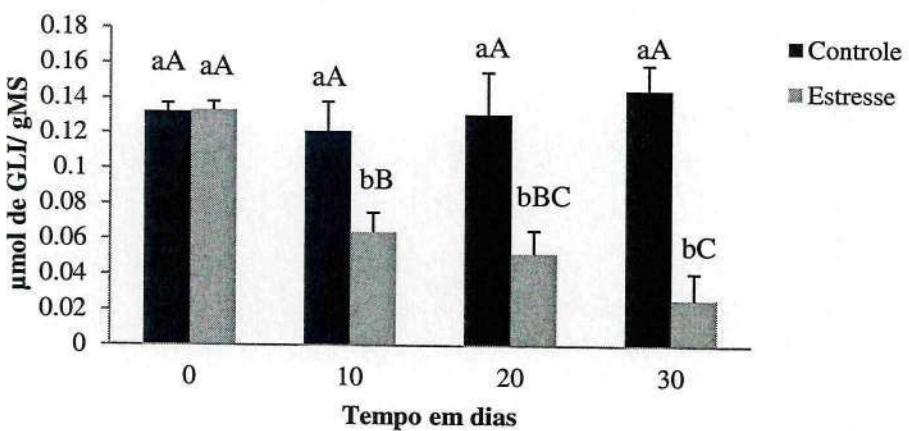
Grisi (2006) trabalhando com mudas de café (*Coffea arabica* L.) Siriema e Catuaí submetidas ao déficit hídrico observou uma diminuição na concentração de amido nessas espécies, aos quatro e seis dias de supressão de água.

### CONCENTRAÇÕES DE AMIDO NA FOLHAS



**Figura 15.** Concentrações de amido em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE AMIDO NAS RAÍZES



**Figura 16.** Concentrações de amido em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.3.5- Concentrações de carboidratos solúveis totais

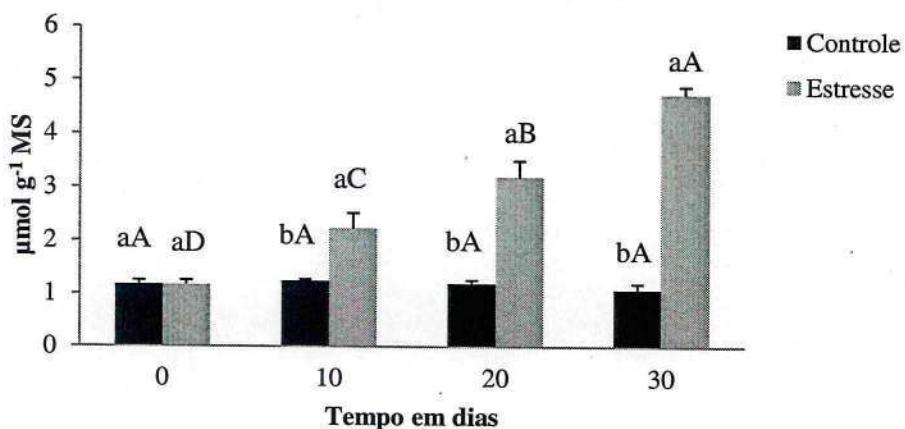
O aumento dos dias de déficit hídrico afetou a concentração de carboidratos solúveis totais nas folhas e nas raízes, promovendo acréscimo significativo no conteúdo dessa substância em ambas as partes, tanto em relação aos regimenes hídricos, como em relação aos tempos de estresse, como mostram as Figuras 17 e 18. Os valores obtidos para as folhas das plantas estressadas no tempo de 0, 10, 20 e 30 dias respectivamente, foram de 1,72; 2,23; 3,19; e 4,73  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS, havendo diferença estatística entre todos os tratamentos. Nas raízes a concentração de carboidratos solúveis totais apresentou o mesmo comportamento das folhas, onde os valores para os tempos com 0, 10, 20 e 30 dias foram 0,93; 1,58; 2,43 e 3,56  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS, respectivamente. Já nas plantas controle a média na concentração de carboidratos solúveis totais foi de 1,17  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS nas folhas e 0,92  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS nas raízes.

Isso ocorre porque essa substância é responsável pelo ajuste osmótico das plantas, sendo muito importante para a manutenção da turgescência celular (SALISBURY; ROSS, 2012). Esses resultados corroboram com os encontrados por Castro et al., (2007) que observaram aumento de 323,15% na concentração de carboidratos solúveis totais, em plantas de teca (*Tectona grandis* L. f.) submetidas a 9 dias de estresse hídrico. De acordo com Kramer (1995), a deficiência hídrica exerce importante influência no teor de carboidratos em diversas espécies vegetais. Nas plantas sob déficit hídrico, o amido é degradado nos tecidos que o acumulam, e a redução na concentração de amido é uma consequência da atividade da enzima amilase, que é acompanhada por um aumento da concentração de açúcares solúveis redutores. Na maioria das plantas, a sacarose é o principal açúcar exportado dos locais de síntese (folhas) para as regiões de consumo (caule, gemas vegetativas, raízes e órgãos reprodutivos) onde será utilizada para o crescimento e/ou armazenamento. Segundo Kingston-Smith et al., (1999) as hexoses liberadas a partir da hidrólise da sacarose podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos, além de fornecerem açúcares redutores para o ajustamento osmótico. Dentre as enzimas que participam dessa hidrólise, as invertases geralmente são mais ativas, do que a sacarose sintase.

