



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

**CRESCIMENTO, ALTERAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM
PLANTAS JOVENS DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L) SUBMETIDAS À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA E AO ALAGAMENTO**

CÂNDIDO FERREIRA DE OLIVEIRA NETO

BELÉM
2010



MINISTERIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

**CRESCIMENTO, ALTERAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM
PLANTAS JOVENS DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L) SUBMETIDAS À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA E AO ALAGAMENTO**

Universidade Federal Rural
da Amazônia
BIBLIOTECA

CÂNDIDO FERREIRA DE OLIVEIRA NETO

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

Orientador:

Engenheiro Agrônomo Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho

Co-orientador:

Biólogo Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa

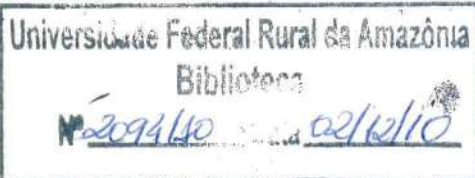
**BELÉM
2010**

Biblioteca



20940029

T
572 42
048
Ex: 02



Oliveira Neto, Cândido Ferreira de

Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de Jatobá (*hymenaea courbaril* L) submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento / Cândido Ferreira de Oliveira Neto. – Belém, 2010.

93f.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

1. Metabolismo do nitrogênio. 2. Alagamento. 3. Déficit hídrico. 4. Crescimento osmótico. 5. Ajustamento osmótico. I. Título.

CDD – 572.42



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
CURSO DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO AGROECOSSISTEMAS DA AMAZÔNIA

ATA DA REUNIÃO DA COMISSÃO JULGADORA DO EXAME FINAL
DE TESE DO DOUTORANDO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Cândido Ferreira de Oliveira Neto

Ao décimo oitavo dia do mês de junho de dois mil e dez, às oito horas na Sala de Aula do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias-UFRA, em sessão aberta, sob a presidência do professor **Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho**, reuniu-se a Comissão Julgadora do Exame Final de Tese do doutorando **Cândido Ferreira de Oliveira Neto**, discente do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias, assim constituída: Dr. Marco Antônio Menezes Neto, Dra. Maria Auxiliadora Feio Gomes, Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição e o Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa. Iniciada a sessão, o discente submeteu-se ao exame de sua tese intitulada "**CRESCIMENTO E COMPORTAMENTO ECOFISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO EM PLANTAS JOVENS DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIA HÍDRICA E AO ALAGAMENTO**". Após a explanação da tese feita pelo estudante e a arguição feita pela banca examinadora, o candidato foi considerado **APROVADO**, o que lhe assegurará o direito ao título de "**DOUTOR EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**", Área de Concentração: **AGROECOSSISTEMAS DA AMAZÔNIA**, quando entregar na coordenação do curso a versão definitiva de sua Tese e a comprovação do envio, para publicação, de dois trabalhos científicos extraídos da mesma. Nada mais havendo a tratar eu, Shirley Costa de Barros, na qualidade de Secretária do Curso, lavrei a presente ata que aprovada, foi assinada pelos senhores membros da Comissão Julgadora, pelo Coordenador do curso e por mim.

Término da Sessão: 13:50 h

Universidade Federal Rural
da Amazônia
BIBLIOTECA

Belém, 18 de junho de 2010
COMISSÃO JULGADORA:

Presidente: Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho

Primeiro Examinador: Dr. Marco Antônio Menezes Neto

Segundo Examinador: Dra. Maria Auxiliadora Feio Gomes

Terceiro Examinador: Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição

Quarto Examinador: Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa

Coordenador do Curso: Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa

Secretária do Curso: Shirley Costa de Barros



MINISTERIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

**CRESCIMENTO, ALTERAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM
PLANTAS JOVENS DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L) SUBMETIDAS À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA E AO ALAGAMENTO**

CÂNDIDO FERREIRA DE OLIVEIRA NETO

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

Aprovada em 18 de junho de 2010

BANCA EXAMINADORA:

Engenheiro Agrônomo Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho
Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA

Engenheiro Agrônomo Prof. Dr. Marco Antônio Menezes Neto
Universidade Federal do Pará – UFPA

Engenheiro Agrônomo Prof. Dr. Heraclito Eugênio Conceição de oliveira
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA

Farmacêutica Dra. Maria Auxiliadora Feio Gomes
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA

Biólogo Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e força durante estes anos.

Ao coordenador e professores do curso de Doutorado em Ciências Agrárias

Ao meu orientador Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho pela amizade, confiança e valiosa orientação.

Ao meu Co-orientador Roberto Cezar Lobo da Costa pela amizade, confiança e valiosa orientação.

Aos Doutores Marco Antônio Menezes Neto, Maria Auxiliadora Feio Gomes, Heraclito Eugênio Oliveira da Conceição e Roberto Cezar Lobo da Costa pelas críticas e sugestões.

Aos Laboratoristas Ivanildo, Hiulkias e Iridan, pelo apoio na execução dos trabalhos de laboratório.

Aos meus amigos Italo Albério, Alberto, Maria Amélia Marinho, Marco Aurélio, Andreia Costa, Marluce, Paulo Santos, Lazaro Cunha, Wilson Maia, Gustavo Alves e Allan Lobato pela confiança, amizade e dedicação a minha pessoa.

Aos meus irmãos, cunhado, sogro (a) e as minhas sobrinhas e sobrinhos, pelo incentivo e apoio espiritual.

Ao meu pai e minha mãe pela dedicação, incentivo e força durante minha vida.

À minha futura esposa Mayanne Rocha, pelo amor, afeto e pelo apoio espiritual, sua dedicação e confiança durante esse tempo junto.

À Shirley, secretária do curso de Ciências Agrárias pela presteza e amizade.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram com críticas, sugestões ou pela sua agradável convivência, que permitiram a realização deste trabalho.

À Universidade Federal Rural da Amazônia, pela oportunidade de realização do curso.

À Rede CT-PETRO Amazônia – PT1, pela ajuda financeira para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

	RESUMO	14
	ABSTRACT	16
1	INTRODUÇÃO	18
2	MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	28
2.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
2.3	CONDUÇÕES DAS PLANTAS	29
2.4	VARIÁVEIS AMBIENTAIS E BIOFÍSICAS	30
2.5	CRESCIMENTO E VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS	30
2.6	MEDIDAS DE PRODUÇÃO, CRESCIMENTO E DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS	31
2.6.1	MEDIDAS DE PRODUÇÃO E CRESCIMENTO	31
2.7	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO	31
2.8	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE PROLINA	31
2.9	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS	32
2.10	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE AMINOÁCIDOS SOLÚVEIS TOTAIS	33
2.11	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE AMIDO	33
2.12	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS	34
2.13	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIO LIVRE	34
2.14	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE	35