Oliveira Neto (2010) trabalhando com plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento, em casa de vegetação, encontrou resultados semelhantes, onde houve um acréscimo significativo nas concentrações de carboidratos tanto nas folhas, quanto nas raízes em plantas sob déficit hídrico. Para ele esse aumento na concentração de carboidratos provavelmente também está relacionado com a

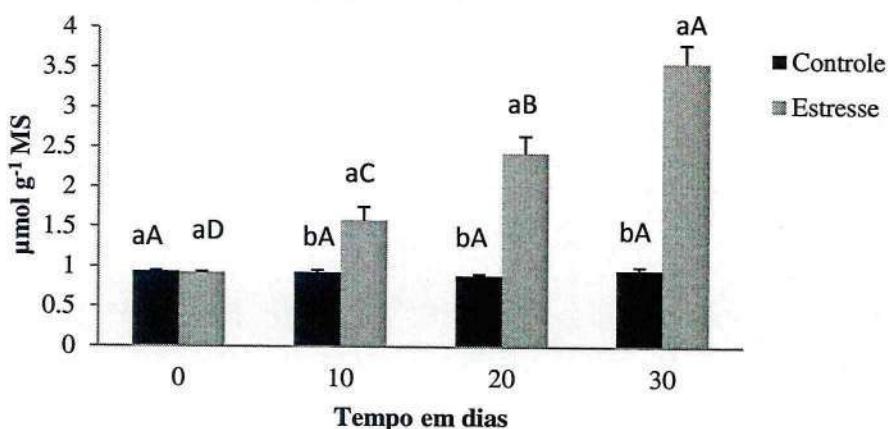
proteção da biomembrana que pode ser degradada com a diminuição ou ausência de H<sub>2</sub>O no citosol, e pelo acréscimo de substâncias iônicas, tornando várias enzimas inativas no citosol.

### CONCENTRAÇÕES DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS NAS FOLHAS



**Figura 17.** Concentrações de carboidratos solúveis totais em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS NAS RAÍZES



**Figura 18.** Concentrações de carboidratos solúveis totais em raízes de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

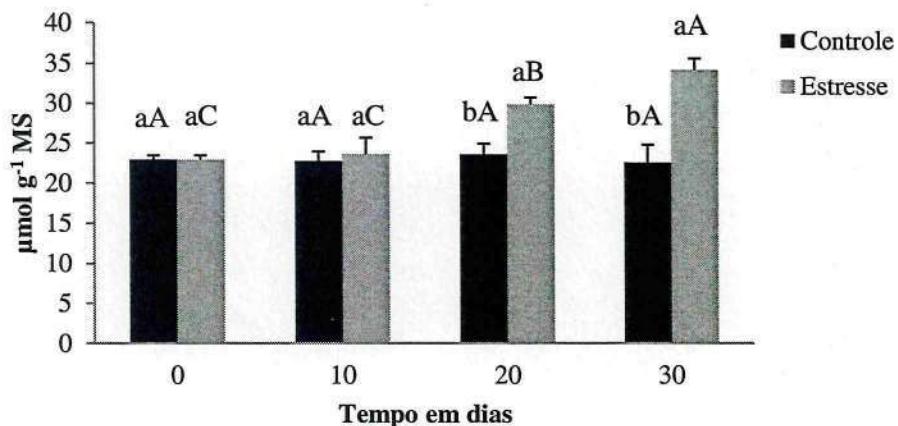
### 3.3.6- Concentrações de sacarose

A concentração de sacarose nas folhas e nas raízes aumentou de acordo o tempo de déficit hídrico, porém houve diferença estatística entre os regimes hídricos, apenas no 20º e no 30º dia de estresse, tanto nas folhas, como nas raízes. O mesmo ocorreu entre os tempos de estresse, havendo diferença significativa a partir do 20º e do 30º dia, em ambas as partes da planta (Figuras 19 e 20). Os valores aos 20 dias e aos 30 dias para as folhas foram respectivamente 29,83 e 34,15  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS (Figura 19). Nas raízes (Figura 20) os valores foram 15,92 e 17,57  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS, para os tratamentos com 20 e 30 dias de estresse hídrico, respectivamente. Já nas plantas mantidas irrigadas a média da concentração de sacarose para as folhas foi de 22,94  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS e nas raízes foi de 14,02  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS, mostrando que a sacarose se acumula mais nas folhas do que nas raízes.

A sacarose é o principal açúcar exportado dos locais de síntese (fonte) para as regiões de consumo (dreno), onde é utilizada para o crescimento e/ou armazenamento. As hexoses liberadas a partir da hidrólise de sacarose podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos e também ao fornecimento de açúcares redutores, sendo bastante utilizado para o processo de ajustamento osmótico das células (KINGSTON- SMITH et al., 1999). Resultados encontrados por Pereira (2013), também mostraram um aumento na concentração de sacarose em folhas e raízes de plantas de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) sob deficiência hídrica no solo.

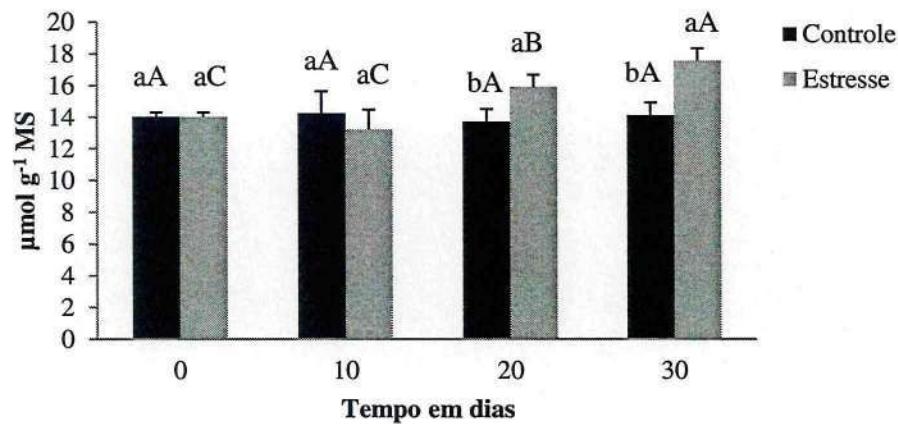
Quick et al., (1989) observaram aumento na síntese de sacarose, de acordo com a redução do potencial osmótico do meio, através do aumento na atividade da enzima sacarose-fosfato-sintetase (SPS) e da diminuição na síntese de amido. Segundo esses autores o acréscimo na síntese de sacarose é uma das primeiras respostas das plantas ao déficit hídrico, podendo contribuir com o ajuste osmótico.

### CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NAS FOLHAS



**Figura 19.** Concentração de sacarose em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NAS RAÍZES



**Figura 20.** Concentração de sacarose em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

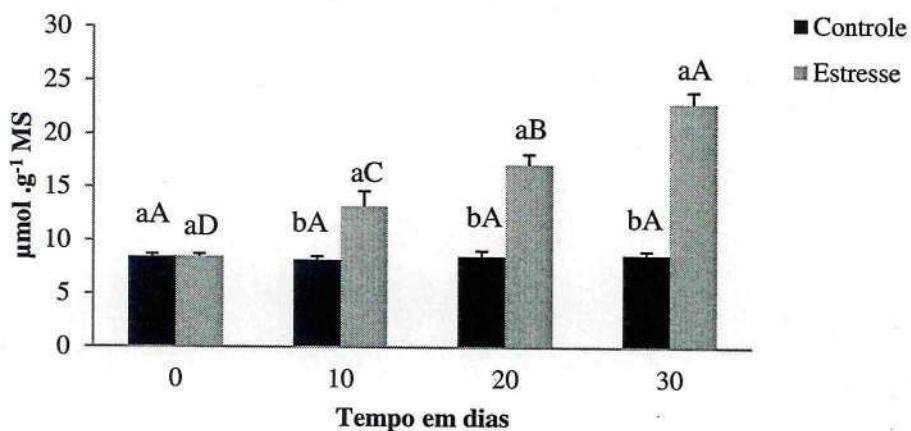
### 3.3.7- Concentrações de glicina-betaína

A concentração de glicina-betaína aumentou significativamente com o tempo de estresse hídrico nas folhas (Figura 21), diferindo estatisticamente também entre os regimes hídricos, os valores foram de 8,47; 13,22; 17,13 e 22,89  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS para os tempos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado nas raízes, onde a concentração de glicina-betaína foi afetada significativamente entre os regimes hídricos, e entre os tempos de suspensão de água, tendo acréscimo significativo de acordo com a intensidade do estresse hídrico (Figura 22), apresentando os valores de 8, 89; 12,17; 16,71 e 19,06  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , para 0, 10, 20 e 30 dias de estresse, respectivamente. As concentrações de glicina-betaína se mantiveram constantes nas plantas sob controle hídrico apresentando média de 8,4  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS para as folhas e de 8,85  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS (Figuras 22 e 23).

De acordo com Meloni (2004) essa elevação na concentração de glicina-betaína nas folhas ocorre para proteger o metabolismo vegetal, visto que esta substância pode atuar como osmólito compatível, mantendo o “equilíbrio” da água entre a célula e o ambiente. O aumento da concentração de glicina-betaína, funciona como proteção contra o mecanismo do estresse oxidativo das espécies vegetais, além de ajudar a planta a absorver e transportar água do solo para a parte aérea, através do ajustamento osmótico das células (Ashraf & Haris, 2004). A glicina betaína atua como protetor das membranas dos tilacóides, mantendo a eficiência fotoquímica na fotossíntese (Ashraf & Foolad, 2007).

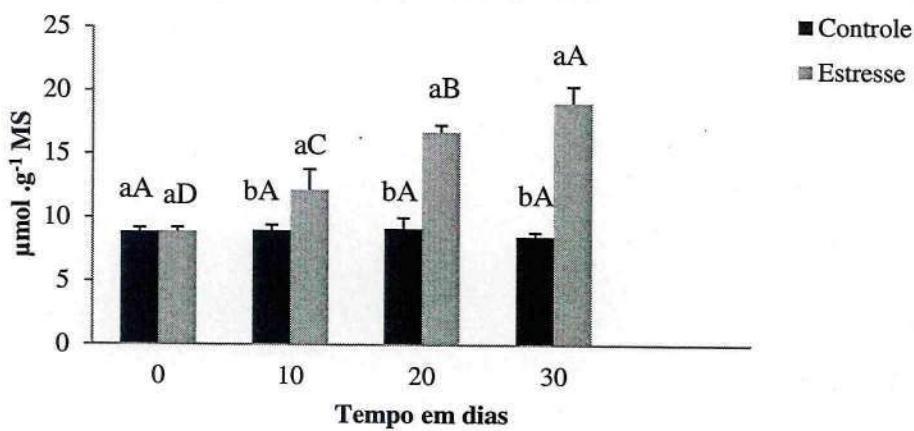
Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira Neto et al., (2009), que trabalhando com sorgo (*Sorghum bicolor* L.), observou que os níveis de glicinabetaína aumentaram nas plantas sobre estresse hídrico durante o período vegetativo e reprodutivo. Cordeiro (2012) trabalhando com plantas de mogno (*Swietenia macrophylla*), jatobá (*Hymenea courbaril*) e ipê (*Tabebuia serratifolia*) constatou acréscimo de 49,4%; 45,75% e 53,62% na concentração de glicina-betaína nas folhas durante o período seco, respectivamente. Assim, o aumento da concentração de glicina-betaína parece ser comum em muitas espécies de plantas durante o déficit hídrico.

### CONCENTRAÇÕES DE GLICINA-BETAÍNA NAS FOLHAS



**Figura 21.** Concentrações de glicina-betaína em folhas de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE GLICINA-BETAÍNA NAS RAÍZES



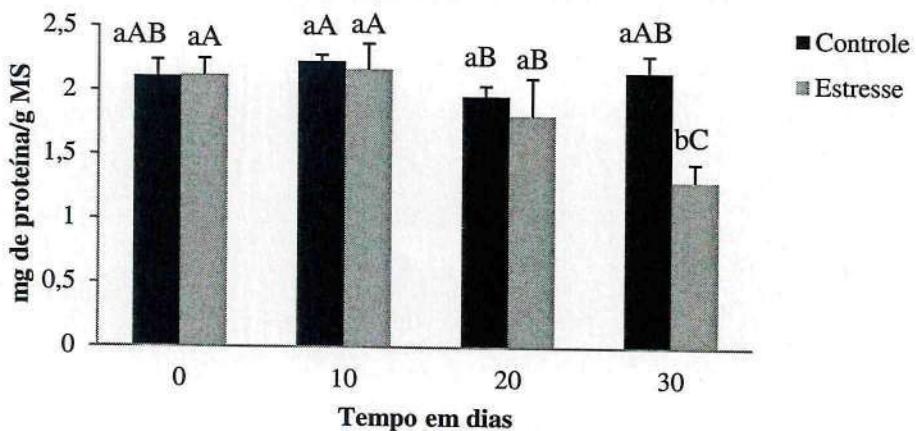
**Figura 22.** Concentrações de glicina-betaína em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.3.8- Concentrações de proteínas solúveis totais