2.15	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE NITRATO	35
2.16	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA GLUTAMINA SINTETASE	36
2.17	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE GLICINA-BETAÍNA	36
2.18	ATIVIDADE DA ÁLCOOL DESIDROGENASE E ATIVIDADE DA LACTATO DESIDROGENASE	37
2.19	DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ABSCÍSICO	38
2.19.1	EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO	38
2.19.2	SEPARAÇÃO POR HPLC E DETECÇÃO POR MS/MS	39
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.0	RESULTADOS AMBIENTAIS	40
3.1	POTENCIAL HÍDRICO	40
3.2	CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA, TRANSPIRAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO ABSCÍSICO	41
3.3	ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO	45
3.4	CONCENTRAÇÕES DE NITRATO	47
3.5	CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIO LIVRE	48
3.6	ATIVIDADE DA GLUTAMINA SINTETASE	50
3.7	CONCENTRAÇÕES DE AMIDO	51
3.8	CONCENTRAÇÕES DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS	53
3.9	CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE	55
3.10	CONCENTRAÇÕES DE GLICINA-BETAÍNA	57
3.11	CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS	58
3.12	CONCENTRAÇÕES DE AMINOÁCIDOS SOLÚVEIS TOTAIS	61

3.13	CONCENTRAÇÕES DE PROLINA	63
3.14	ATIVIDADE DA ENZIMA ÁLCOOL DESIDROGENASE E ATIVIDADE DA ENZIMA LACTATO DESIDROGENASE	66
3.15	NÚMERO DE FOLHAS	69
3.16	ALTURA DA PLANTA	70
3.17	DIÂMETRO DO CAULE	72
3.18	ÁREA FOLIAR	73
3.19	MASSA SECA DA PARTE AÉREA E DO SISTEMA RADICULAR	75
3.20	MASSA SECA TOTAL	77
4	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

LISTA DE FIGURAS

Figura	Conteúdo	Página
Figura 1	Potencial hídrico de folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	41
Figura 2	Condutância estomática (A), transpiração (B) e concentrações de ácido abscísico (C) em folhas e raízes de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	44
Figura 3	Atividade da redutase do nitrato em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	46
Figura 4	Concentrações de nitrato em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	48
Figura 5	Concentrações de amônio livre em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a	49

	5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	
Figura 6	Atividade da glutamina sintetase em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	51
Figura 7	Concentrações de amido em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	53
Figura 8	Concentrações de carboidratos solúveis totais em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	55
Figura 9	Concentrações de sacarose em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	57
Figura 10	Concentrações de glicina-betaina em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os	58

	desvios padrões das médias.	
Figura 11	Concentrações de proteínas solúveis totais em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	61
Figura 12	Concentrações de aminoácidos solúveis totais em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	63
Figura 13	Concentrações de prolina em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	66
Figura 14	Atividade da álcool desidrogenase (A) e atividade da lactato desidrogenase (B) em raízes e folhas de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	68
Figura 15	Número de folhas em planta de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras	70

	representam os desvios padrões das médias.	
Figura 16	Altura da planta de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetida durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	71
Figura 17	Diâmetro do caule em plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	73
Figura 18	Área foliar em plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	75
Figura 19	Massa seca da parte aérea (A) massa seca de raiz (B) de plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetido durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	77
Figura 20	Massa seca total em plantas de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) submetida durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.	79

LISTA DE TABELAS

Tabela	Conteúdo	Página
Tabela I	Características químicas do solo utilizado no experimento.	29
Tabela II	Características físicas do solo utilizado no experimento.	29

LISTA DE SÍMBOLOS

aRN - Redutase do nitrato

GS- Glutamina sintetase

GOGAT- Glutamato sintase

MS- Massa seca

NNED- N-1-naftiletilenodiamina dicloridrato

ABA- Ácido abscísico

TRIS- Hidroximetilaminometano

CMO- Colina betáina monooxigenase ferridoxina

BADH- Betáina aldeído desidrogenase

ADH- Álcool desidrogenase

ABA- Ácido abscísico

GB- Glicina-betáina

ADH- Atividade da álcool desidrogenase

LDH- Atividade da lactato desidrogenase

RESUMO

O jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) é uma árvore neotropical que têm importância econômica, ecológica e ambiental. Muitas pesquisas mostraram que dessa espécie podem ser extraídas diversas substâncias, além de a mesma ter potencial para uso em reflorestamentos comerciais e agroflorestais. O excesso ou a falta de água na planta promove uma série de mudanças metabólicas e conseqüentemente irá alterar o seu crescimento. As plantas ao sofrerem qualquer tipo de estresse, as mesmas promovem alguns mecanismos de defesa. Essa tolerância a desidratação está ligada a substâncias também chamadas de osmorreguladores como os carboidratos, prolina, glicina betaína, aminoácidos livres, que terão como intuito de manter a água o mais tempo possível dentro do tecido vegetal. Com base no contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação localizada no Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém, PA, Brasil. O período do experimento foi de 20/09/2008 a 20/05/2009. Foram utilizadas mudas de Jatobá (*H. courbaril* L.), com 4 meses de idade, propagada sexualmente, provenientes de sementes coletadas na Província Petrolífera do Rio Urucu, Base Operacional Geólogo 'Pedro de Moura' em Urucu, município de Coari, AM, distando cerca de 650 km, em linha reta, de Manaus. As sementes foram coletadas em novembro de 2008, em áreas de 20 clareiras ou jazidas: RUC06, RUC10, JAZ5, JAZ16, RUC 31; RUC 25; JAZ 97; JAZ 06; JAZ 16; JAZ 21; CL 10; CL 33; CL 11; CL 05; CL 04; SUC 03; SUC 02; SUC 01; LUC 29; LUC 39. Após a coleta, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel hermeticamente fechados e transportados para o laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRA, Belém, PA. As plantas foram submetidas a três regimes hídricos [irrigado (controle), déficit hídrico e alagamento], que ficaram 30 (trinta) dias sob suspensão da irrigação e alagamento através de uma lamina de água de 5 cm acima do solo, respectivamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com três condições hídricas: controle, déficit hídrico e alagamento, com 15 repetições, totalizando 45 unidades experimentais, cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foi aplicada a análise de variância nos dados coletados e às médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Foram analisadas variáveis ecofisiológicas e bioquímicas que influenciam no crescimento vegetativo de

plantas de jatobá. Ao final do experimento a deficiência hídrica e o alagamento promoveram diminuição da atividade das enzimas chaves relacionados ao metabolismo do nitrogênio e alterações das enzimas álcool desidrogenase e lactato desidrogenase. Além disso, o estresse hídrico também alterou o comportamento dos compostos nitrogenados como aminoácidos, proteínas, amônio etc., e, produzindo substâncias osmorreguladoras como prolina, glicina-betaína, carboidratos e sacarose. O déficit hídrico e o alagamento afetaram o crescimento das plantas quanto à altura, diâmetro do caule e produção de matéria seca. O estresse hídrico e o alagamento aplicado atuaram nas relações hídricas das plantas, restringindo significativamente o potencial hídrico das folhas, e os mesmos, se apresentaram altamente correlacionados. Com o aumento do estresse hídrico e do alagamento foram observadas reduções significativas na transpiração e conseqüente aumento na resistência difusiva. Foram observados aumentos significativos nos teores de solutos orgânicos, de acordo com a severidade dos tratamentos, sendo a prolina o soluto orgânico que apresentou maior sensibilidade à deficiência hídrica. Mudanças de jatobá não paralisam o seu crescimento quando cultivadas com baixa disponibilidade de água no solo na fase inicial do desenvolvimento. As plantas de jatobá são menos suscetível ao alagamento do que ao estresse hídrico, uma vez que as plantas sem água apresentaram um melhor ajustamento osmótico, embora esses resultados não sejam suficientes para testes no estudo de espécie florestais sob tais efeitos ambientais.

Palavras chave: Metabolismo do nitrogênio, alagamento, déficit hídrico, crescimento e ajustamento osmótico.

ABSTRACT

Jatobá is a Neotropical tree that has economical, ecological and environmental importance. Several research demonstrate that this species can be extracted many substances, besides it to have potential to uses in commercial and agroforestry reforestations. Excess or deficit in water supply to plant can promote metabolic changes and consequently to modify your growth. Plants when exposed to stress response through several defense mechanisms. Tolerance to dehydration is linked to substances called by osmoregulators such as carbohydrates, proline, glycine betaine, free amino acids, which will have function to keep water by the more time possible into plant tissue. Based in this information, this study haves aim to evaluate growth, eco physiological changes, and biochemical in Jatobá young plants subjected to water deficiency and flooding. Experiment was conducted in greenhouse environment located in Instituto de Ciências Agrárias (ICA) of Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), in Belém city, PA, Brasil. Experiment period was between 20/09/2008 to 20/05/2009. Jatobá young plants (*H. courbaril* L.), with 4 months of age, propagated via sexual, from seeds harvested in petroliferous province of Rio Urucu, operational base Geólogo 'Pedro de Moura' in Urucu, Coari city, AM, distance of 650 Km, in line, of Manaus city. Seeds were harvested in November of 2008, in areas of 20 extraction field: RUC06, RUC10, JAZ5, JAZ16, RUC 31; RUC 25; JAZ 97; JAZ 06; JAZ 16; JAZ 21; CL 10; CL 33; CL 11; CL 05; CL 04; SUC 03; SUC 02; SUC 01; LUC 29; LUC 39. After harvest, seeds were placed in paper bags hermetically closed and transported to laboratory of Fisiologia Vegetal of UFRA, Belém, PA. Plants were subjected to three water regimes (control, water deficit, and flooding), that were applied 30 days under water deprivation and flooding through a water lamina of 5 cm up soil, respectively. Design experimental was entirely randomized with three water conditions (control, water deficit, and flooding), with 15 replicates, totalizing 45 experimental units, each experimental unit was composed by one plant per pot. In results were applied variance analysis and average compared by the Tukey test in 5% significance level. Biochemical and ecophysiological variables were investigated, which present influence on vegetative growth of Jatobá plants. Water deficit and flooding provoke reduction in key enzyme activities related to nitrogen metabolism and changes in dehydrogenase alcohol and dehydrogenase lactate. Besides of this, water stress also changed behavior of nitrogen compounds such as amino acids, proteins, ammonium, producing osmoregulator

substances as proline, glycine betaine, carbohydrates, and sucrose. Water deficit and flooding affected plant development, being demonstrated in height, stem diameter, dry matter production. Water deficit and flooding applied act in water relations, reducing significantly leaf water potential, and these are highly correlated. During period under water deficit and flooding were showed significant decreases in transpiration, and consequent increase in diffusive resistance. Also were showed significant increases in organic solute levels, in agreement with treatment severity, being proline the organic solute that presented higher sensibility to water deprivation. Jatobá young plants paralyze not your growth when cultivated with low water available in soil during initial phase of development. This species studded is few susceptible to flooding, if compared to water deficit, because without water it presented adequate osmotic adjustment process, although these results are not sufficient to testes in study of forestry specie under environment effects.

Key words: Nitrogen metabolism, flooding, water deficit, growth, and osmotic adjustment.

1- INTRODUÇÃO

O jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) é uma árvore neotropical que tem importância econômica, ecológica e ambiental. Muitas pesquisas mostraram que dessa espécie podem ser extraídas algumas substâncias de uso medicinal, além de ter potencial para uso em reflorestamentos comerciais e agroflorestais.

A planta de jatobá é uma árvore que se encontra desde o sul do México até a grande parte da América do Sul, incluindo o Brasil, Guiana Francesa, Suriname, Venezuela, Bolívia e Peru. No Brasil pode ser identificada em todas as regiões, exceto no Sul. Acredita-se que o centro de origem do grupo tenha sido na África, e o centro de diversidade na Região Amazônica (LEE; LANGENHEIM, 1975).

A espécie em questão é encontrada em altitudes de até 900 m acima do nível do mar, em solos arenosos e argilosos bem drenados de terra firme e várzeas altas, mas raramente em campos abertos. Cresce bem em zonas úmidas com precipitação anual entre 1500 e 3000mm (MELO; MENDES, 2005).

Ademais, uma espécie clímax da família Fabaceae, considerada planta semidecídua, heliófita, pouco exigente em fertilidade e de fácil multiplicação por estaca, não podendo faltar na composição de reflorestamentos heterogêneos. Segundo Lorenzi (1998), os frutos contêm uma polpa que origina uma farinha muito nutritiva, consumida tanto pelo homem como pelos animais silvestres, além de produzir sementes com abundância e regularidade, sendo espécie com possibilidade de uso comercial (Campos; Uchida, 2002) e que segundo Panizza (1997) apresenta indicação medicinal, produzindo óleo essencial, taninos, materiais resinosos e péclicos, amido e açúcares, considerada as cascas e folhas utilizadas no tratamento de diarreias, cólicas intestinais, cistite, tosses, bronquite e asma.

O gênero *Hymenaea* surgiu na África a cerca de 65 milhões de anos, tendo sido espalhado e adaptado muito bem nas regiões neotropicais gerando assim, muitas espécies. A *Hymenaea courbaril* é considerada uma das mais bem sucedidas espécies deste gênero, com 17 variedades diferentes em florestas tropicais do México até os países tropicais da América do Sul. A *Hymenaea courbaril* L. (Hayne) é uma árvore de 20-30 m, com tronco de até 200 cm de diâmetro, encontrada em florestas estacionais semidecíduais e florestas umbrófilas densas e em zonas subtropicais secas e úmidas, tolerando precipitação entre 600 e 4200 mm, temperatura média anual entre 22 e 28 °C e solos com pH entre 4 e 7,5. É típica de floresta madura e primária, sendo considerada

espécie secundária tardia (ou clímax) na sucessão florestal (LEE; LANGENHEIM, 1975). Possui sementes grandes com cotilédones globóides não-fotossintetizantes ricos em reservas (BUCKERIDGE; DIETRICH, 1990).