Ocorreu diminuição nos teores de proteínas solúveis totais nas folhas e nas raízes, entretanto nas folhas essa redução foi significativa entre os tempos somente a partir do 20º dia de suspensão hídrica (Figura 23). Já entre os regimes hídricos, só houve diferença significativa nas folhas no 30º dia de experimento. A média dos resultados para as plantas mantidas hidratadas foi de 2,11 mg de proteína/g MS nas folhas, nas plantas estressadas os valores nas folhas foram de 2,17; 2,11; 1,81; 1,30 mg de proteína/g MS, nos tempos com 0, 10, 20 e 30 dias. Nas raízes o comportamento foi semelhante ao das folhas em relação ao tempo de estresse, apresentando diferença significativa a partir do 20º dia de déficit hídrico, mas em comparação aos tratamentos as raízes apresentaram diferença significativa entre os tempos com 10, 20 e 30 dias de deficiência hídrica. Nas raízes para os tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse, os valores foram 3,04; 1,84; 1,46 e 0,46 mg de proteína/g MS respectivamente, já nas plantas controle a média dos valores foi de 3,04 mg de proteína/g MS. Esse resultado mostra que quanto mais baixo o potencial hídrico do solo, maior a atividade das enzimas proteolíticas que são responsáveis pela degradação das proteínas de reserva das plantas, diminuindo os teores destas nas folhas, além da redução da síntese “de novo” das mesmas durante a falta de água.

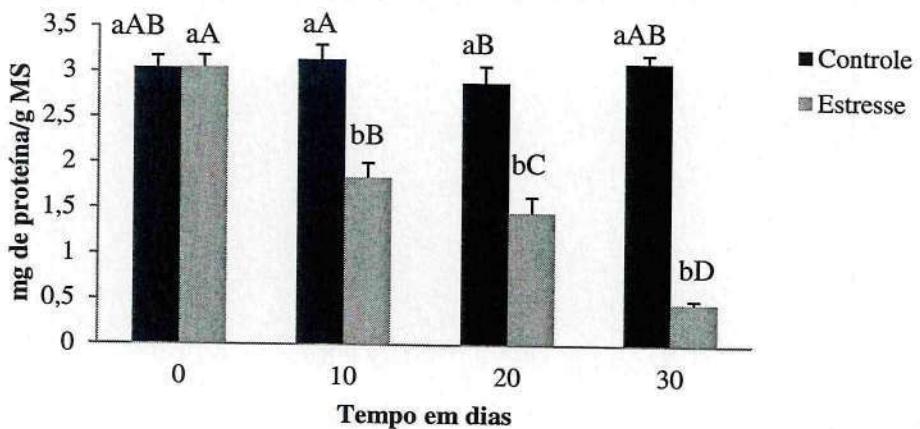
Resultados similares foram encontrados por Lobato et al., (2009), que observaram redução na concentração de proteínas solúveis totais em plantas de pimentão (*Capsicum annuum* cv. Vermelho gigante) sobre estresse hídrico. Lechinoski et al., (2007), trabalhando com plantas de teca (*Tectona grandis* L. f.) sobre influência do estresse hídrico constataram que houve uma diminuição drástica de 94% na concentração de proteínas solúveis totais nas plantas submetidas à deficiência hídrica.

### CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS NAS FOLHAS



**Figura 23.** Concentrações de proteínas solúveis totais em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS NAS RAÍZES



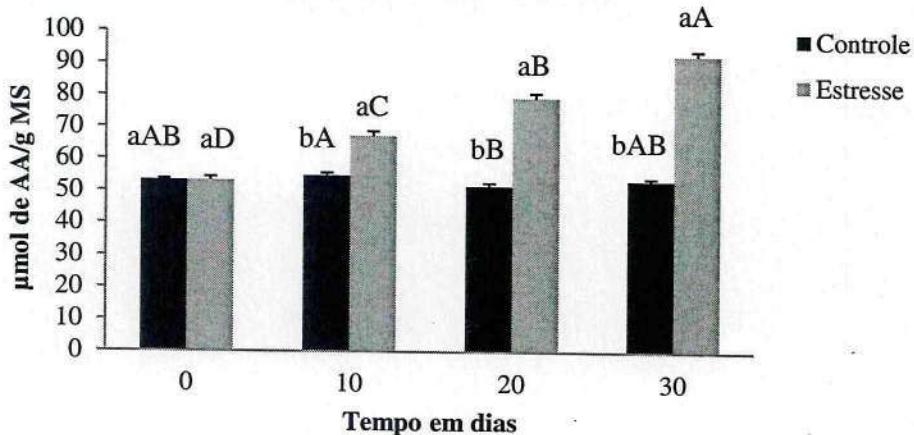
**Figura 24.** Concentrações de proteínas solúveis totais em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.3.9- Concentrações de aminoácidos solúveis totais

Houve acréscimo significativo na concentração de aminoácidos solúveis totais tanto nas folhas quanto nas raízes entre os regimes hídricos, e conforme a intensidade do estresse hídrico foi aumentando (figuras 25 e 26), visto que a concentração de AA das plantas mantidas irrigadas mantiveram-se com média de 53,29 µmol de AA/g MS nas folhas e de 60,34 µmol de AA/g MS nas raízes. Os teores nas folhas foram de 53,29; 67,20; 79,25 e 92,55 µmol de AA/g MS nos tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. Nas raízes, as concentrações foram de 60,34; 64,53; 72,29 e 83,83 µmol de AA/g MS, nos tratamentos com 0, 10, 20 e 30 dias de estresse hídrico, respectivamente.