As plântulas de *H. courbaril* são consideradas, em relação aos cotilédones de reserva, como fanerocotiledonar, epígea e globóide (SANTOS; BUCKERIDGE, 2004). Os cotilédones são compostos por 46% de carbono, 9% de proteína e 3,5% de lipídeos. As sementes germinam em sub-bosque da floresta madura, sendo as plântulas tolerantes a sombra. *H. courbaril* é nativa ao longo dos rios em florestas relativamente secas do Estado de São Paulo e de partes adjacentes do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Floresce de janeiro a novembro e os frutos estão geralmente maduros em setembro (LEE; LANGENHEIM, 1975).

Segundo diversos autores, a disponibilidade hídrica é um dos principais fatores que regula o crescimento e a sobrevivência de plântulas (TOBE; ZHANG; OMASA, 2005). O crescimento é o processo mais importante para se entender as respostas da planta em relação às mudanças no ambiente, sendo a água um recurso importante ao crescimento, pois promove o alongamento celular, síntese e hidratação de proteínas, e a entrada de nutrientes solúveis do solo (LAMBERS; CHAPIN; PONS, 1998). A quantidade deste recurso necessário para o crescimento vai variar de acordo com a espécie, desempenhando um papel importante no padrão de distribuição das espécies (SCHÜTZ; MILBERG; LAMONT, 2002).

A água, além de ser o componente majoritário da célula, é essencial ao crescimento e manutenção da turgescência. Segundo Petry (1991), a água é importante na manutenção da turgescência celular e por permitir a continuidade dos processos de crescimento vegetal, expansão, divisão celular e fotossíntese. O potencial de água da folha, bem como o conteúdo relativo de água é reduzido com o declínio da disponibilidade de água do solo (LAWLOR; CORNIC, 2002), levando à perda da turgescência e ao fechamento estomático (MANSUR; BARBOSA, 2000).

Nesse sentido, além do controle da perda de água em condições de deficiência hídrica através de alterações anatômicas e fisiológicas, ajustes metabólicos têm sido relatados visando um equilíbrio osmótico. O acúmulo de certos metabólitos proporciona às plantas uma diminuição do potencial osmótico (ψ_s) por meio de um aumento líquido nos solutos intracelular, podendo auxiliar na manutenção do turgor, sustentando a elongação celular e a expansão de regiões de crescimento (SPOLLEN; NELSON, 1994).

Para Angelocci (2002) a relação entre a área foliar e as dimensões do sistema radicular como fator a afetar a transpiração é considerada mais importante do que a própria área foliar isoladamente, visto que há defasagem entre a transpiração e a absorção de água durante o dia. Se a relação área de raízes-área foliar é baixa, pode ocorrer um déficit hídrico mais acentuado. Estudos sobre distribuição do sistema radicular são tidos como essenciais ao manejo adequado das plantas cultivadas. Além disso, a deficiência hídrica estimula o crescimento das raízes em profundidade para as zonas mais úmidas do perfil do solo (SANTOS; CARLESSO, 1998) e essa característica pode conferir adaptação à seca. (PIMENTEL, 2004).

A resposta da planta à seca é caracterizada por mudanças fundamentais na relação da célula com a água, nos seus processos fisiológicos, na estrutura de membranas e de organelas, além das mudanças morfológicas e fenológicas da planta, alterando, com isso, a relação do seu dossel com o ambiente. Na planta, o efeito do estresse é geralmente percebido como um decréscimo na fotossíntese líquida e crescimento e está associado com alterações no metabolismo do carbono e nitrogênio (YORDANOV; VELIKOVA; TSONEV, 2000).

Segundo Yordanov et al. (2000), os processos de desidratação em plantas tolerantes à seca evidenciam-se por mudanças nas relações hídricas, nos processos fisiológicos e bioquímicos, nas estruturas de membrana e estruturas de organelas celulares.

Como as respostas vegetais ao déficit hídrico são diferenciadas e ocorrem de maneira específica, qualquer espécie que tenha relevante interesse no meio científico e econômico, como o jatobá, deve ser testada a fim de verificar seu processo de crescimento e as suas modificações fisiológicas em situações de déficit hídrico, resultando em informações necessárias para seu cultivo nos mais diferentes locais com as mais variadas condições ambientais.

Atualmente, aproximadamente 70% da água potável disponível no mundo são utilizadas na agricultura e 40% dos alimentos são produzidas em solos irrigados. Nas décadas recentes, as bases moleculares e fisiológicas das respostas vegetais à seca têm sido o foco principal de pesquisas intensas (JONES, 2007).

Todo e qualquer ser vivo depende da água direta ou indiretamente em alguma de suas fases do desenvolvimento. Com os vegetais, não é diferente. A água é importante desde a fase inicial de crescimento até na produção de carboidratos durante a fotossíntese. A falta de água disponível pode levar a situação em que o vegetal pode

sofrer modificações em seu metabolismo e passar por um período de estresse. Mas o que é “estresse”?

Larcher (2006) considera que a seca é um estado ambiental no qual a demanda de energia pela planta é maior que a produção, o que leva a problemas fisiológicos, seguidos por aclimação e estratégias de adaptação nas gerações seguintes. Aí reside a importância de estudos que permitam compreender os efeitos do déficit hídrico sobre o desenvolvimento vegetal.

O termo estresse é usado constantemente por biólogos, ecólogos e agrônomos para descrever as respostas dos organismos submetidos aos fatores ambientais potencialmente desfavoráveis à vida (PLAUT, 1995). A deficiência hídrica é uma situação frequente à produção de muitas culturas, podendo gerar impacto negativo e expressivo ao crescimento e desenvolvimento das plantas cultivadas (LECOEUR; SINCLAIR, 1996).

Segundo Larcher (2006), estresse é um desvio das condições ótimas de desenvolvimento do vegetal, no qual podem ocorrer mudanças e respostas em parte do organismo ou nele como um todo. No início, essas alterações podem ser reversíveis, mas, dependendo da duração e da situação de estresse, podem ser irreversíveis, levando a danos permanentes ou até à morte. Lichtenthaler (1998) foi mais além e dividiu as respostas ao estresse, criando duas classes distintas: “Eu-stress” e “dis-stress”. O “eu-stress” é o que estimula e ativa elementos positivos no vegetal, melhorando seu desenvolvimento, enquanto que o “dis-stress” é aquele que causa problemas e afeta negativamente o vegetal, causando danos ou levando à morte.

Expansão celular, síntese da parede celular e síntese protéica estão entre os processos mais sensíveis ao déficit hídrico, que leva à conclusão de que a redução da expansão foliar é uma das primeiras respostas a pouca água disponível ou excesso da mesma, já que esse processo é dependente do crescimento celular (LECOEUR; SINCLAIR, 1996).

A regulação estomática para restringir a perda excessiva de água por transpiração é uma das primeiras linhas de defesa das plantas ao estresse hídrico, atuando como um recurso para prevenir a dessecação dos tecidos como resultado da desidratação e para manter a turgescência foliar por um período maior. Contudo, o fechamento estomático afeta a difusão do CO_2 para o interior das células, refletindo em futura redução na taxa de fotossíntese, e consequentemente na produtividade (LARCHER, 2000).

Todos os aspectos de crescimento e desenvolvimento das plantas podem ser afetados pela deficiência hídrica e saturação de água nos tecidos, causada pela excessiva demanda evaporativa e/ou limitado suprimento de água. Como consequência da deficiência hídrica, verifica-se uma desidratação do protoplasto e diminuição do volume celular, promovendo um aumento na concentrações de solutos. Aliado a isto, a diminuição da turgescência pode ser admitida como consequência do estresse hídrico, sendo o processo de crescimento, principalmente em extensão, o primeiro afetado (NOGUEIRA et al., 2005).

As diferenças entre espécies com relação ao crescimento e sobrevivência sob déficit hídrico estão nas diferentes maneiras adotadas para aquisição e transporte de água que evitem mudanças drásticas no metabolismo vegetal naquele determinado momento do ciclo de vida da planta (CHAVES et al., 2002).

O tipo de substâncias utilizadas no ajustamento osmótico depende da espécie e variedade. Entretanto, o grau de ajustamento depende da velocidade em que o déficit hídrico é aplicado, sendo cada vez maior o ajustamento quando o estresse é aplicado de maneira gradativa (KOZLOWSKI; PALLARDY, 2002).

O ajustamento osmótico contribui diretamente para melhoria de água transpirada, por aumentar a tolerância à desidratação. Essa tolerância a desidratação está ligada a substâncias também chamadas de osmorreguladores como os carboidratos, prolina, glicina betaina, aminoácidos livres, que terão como intuito de manter a água o mais tempo possível dentro do tecido vegetal (MUCHOW; CARBERRY, 1993).

As plantas sob a circunstância de seca sobrevivem fazendo um autobalanco entre a manutenção da turgescência e a redução da perda de água. Os mecanismos de tolerância à seca são: a manutenção da turgescência com o ajuste osmótico (um processo que induz o acúmulo dos solutos na célula); aumento na elasticidade na célula e diminuição no tamanho da célula e na tolerância à dessecação pela resistência protoplásmica (MITRA, 2001).

Inicialmente, foi atribuído aos solutos o principal mecanismo de ajuste osmótico, porém alguns estudos têm sido relacionados com outras possíveis funções, bem como para manter o crescimento da planta em situação de estresse (SERRAJ; SINCLAIR, 2002). O acúmulo destes solutos por si só não pode ser completamente responsável pela tolerância osmótica, mas as vias que regem os mecanismos de tolerância são moduladas por estes fatores (HASEGAWA et al., 2000).

A manutenção da turgescência celular também pode ocorrer pelo acúmulo de substâncias orgânicas e íons inorgânicos em resposta ao déficit hídrico (NOGUEIRA *et al.*, 2002). Esse mecanismo, denominado de ajustamento osmótico, contribui para a redução do potencial hídrico celular e assim favorece o influxo de água para o interior do vegetal.

A água participa como reagente em numerosas reações metabólicas e a sua falta afeta todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento dos vegetais (LARCHER, 2000). Diversos processos fisiológicos e bioquímicos, tais como a troca de gases entre o interior da folha e a atmosfera, a fotossíntese (PAGTER *et al.*, 2005) e o metabolismo dos carboidratos, das proteínas, dos aminoácidos e de outros compostos orgânicos, são alterados pela seca (SIRCELJ *et al.*, 2005).

O déficit hídrico pode alterar o metabolismo das plantas de diferentes maneiras. Entre elas, cita-se o mecanismo de ajustamento osmótico, que é caracterizado pela manutenção da turgescência celular, em baixos potenciais hídricos. A prolina e glicina-betaina são compostos envolvidos nesse mecanismo que mais se correlaciona com o déficit hídrico (MAESTRI *et al.*, 1995). Observa-se também, em condição de deficiência hídrica, um aumento da síntese do ácido abscísico (ABA) nas raízes, que é posteriormente transportado para a parte aérea, via xilema, após precipitação ou irrigação (HARTUNG *et al.*, 2002).

Tem sido observada em diversos estudos uma forte correlação entre o aumento na atividade das enzimas responsáveis pela hidrólise do amido e o acúmulo de açúcares em plantas submetidas à baixa disponibilidade de água. Quando polissacarídeos de reserva são mobilizados, o produto da hidrólise, frequentemente, é a sacarose, principal açúcar de transporte em plantas. Para que órgãos em crescimento (drenos) possam metabolizar essa sacarose, torna-se necessária sua degradação (MARTIM, 2003).

A redutase do nitrato (RN) é a primeira enzima na via de assimilação do nitrato, e provavelmente representa o passo limitante na incorporação do nitrogênio em plantas superiores (COSTA, 1999). Em função de sua importância, ela tem sido frequentemente utilizada como indicadora de estresses e de outras mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas (CARCELLER; PRYSTUPA; LEMCOFF, 1999).

Como parte do metabolismo global das plantas, o metabolismo do nitrogênio é afetado pelo déficit hídrico. Diversos trabalhos têm mostrado como e quando a redutase do nitrato é afetada, no entanto, no que tange a GS e a GOGAT há poucos relatos na

literatura e, além disso, os resultados encontrados são contraditórios. Como a assimilação do nitrogênio é reduzida sob tais condições, supõe-se que tais compostos originam-se da rotatividade de proteínas. São neste contexto que as enzimas envolvidas na incorporação de amônia a compostos orgânicos, os quais possivelmente agem como precursores para diferentes metabólitos, podem ter importante papel na sobrevivência de plantas durante estresse (FERREIRA et al., 2002).

O estresse causado pela saturação hídrica do solo elimina os espaços anteriormente ocupados pelo ar, limitando as trocas gasosas com a atmosfera. Em poucas horas as raízes e microrganismos consomem o O_2 dissolvido na água, criando um ambiente no solo hipóxico (com baixa concentração de O_2) ou anóxico (com ausência de O_2). O solo tornando-se hipóxico ou anóxico leva as raízes a uma situação de estresse fazendo com que as plantas respondam com maior ou menor eficiência, permitindo a distinção entre espécies tolerantes e intolerantes à baixa disponibilidade de O_2 (ARMSTRONG et al., 1994).

O excesso de água no solo causa redução imediata na troca de gases entre a planta e o ambiente (LIAO; LIN, 2001). A anoxia ou hipoxia sofrida pelo sistema radicular em plantas inundadas provoca queda imediata na respiração das raízes, tanto em plantas tolerantes quanto nas intolerantes (LIAO; LIN 2001). Tal condição provoca inibição da atividade metabólica e, conseqüentemente, da produção de ATP. A queda na produção de ATP restringe o suprimento de energia para o crescimento das raízes, causando redução no desenvolvimento geral da planta.

Revisão de Liao e Lin (2001) mostra que o alagamento do solo causa redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes e diminuição do crescimento e das atividades metabólicas das raízes, que, por sua vez, passam a demandar por menos carboidratos. Tais transformações provocariam acúmulo de amido nas folhas e esgotamento de carboidratos nas raízes.