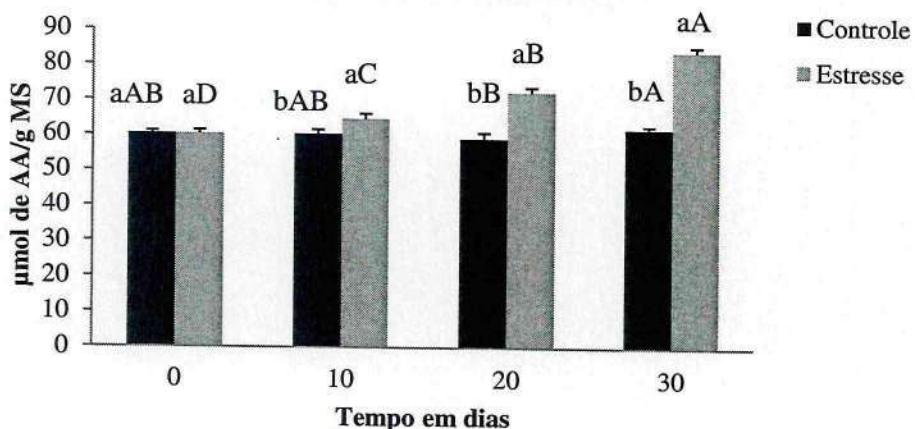
Durante a falta de água há aumento da atividade das enzimas proteolíticas que degradam as proteínas em aminoácidos, esses compostos são importantes para diminuir o potencial hídrico e manter a turgescência das células, servindo ainda de reserva de nitrogênio para uma possível retomada de crescimento da planta quando o estresse cessar ou amenizar. De acordo com Subbarao et al., (2000) a deficiência hídrica pode causar distúrbios nos tecidos do floema, reduzindo a translocação dos aminoácidos para outros órgãos. Lechinoski et al., (2007) trabalhando com a influência do estresse hídrico nos teores de aminoácidos solúveis totais em folhas de teca (*Tectona grandis*) observou um aumento de 68% na concentração dos aminoácidos solúveis totais. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho (2005), trabalhando com duas variedades de paricá *Schizolobium amazonicum* (*S. parahyba* var. *amazonicum*) e *Schizolobium parahyba* (*Schizolobium parahybum*) submetidas a deficiência hídrica, em que houve um aumento significativo no acúmulo de aminoácidos solúveis totais nas folhas.

### TEORES DE AMINOÁCIDOS SOLÚVEIS TOTAIS NAS FOLHAS



**Figura 25.** Teores de aminoácidos solúveis totais em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### TEORES DE AMINOÁCIDOS SOLÚVEIS TOTAIS NAS RAÍZES



**Figura 26.** Teores de aminoácidos solúveis totais em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.3.10- Concentrações de prolina

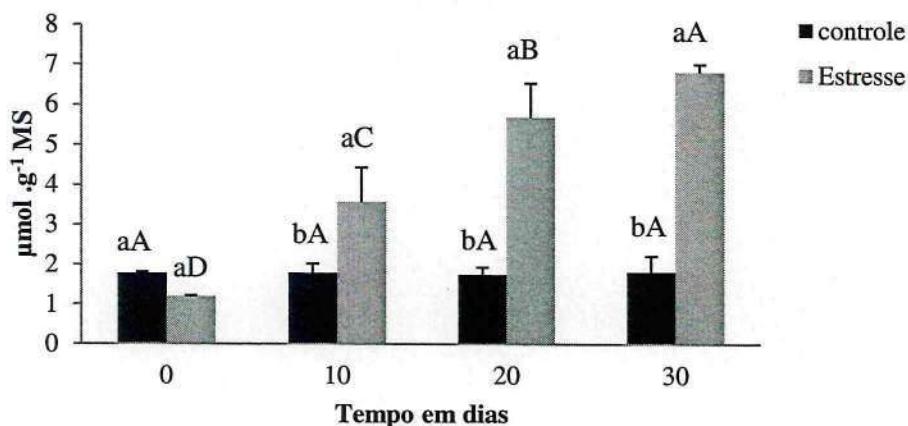
Houve aumento significativo na concentração de prolina nas folhas de acapu em relação aos regimes hídricos nas plantas estressadas, e também conforme foi aumentando o tempo de estresse hídrico (figura 27). As concentrações de prolina nas folhas das plantas sob suspensão hídrica foram de 1,78; 3,58; 5,68 e 6,81  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ , nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. As plantas mantidas sob controle hídrico não diferiram estatisticamente entre os tempos, mantendo uma constante tanto nas folhas, como nas raízes, a média obtida nessas plantas em relação às folhas foi 1,78  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ , já nas raízes a média dos valores foi 1,50  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ . A concentração de prolina também aumentou significativamente nas raízes das plantas estressadas, tanto entre os tratamentos, quanto entre os tempos de estresse (figura 28), apresentando os resultados mais altos nos tempos 3 e 4, que foram de 3,06 e 5,03  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ , respectivamente. Esse aumento na concentração de prolina coincidiu com a diminuição do potencial hídrico (Figura 1), mostrando a relação entre a diminuição do potencial hídrico e o aumento da concentração de prolina na planta.

Para Rhodes et al., (1986) o acúmulo na concentração de prolina em plantas sob deficiência hídrica pode ser consequência tanto do aumento na sua síntese, como do decréscimo na sua degradação. Provavelmente, em plantas sobre deficiência hídrica, há aumento das atividades das enzimas proteolíticas, promovendo maior disponibilidade de aminoácidos livres como a prolina e a glicina-betaína. Para Kishor et al., (2005) a prolina é uma substância responsável pelo ajustamento osmótico das células sujeitas a estresses, evitando a redução da turgescência celular, preservando a integridade celular, e permitindo a continuidade de processos fisiológicos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas. De acordo com Ferreira et al., (2002) a hidrólise de proteínas, além de contribuir com o aminoácido precursor (glutamato), pode também contribuir com a própria prolina, favorecendo o seu aumento como aminoácido livre nos tratamentos sob estresse hídrico.