Dentre as respostas das plantas à inundação, o fechamento dos estômatos, parcial ou total, é uma das primeiras respostas da parte aérea (KOLZOLOWSKI; PALLARDY, 2004). Uma das causas pode ser atribuída à diminuição do suprimento de água pelo decréscimo da condutividade hidráulica das raízes ou pela morte de raízes, causando queda no potencial hídrico das folhas. No entanto, a redução da condutância estomática pode, muitas vezes, não estar diretamente relacionada com o potencial de água nas folhas (PELACANI et al., 1995). Outros processos podem ser atribuídos ao fechamento dos estômatos, tais como o efluxo de potássio nas folhas de plantas em estresse,

causando perda de turgor; as altas concentrações de etileno e o aumento na produção de ácido abscísico (ABA) nas folhas (PEZESHKI, 1994).

Condições temporárias ou permanentes de alagamento (formação de lâmina de água) ou encharcamento (saturação com água) do solo são problemas globais que podem trazer sérios prejuízos para o desenvolvimento agropecuário. Embora em diversas regiões, sejam eventos raros, em outras podem ser um problema crônico, constantemente enfrentado pelos produtores. Em pastagens tropicais, o encharcamento ou o alagamento temporário do solo pode ser mais comum, pois nos trópicos muitas áreas de pastagens são geralmente localizadas em áreas marginais, não totalmente apropriadas para a agricultura (DIAS-FILHO, 1998).

Recentemente, a utilização de mutantes de *Arabidopsis* em relação à desidrogenase alcoólica forneceu evidências sobre o mecanismo de tolerância ao estresse hipóxico e anóxico em raízes e caules dessa espécie. A exposição prévia a baixos níveis de 5% parece aumentar a tolerância à hipoxia 0.1% por 48h) tanto na raiz quanto no caule. No entanto, a aclimação em condições hipóxicas não aumentou a tolerância à anoxia 0%. O pré-tratamento com ABA aumentou a sobrevivência da raiz em condições hipóxicas, o mesmo não acontecendo com o caule (ELLIS, DENNIS; PEACOCK, 1999).

A fim de suprimir o déficit de energia promovido pelo alagamento, com a paralisação da respiração aeróbica, algumas espécies redirecionam as vias metabólicas para garantirem a produção extra de ATP pelo aumento na taxa de fermentação (SETTER; ELLA, 1994). Nessas espécies, um grupo de 20 “polipeptídeos anaeróbicos” que catalizam reações da glicólise e do metabolismo de açúcarfosfatados, notadamente a desidrogenase alcoólica e lática é seletivamente sintetizada, mostrando-se, em certos casos, essencial para a sobrevivência de plantas sob hipoxia (LEMKE-KEYES; SACHS, 1989).

O conhecimento sobre a ecofisiologia e do crescimento de mudas de espécie arbóreas constitui-se numa importante pesquisa para áreas com riscos ou recuperação de áreas degradadas, devastadas inadequadamente pelo homem, tornando-se economicamente inviável. Desta forma, a produção de mudas por meio de suas técnicas de produção e de um manejo adequado para seu plantio, pode-se recuperar áreas com nenhum potencial tanto financeiro como ecológico, tornando-se viável pela recomposição destas áreas exploradas, através de um sistema de regeneração artificial (FONSECA et al., 2002).

As plantas cultivadas estão constantemente expostas a estresses abióticos ou bióticos, e às interações, que causam modificações no crescimento, metabolismo e rendimento agrícola. Lawlor (2002) destacou que os principais fatores abióticos limitantes da produtividade das culturas são: seca, salinidade, baixas e altas temperaturas, enchentes, poluentes e excesso de radiação, ademais, a seca é considerada o principal entrave da produtividade agrícola mundial (REDDY et al., 2004).

Nas raízes anóxicas ou hipóxicas falta energia suficiente para sustentar processos fisiológicos dos quais dependem as partes aéreas. Experimentos têm mostrado que a deficiência das raízes de trigo ou cevada em absorver íons de nutrientes e transportá-los para o xilema (e deste para a parte aérea) rapidamente leva à escassez de íons nos tecidos em desenvolvimento e expansão. A permeabilidade mais baixa das raízes à água, frequentemente possibilita um decréscimo do potencial hídrico da folha e a murcha, embora este decréscimo seja temporário se os estômatos fecharem, evitando mais perda de água por transpiração (TAIZ; ZAIGER, 2004).

As espécies mais adaptadas geralmente evitam a hipoxia, desenvolvendo um eficiente transporte de O_2 da parte aérea até as raízes submersas e apresentam geralmente modificações anatômicas e morfológicas como desenvolvimento de aerênquima, raízes adventícias, hipertrofia do caule e produção de lenticelas (PETERNELLI, 2003).

Os índices fisiológicos da avaliação de crescimento é campo de estudo amplamente pesquisado por agrônomos, biólogos e ecologistas, com o propósito de avaliar o desempenho das plantas cultivadas sob condição de estresses natural ou induzidas pelo homem. O crescimento e a acumulação da matéria seca das plantas são variáveis em função de fatores genéticos e ambientais, como o estado hídrico (HEBERT; GUINGO; LOUDET, 2001).

Apesar da importância econômica e ecológica do jatobá, existe carência de estudos relacionados com o comportamento destas espécies, principalmente na fase jovem quando submetidas às condições de estresse hídrico (déficit e alagamento). O plantio de espécies florestais, qualquer que seja sua finalidade, requer o conhecimento prévio das suas características fisiológicas assim como de suas exigências em relação aos diversos fatores ambientais, em especial, na fase inicial do crescimento.

Em outras palavras, qual seria a importância relativa do processo de assimilação de nitrogênio na tolerância ao déficit hídrico e ao alagamento? Uma vez compreendida esses mecanismos moleculares de interações metabólicas e de tolerância aos estresses,

poder-se-á eleger caracteres bioquímicos específicos tais como: enzimas tolerantes ao estresse, produção de solutos osmoticamente compatíveis, proteínas induzidas pelo estresse, estímulo de vias de biossíntese estratégicas - escape, para que alguns deles possam ser incorporados em programas de melhoramento genético pela via convencional ou através da biotecnologia com obtenção de plantas transformadas, visando maiores produções sob condições de estresses ambientais.

Com base no contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento e as alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1- Condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação localizada no Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém, PA, Brasil. O período foi de 20/09/2008 a 20/05/2009. Foram utilizadas mudas de Jatobá (*H. courbaril* L.) como 4 meses de idade, propagada sexualmente, provenientes de sementes coletadas na Província Petrolífera do Rio Urucu, Base Operacional Geólogo 'Pedro de Moura' em Urucu, município de Coari, AM, distando cerca de 650 km, em linha reta, de Manaus.

As sementes foram coletadas em novembro de 2008, em áreas de 20 clareiras ou jazidas: RUC06, RUC10, JAZ5, JAZ16, RUC 31; RUC 25; JAZ 97; JAZ 06; JAZ 16; JAZ 21; CL 10; CL 33; CL 11; CL 05; CL 04; SUC 03; SUC 02; SUC 01; LUC 29; LUC 39. Após a coleta, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel hermeticamente fechados e transportados para o laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRA, Belém, PA.

Os vasos utilizados tinham 0,30 m de altura por 0,30 m de diâmetro, com capacidade de 28 Kg de substrato. Cada vaso foi completamente cheio com substrato (mistura), sobre uma camada de 0,02 m de pedras britadas para facilitar a drenagem do solo. Além disso, foram etiquetados para a identificação de cada tratamento e tempo ao longo do experimento. O substrato foi constituído de uma mistura de 3:1: 1 (v:v:v), sendo [(3) terra preta, constituída do solo latossolo amarelo, textura média (Tabela 2), previamente seco ao ar e retiradas as impurezas através dos processos de peneiramento e catação respectivamente, (1) esterco de galinha e (1) húmus de minhoca]. O solo utilizado foi seco ao ar e peneirado para a retirada das impurezas. Foi feita a correção dos teores de macro e micronutrientes do solo e pH do solo, pela análise química do solo feito no laboratório de solos da Embrapa Amazônia Oriental como mostra a Tabela 1, e aplicando-se 600 mL de solução nutritiva completa (HOAGLAND; ARNON, 1950), dividida em 3 meses, para cada mês 200 mL de solução nutritiva completa antes do início do experimento. Durante o período do experimento as plantas foram irrigadas diariamente para evitar a perda por evapotranspiração. Apartir de então, foi realizada limpeza diária por meio de capina manual, e não foi observado nenhum problema de fitossanidade.

Tabela I - Características químicas do solo utilizado no experimento.

QUÍMICA							
pH	pH	N	MO	P	K	Na	Ca
H ₂ O	KCl	%	g/Kg		mg/dm ³		
4,9	4,3	0,2	12,6	2	22	11	0,6
Ca + Mg	Al	H + Al	Cu	Mn	Fe	Zn	
cmolC/dm ³				mg/Kg			
0,9	0,9	6,51	0,8	10	172,1	1,4	

Tabela II - Características físicas do solo utilizado no experimento.

GRANULOMÉTRICA (g/Kg)				
Areia grossa	Areia fina	silte	Argila total	Argila natural
345	357	163	116	20

2.2- Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com três condições hídricas: controle, déficit hídrico e alagamento, com 15 repetições, totalizando 45 unidades experimentais, cada unidade experimental foi composta de uma planta/vaso. Foi aplicada a análise de variância nos dados coletados e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Ainda, foram calculados os desvios-padrões para cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas pelo programa SAS- institute (1996) e embasadas nas teorias estatísticas preconizadas (GOMES; GARCIA, 2000).

2.3- Conduções das plantas

As plantas foram submetidas a três regimes hídricos [irrigado (controle), déficit hídrico e alagamento], durante 30 (trinta) dias sob suspensão da irrigação e alagamento, sendo que o alagamento foi obtido quando uma lamina de água de 5 cm estava acima do

solo. Durante o período do experimento as “plantas controles” foram irrigadas diariamente para repor a água perdida, sendo feita individualmente para cada vaso, levando em consideração de pesagens diárias formando um conjunto (vaso + planta + solo) e também o controle de plantas daninhas a partir da capina manual, sem ocorrência de deficiência nutricional, pragas e patógenos.

2.4- Variáveis ambientais e biofísicas

As variáveis ambientais como a temperatura e a umidade relativa do ar, utilizando-se um termo-higrômetro (mod. 5203, Incoterm, RS, Brasil). A radiação fotossintética da folha (RAF), temperatura da folha, transpiração e condutância estomática foram adquirida através do porômetro portátil de equilíbrio dinâmico (mod. Li 1600, Licor, Nebraska, USA), sob luz e CO₂ ambientais. Foram analisadas folhas definitivas e totalmente expandidas, nas quais as medições foram feitas às 10:00 h, coincidindo com a retirada das amostras para as análises bioquímicas.

O potencial hídrico foi determinado na antemanhã (ψ_{am}), entre 4:30h e 5:30 h, e às 09:00 h (potencial hídrico do xilema, ψ_x) e as determinações das trocas gasosas respectivamente, utilizando-se uma bomba de pressão do tipo Sholander (mod. Pms Instrument Co, Corvalles, USA), conforme descrito por DaMatta et al., (1993).

2.5- Crescimento e variáveis bioquímicas

Foram utilizadas plantas cuja biomassa foi medida no ato de cada coleta destrutiva do experimento. As plantas, após serem coletadas, foram levadas ao laboratório de Fisiologia Vegetal e secas em uma estufa de circulação forçada a 65°C por 24 horas. Através deste processo, foi determinada a massa seca em balança analítica.

Foram feitas coletas destrutivas às 9:00 horas, e separadas em raiz, caule, folhas. Em seguida, as partes foram pesadas separadas para a determinação de massa fresca. As amostras de cada parte da planta foram reservadas para a determinação da porcentagem de umidade por meio da determinação da massa seca em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C +/- 5° C. Imediatamente após a coleta, o material seco foi levado para um moinho para preparo de pó fino, armazenados em frascos hermeticamente fechados e colocados em um dessecador até o momento das análises.

2.6- Medidas de crescimento e determinações bioquímicas

2.6.1 Medidas de crescimento

1. Massa seca da parte aérea.
2. Massa seca das raízes.
3. Número de folhas.
4. Altura da planta (feito através de uma fita métrica)
5. Diâmetro do caule (feito através de um paquímetro digital).
6. Área foliar (aparelho de medidor de área foliar modelo AM-300).
7. Massa seca total.

2.7- Determinação da atividade da redutase do nitrato

Foram pesados, aproximadamente, 200 mg de discos das raízes e das folhas de 0,5 cm de diâmetro. As amostras foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH=7,5; contendo isopropanol 1% (v/v), KNO₃ mM) e estes cobertos com papel alumínio (tratamento escuro). Em seguida, os tubos foram evacuados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Por seguinte, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos, na ausência de luz. Em tubos de ensaio tipo pirex, foram adicionados alíquotas de 1 mL de tampão fosfato + 2 mL do extrato diluído + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de N-1-naftiletilenodiamina dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5 mL. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso por 15 minutos. A leitura foi no espectrofotômetro à 540 nm contra o branco (3,0mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO₂⁻ no meio de reação, sendo expressa em $\mu\text{moles de NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, a partir de uma curva-padrão obtida com KNO₂ p.a (Sigma). O método empregado foi o método *in vivo* preconizado por (HAGEMAN; HUCKLESBY, 1971).