Segundo Valpuesta et al., (1992). a rota metabólica responsável pela síntese de prolina mais expressiva em plantas tem início no aminoácido glutamato, o qual pode ser produzido por hidrólise de proteínas, por reações de transaminação ou pelas reações catalisadas pelo ciclo GS/GOGAT. Resultados semelhantes foram encontrados por Cunha (2010), trabalhando com plantas de mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev) e mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) submetidas a adubação potássica durante período chuvoso e seco, que observou aumento na concentração de prolina nas plantas de mogno africano e mogno brasileiro, durante o período seco em relação ao chuvoso. O mesmo

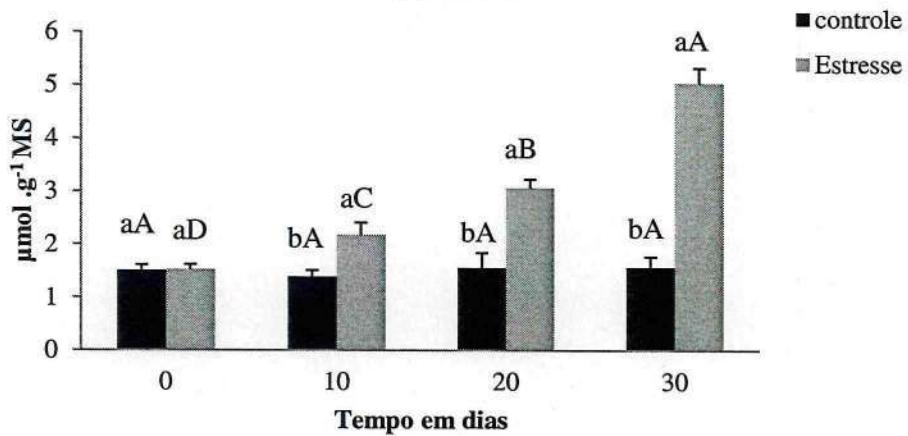
resultado também foi encontrado por Paula et al., (2013) que constatou um aumento de quase 21% na concentração de prolina em plantas de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) durante o período de seca no município de Santa Bárbara- Pará.

### CONCENTRAÇÕES DE PROLINA NAS FOLHAS



**Figura 27.** Concentrações de prolina em folhas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### CONCENTRAÇÕES DE PROLINA NAS RAÍZES



**Figura 28.** Concentrações de prolina em raízes de plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aubl.) submetidas a 0, 10, 20 e 30 dias de déficit hídrico. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas comparam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas comparam os valores ao longo do experimento. As barras representam os devios padrões das médias.

### 3.4- CONCLUSÃO

O tempo de 10 dias de déficit hídrico foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas jovens de acapú, induzindo um aumento nas concentrações de amônio, sacarose, prolina e glicina betaína, assim como, nos teores de aminoácidos solúveis totais, carboidratos solúveis totais, tanto nas folhas, quanto nas raízes, além de reduzir as concentrações de nitrato, de amido, das proteínas solúveis totais, e a atividade da glutamina sintetase nos tecidos foliares e nas raízes.

Os indicadores bioquímicos observados mostraram-se eficientes para avaliar o estado metabólico das plantas de acapú submetidas à deficiência hídrica.

O acúmulo de prolina e glicina-betaína nos tecidos foliares resultantes da intensidade do déficit hídrico, não foram capazes de impedir a redução na produção de massa seca das plantas jovens de acapú.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G. A. R. Aspectos ecofisiológicos, bioquímicos e crescimento de plantas jovens de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) em condições de déficit hídrico e alagamento. Tese (Doutorado em ciências agrárias)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science.*, 166: 3-16, 2004.

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.

BATES, L. S., Waldren, R. P. e Teare, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. *Plant and Soil*. V. 39: 205-207. 1973.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* V. 72: 248-254.1976.

CARVALHO, C. J. R. R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.29, n.6, p.907-914, 2005.

CASCARDO, J. C. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; ALVES, J. D. Açúcares e compostos nitrogenados orgânicos na seringueira cultivada em solo com diferentes doses de gesso agrícola sob dois regimes hídricos. *Revista Bras. Fisiol. Veg.*, 5(1):35-40, 1990.

CASTRO, D. S.; SANTOS, A. O.; LOBATO, A. K. S.; GOUVEA, D. D. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; CUNHA, R. L. M.; COSTA, R. C. L. Concentrações de Prolina e Carboidratos Solúveis Totais em Folhas Teca (*Tectona grandis* L.f) Submetida ao Estresse Hídrico. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 921-923, jul. 2007.

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

COLL, J. B.; RODRIGO, G. N.; GARCÍA, B. S.; TAMÉS, R. S.; Fisiología vegetal. 9<sup>a</sup>. ed. Editorial Pirámide, Madrid, 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. Tese (Doutorado em ciências agrárias)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2012.

CUNHA, R. L. M. Comportamento ecofisiológico do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) e do mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev) submetidos a adubação potássica, nas condições edafoclimáticas de Igarapé-Açú- PA, Amazônia oriental. Tese (Doutorado em ciências agrárias)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, Belém, 2010.

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

EDWARDS J.W.; CORUZZI G.M. Photorespiration and light act in concert to regulate the expression of the nuclear gene for chloroplast glutamine synthetase. *The Plant Cell*, 1, 241-248, 1989.

FARIAS, José Renato Bouças. Dinâmica da água no sistema solo-água-atmosfera: déficit hídrico em culturas. ITEM. n. 68, p. 32-37, 4º trimestre, 2005.

FARRAR, J. F. Carbon partitioning. In: *Photosynthesis and production in a changing environment*. HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHAR NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C.; LONG, S. P. (Ed.) Cap. 15, p. 222-246. 1993.

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

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

GRISI, F. A. Relações hídricas, bioquímicas e anatômicas de mudas de café (*Coffea arabica* L) Catua e Siriema submetidas à deficit hídrico. Dissertação-UFLA. 59p., 2006.

HARPER, J.E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J., BENNETT. J.M., SINCLAIR, T.R., et al. Physiology and determination of crop yield. Madison : ASA/CSSA/SSSA, 1994. Chapt.11A. p.285-302.

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

KERBAUY, G. B. Fisiologia Vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452 p. 2008.

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

KRAMER, P.J. Water relations of plants and soils. Academic Press, London. 1995.

LAM, H. M., COSCHIGANO, K. T., OLIVEIRA, I. C., The molecular-geneticsofnitrogenassimilationinto amino acids in higherplants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,Palo Alto, v.47, p.569-593, 1996.

LECHINOSKI, A.; FREITAS, J. M. N.; CASTRO, D. S. C.; LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; CUNHA, R. L. M. Influência do Estresse Hídrico nos Teores de Proteínas e Aminoácidos Solúveis Totais em Folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.) Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 927-929, jul. 2007.

LEEGOOD, R. C. Primary photosynthate production: physiology and metabolism. Marcel Dekker, new York, p. 21-42. 1996.

LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L.; NETO, M. A. M.; OLIVEIRA NETO, C. F.; SANTOS FILHO, B. G.; ALVES, G. A. R.; COSTA, K. C.; SILVA, L. I.; CONRADO, T. V.; MALEIA, M. P. Consequences of the water deficit on nitrogen compounds in pepper (cv. Vermelho Gigante) plants. Research jornal of biologics sciences, 4(6): 760-764, 2009.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, SP, vol. 2, 3 ed. 384p. 2009.

MCNALLY S.F.; ORBANJO T.O.; HIREL B. Glutamine synthetase isoenzymes of *Striga hermonthica* and other angiosperm root parasites. *Journal of Experimental Botany*, 34 , 610-614, 1983.

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* 34(2): 145-153, 3 tab., 2007.

MELONI, D. A. Manipulation of leaf senescence. *Braz. J. Plant physiology*, 16 (1): 39-46, 2004.

MIFLIN, B.J.; LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. *Phytochemistry*, New York, v.15, p.873-885, 1976.

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.

PIMENTEL, C. Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34:2021-2027. 1999.

OLIVEIRA NETO, C. F.; LOBATO, A. K. S.; MAIA, W. J. M. S.; SANTOS FILHO, B. G.; ALVES, G. A. R.; BRINEZ, B.; NEVES, H. K. B.; SAMTOS LOPES, M. J.; CRUZ, F. J. R. Nitrogen compounds and enzyme activities in sorghum induced to water deficit during three stages. *Plant Soil Environ.*, 55, (6): 238–244, 2009.

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

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, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 2013.

PIMENTEL, C. A relação da planta com a água. Seropédica, RJ: Edur, 189 p. 2004.

QUICK, P.; SIEGL, G.; NEUHAUS, E.; FEIL, R. & STITT, M. Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose-phosphate synthase. *Planta*, New York, 177:535-46, 1989.

ROSSIELLO, R. O. P.; FERNANDES, M. S.; FLORES, J. P. O. Efeitos da deficiência hídrica sobre o mecanismo e acumulação de carboidratos solúveis de milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16: 561-566. 1981 b.

RHODES, D., HANNA, S., BRESSAN, R.A. Metabolic changes associated with adaptation of plant cells to water stress. *Plant Physiology*, Maryland, v.82, p.890-903, 1986.

SANCHEZ, J.; HELDT, W.H. On the regulation of spinach nitrate reductase. *Plant Physiology*, v.92, p.684-689, 1990.

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.

SILVA, V. A. Caracterização fisiológica da tolerância à seca em *coffea canephora*: Caracterização relativa do sistema radicular e da parte aérea. Tese (Doutorado em fisiologia vegetal)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- Minas Gerais, 2009.

SUBBARAO, G.V. et al. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water stress. *Journal of Plant Physiology*, v.157, n.6, p.651-659, 2000.

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

THOMAS, H. Accumulation and consumption of solutes in swards of *Lolium perenne* during drought and after rewetting. *New Phytologist*, London, 118:35-48, 1991.

VALPUESTA, V., BERTELI, F., PÉREZ-PRAT, E., et al. Cambios metabólicos y de expresión génica en plantas superiores en respuesta al estrés salino. Agriscientia, v.9, p.55-63, 1992.

VASSEY, T. L.; SHARKEY, T. D. Mild water stress of *phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate synthase activity. Plant physiology, 89: 1066-1070. 1989.

ZEEMAN, S. C.; KOSSMANN, J. SMITH, A. M. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. Annual Review of plant biology. El Camino, v.61, p.209-234. Feb. 2010.

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.

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

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. Fundamentos de bioquímica. Artmed editora, Porto Alegre, 2000. 931p.

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

## APÊNDICE 2

**Tabela 3.** Variáveis bioquímicas. Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis bioquímicas. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas ou minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. As letras minúsculas compararam os valores entre os regimes hídricos e as letras maiúsculas compararam os valores ao longo do experimento.

Tratamentos	Variável	Tempo (dias)							
		0		10		20		30	
		Folha	Raiz	Folha	Raiz	Folha	Raiz	Folha	Raiz
Controle	Nitrato ( $\mu\text{mol de NO}_3^-/\text{g MS}$ )	0,39 $\pm$ 0,02aA	0,57 $\pm$ 0,02aA	0,41 $\pm$ 0,02aA	0,6 $\pm$ 0,03aA	0,37 $\pm$ 0,02aB	0,55 $\pm$ 0,1aA	0,41 $\pm$ 0,04aA	0,58 $\pm$ 0,09aA
Déficit		0,40 $\pm$ 0,02aA	0,57 $\pm$ 0,02aA	0,34 $\pm$ 0,03bB	0,21 $\pm$ 0,04bB	0,09 $\pm$ 0,02bC	0,07 $\pm$ 0,01bC	0,01 $\pm$ 0bD	0,02 $\pm$ 0,01bC
Controle	GS ( $\mu\text{mol GGH/g MS}$ )	26,59 $\pm$ 0,35aA	24,67 $\pm$ 0,38aA	26,92 $\pm$ 0,71aA	24,69 $\pm$ 1,00aA	26,83 $\pm$ 0,90aA	24,84 $\pm$ 1,41aA	26,03 $\pm$ 0,35aA	24,50 $\pm$ 0,52aA
Déficit		26,59 $\pm$ 0,34aA	24,72 $\pm$ 0,68aA	21,49 $\pm$ 1,14bB	18,12 $\pm$ 1,41bB	15,31 $\pm$ 1,18bC	12,35 $\pm$ 1,79bC	5,77 $\pm$ 0,88bD	5,50 $\pm$ 0,49bD
Controle	Amido ( $\mu\text{mol de GLI/g MS}$ )	0,22 $\pm$ 0,009aA	0,13 $\pm$ 0,005aA	0,23 $\pm$ 0,02aA	0,12 $\pm$ 0,01aA	0,22 $\pm$ 0,08aA	0,13 $\pm$ 0,02aA	0,21 $\pm$ 0,02aA	0,14 $\pm$ 0,01aA
Déficit		0,22 $\pm$ 0,009aA	0,13 $\pm$ 0,005aA	0,21 $\pm$ 0,01bA	0,06 $\pm$ 0,01bB	0,16 $\pm$ 0,01bB	0,05 $\pm$ 0,01bBC	0,13 $\pm$ 0,01bC	0,02 $\pm$ 0,01bC
Controle	Proteínas S. T. (mg de proteína/g MS)	2,11 $\pm$ 0,13aAB	3,04 $\pm$ 0,13aAB	2,23 $\pm$ 0,05aA	3,14 $\pm$ 0,16aA	1,96 $\pm$ 0,08aB	2,89 $\pm$ 0,18aB	2,14 $\pm$ 0,29aAB	3,11 $\pm$ 0,09aAB
Déficit		2,11 $\pm$ 0,13aA	3,04 $\pm$ 0,13aA	2,17 $\pm$ 0,2aA	1,84 $\pm$ 0,16bB	1,81 $\pm$ 0,29aB	1,46 $\pm$ 0,17bC	1,3 $\pm$ 0,14bC	0,46 $\pm$ 0,04bD
Controle	Amônio livre ( $\mu\text{mol de NH}_4^+/\text{g MS}$ )	9,39 $\pm$ 0,19aA	20,26 $\pm$ 0,3aA	9,5 $\pm$ 0,93bA	20,47 $\pm$ 1,15aA	9,51 $\pm$ 0,86bA	19,91 $\pm$ 1,09bA	9,17 $\pm$ 0,34bA	20,41 $\pm$ 0,49bA
Déficit		9,39 $\pm$ 0,19aD	20,26 $\pm$ 0,3aC	13,19 $\pm$ 0,78aC	21,19 $\pm$ 0,85aC	15,51 $\pm$ 0,83aB	20,41 $\pm$ 0,49aB	19,02 $\pm$ 0,78aA	35,36 $\pm$ 0,79aA
Controle	Carboidratos S. T. ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ )	1,17 $\pm$ 0,08aA	0,92 $\pm$ 0,01aA	1,24 $\pm$ 0,03bA	0,93 $\pm$ 0,03bA	1,19 $\pm$ 0,07bA	0,89 $\pm$ 0,02bA	1,08 $\pm$ 0,11bA	0,96 $\pm$ 0,04bA
Déficit		1,17 $\pm$ 0,08aD	0,92 $\pm$ 0,01aD	2,23 $\pm$ 0,29aC	1,58 $\pm$ 0,17aC	3,19 $\pm$ 0,31aB	2,43 $\pm$ 0,21aB	4,73 $\pm$ 0,15aA	3,56 $\pm$ 0,23aA
Controle	Sacarose ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ )	22,94 $\pm$ 0,53aA	14,02 $\pm$ 0,28aA	22,74 $\pm$ 1,18aA	14,25 $\pm$ 1,41aA	23,55 $\pm$ 1,33bA	13,7 $\pm$ 0,84bA	22,54 $\pm$ 2,24bA	14,13 $\pm$ 0,81bA
Déficit		22,94 $\pm$ 0,53aC	14,02 $\pm$ 0,28aC	23,62 $\pm$ 2,03aC	13,23 $\pm$ 1,27aC	29,83 $\pm$ 0,85aB	14,13 $\pm$ 0,81aB	34,15 $\pm$ 1,39aA	17,57 $\pm$ 0,76aA
Controle	Glicina betaina ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ )	8,4 $\pm$ 0,26aA	8,8 $\pm$ 0,32aA	8,1 $\pm$ 0,33bA	9,0 $\pm$ 0,42bA	8,5 $\pm$ 0,5bA	9,1 $\pm$ 0,84bA	8,6 $\pm$ 0,35bA	8,5 $\pm$ 0,32bA
Déficit		8,4 $\pm$ 0,26aD	8,8 $\pm$ 0,32aD	13,2 $\pm$ 1,43aC	12,1 $\pm$ 1,64aC	17,1 $\pm$ 1,0aB	16,7 $\pm$ 0,57aB	22,8 $\pm$ 1,08aA	19,0 $\pm$ 1,28aA
Controle	Aminoácidos S. T. ( $\mu\text{mol de AA/g MS}$ )	53,29 $\pm$ 0,48aAB	60,34 $\pm$ 0,69aAB	54,84 $\pm$ 0,90bA	60,23 $\pm$ 1,29bAB	51,61 $\pm$ 0,96bB	58,95 $\pm$ 1,75bB	53,43 $\pm$ 0,70bAB	61,85 $\pm$ 0,82bA
Déficit		53,29 $\pm$ 1,14aD	60,34 $\pm$ 1,02aD	67,20 $\pm$ 1,53aC	64,53 $\pm$ 1,62aC	79,25 $\pm$ 1,52aB	72,29 $\pm$ 1,40aB	92,55 $\pm$ 1,42aA	83,83 $\pm$ 1,36aA
Controle	Prolina ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ )	1,78 $\pm$ 0,03aA	1,51 $\pm$ 0,1aA	1,79 $\pm$ 0,23bA	1,39 $\pm$ 0,12bA	1,74 $\pm$ 0,19bA	1,56 $\pm$ 0,28bA	1,81 $\pm$ 0,4bA	1,57 $\pm$ 0,2bA
Déficit		1,78 $\pm$ 0,03aD	1,51 $\pm$ 0,1aD	3,58 $\pm$ 0,85aC	2,18 $\pm$ 0,23aC	5,68 $\pm$ 0,85aB	3,06 $\pm$ 0,17aB	6,81 $\pm$ 0,2aA	5,03 $\pm$ 0,29aA