2.8- Determinação das concentrações de prolina

Foram pesados 50 mg de massa seca das raízes e das folhas (MS) em pó e, em seguida, levados para tubos de ensaio de 15 mL e adicionados 5 mL de água destilada e colocados em “banho-maria” durante 30 min a 100° C. Após a extração, as amostras

foram centrifugadas durante 20 minutos em centrífuga de bancada (1.000 rpm), logo após o processo de centrifugação, foi retirado 1 mL do sobrenadante coletado de cada amostra e transferido imediatamente para os tubos de ensaios, nos quais foram adicionados + 1,0 mL de ninhidrina ácida + 1,0 mL de ácido acético glacial (99,5%) (os tubos foram fechados hermeticamente) e agitados em vortex e colocados novamente em “banho-maria” a 100° C por 1 hora. Depois de então, a reação com banho de gelo e adicionando 2,0 mL de tolueno e agitado vigorosamente em vortex por 20 s (o tolueno extraiu a substância cromófora formando um complexo colorido = róseo para vermelho). Assim que se atingiu a temperatura ambiente, realizou-se o processo de aspiração com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de plástico a fase não-aquosa (cromóforo + tolueno = parte superior). Efetivou-se a leitura em espectrofotômetro a 520 nm usando tolueno como branco. As concentrações de prolina foram determinadas a partir da curva-padrão com L-prolina p.a (Sigma) e os resultados foram expressos em μmol prolina/g MS. Para isso, utilizou-se o método descrito por (BATES; WALDREN; TEARE, 1973).

2.9- Determinação das concentrações de carboidratos solúveis totais

Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das raízes e das folhas, e colocadas em tubos de ensaio de 15 mL e homogeneizados com 5 mL de água destilada e colocados em banho-maria por 30 min a 100° C. Os tubos supracitados foram retirados do “banho-maria” e levados para extração das amostras através da centrifugação em centrífuga de bancada (1.000 rpm) durante 10 minutos, em que, os sobrenadantes coletados, retirou-se uma alíquota de 100 μL do sobrenadante (realizando o teste de diluição) junto com 400 μL de H_2O em tubos de ensaio e sob agitação vigorosa e homogeneização através do vortex. Depois disso foram adicionados 0,5 mL de fenol 5% e agitando novamente vortex e adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H_2SO_4 concentrado. Assim, foram agitados os tubos colocados na bancada para repouso por 20 minutos e sua leitura foi feita no espectrofotômetro a 490 nm, tendo como o branco a utilização de água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes, que foram colocados na seguinte proporção de 0,5 mL de água destilada + 0,5 mL de fenol 5% + 2,5 mL de H_2SO_4 . Para o cálculo das concentrações de carboidratos solúveis totais utilizou-se uma curva-padrão de glicose e os resultados foram expressos mmol de glicose/ g MS. Para isso, utilizou-se o método descrito por (DUBOIS et al., 1956).

2.10- Determinação das concentrações de aminoácidos solúveis totais

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

2.11- Determinação das concentrações de amido

Foi feita uma extração etanólica de 50 mg da massa seca das raízes e das folhas em 5,0 mL de etanol 80%, por 30 min a 80° C), depois foi promovida uma nova extração com 5,0 mL de HClO₄ 30% por 30 minutos a 25 °C. A partir da primeira e da segunda extração foram levadas para centrifuga (2000 rpm por 10 minutos) e coletados os sobrenadantes. Estes de cada extração foram unidos e aferidos ao volume para 10 mL com água destilada para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram colocados 100 µL do sobrenadante + 400 µL de H₂O destilada e agitando-se em vortex, adicionando-se 0,5 mL de fenol 5% e agitando no vortex, logo depois foi adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado e novamente agitado os tubos em vortex e levado após 20 min de repouso ao espectrofotômetro a 490 nm. Para o cálculo das concentrações de amido utilizou-se uma curva-padrão de glicose e os resultados mmol de glicose/g de resíduo. O método utilizado foi segundo (DUBOIS et al., 1956).

2.12- Determinação das concentrações de proteínas solúveis totais

Foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL 100 mg de pó da matéria seca (MS) das raízes e das folhas em 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25 mM pH 7,6). Em seguida os tubos, devidamente lacrados, ficaram sobre o processo de agitação durante 2 horas no “shacker”. Após esse processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 minutos). Em seguida, foram colocados nos tubos de ensaios 100 µL do sobrenadante após a centrifugação + 2,5 mL do reagente de Bradford. Após este processo os tubos manualmente foram agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Com 15 min de repouso as leituras foram realizadas no espectrofotômetro a 595 nm, contra o branco que encerra 100 µL de água + 2,5 mL do reagente de Bradford. As concentrações de proteínas solúveis totais foram estimadas a partir da curva-padrão construída com soro albumina bovina p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mg proteína/ g MS. As concentrações de proteínas solúveis totais foram determinadas segundo o método de (BRADFORD, 1976).

2.13- Determinação das concentrações de amônio livre

Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das raízes e das folhas em pó, e colocados em tubos de ensaio de 15 mL, adicionando-se 5 mL de água destilada e levados ao banho-maria por 30 min a 100 °C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram acrescentados 400 µL de extrato total + 2,5 mL da solução A (5 g de fenol + 0,025 g de nitroprussiato de sódio/ 500 mL de água destilada) e homogeneizado em vortex, acrescentando mais 2,5 mL da solução B (2,5 g de NaOH + 12,6 mL de hipoclorito de sódio/ 500 mL de água destilada) e foram agitados novamente em vortex, levando-os ao banho-maria por 20 min a 37 °C. Após esse período foram removidos do “banho-maria” e deixados em repouso por 40 min, em seguida, levados para fazer a leitura no espectrofotômetro a 625 nm e usando-se água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes como branco. As concentrações de amônio livre foram estimadas a partir da curva-padrão construída com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mmol de NH_4^+ / Kg de MS. Para isso utilizou-se o método descrito por (WEATHERBURN, 1967).

2.14- Determinação das concentrações de sacarose

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

A cada 2,0 mL do sobrenadante adicionou-se 0,5 mL de clorofórmio e 750 µL de água deionizada, seguindo-se sob agitação e centrifugação (2000 rpm, por 10') para a separação da fase aquosa. Após esse processo foi retirada com uma pipeta de Pasteur a fração aquosa metanólica (superior) e transferida para tubos de ensaio, a partir daí os tubos com a fração aquosa metanólica foram levados ao banho-maria e aquecidos a 35°C por um período de 30 minutos a 45 minutos para evaporação do clorofórmio residual e então foi determinado o volume restante.

A quantificação da amostra foi realizada tomando-se alíquotas de 100 µL da fase aquosa adequadamente diluída adicionando 100 µL de KOH 30%. Após a vigorosa agitação a mistura foi aquecida a 100°C por 10 minutos e, após resfriamento, foi adicionado imediatamente 3,0 mL de solução de antrona 0,2 %, em ácido sulfúrico e a mistura ficou sob agitação e aquecida a 40°C por 20 minutos. Após resfriamento, agitou-se as amostras 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. A determinação das concentrações de sacarose foi determinada segundo o método (VAN HANDEL, 1968).

2.15- Determinação das concentrações de nitrato

Foram pesados 50 mg das folhas e das raízes previamente liofilizadas, e adicionadas em tubos de ensaio contendo 5,0 mL de água destilada, e estes incubados em banho-maria por 30 minutos a 100 °C. Em seguida, este quantitativo foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos e retirado o sobrenadante. A reação foi preparada em tubo de ensaio contendo 100 µL do extrato + 200 µL de solução de ácido salicílico 5 % (p/v), em ácido sulfúrico concentrado. Após vigorosa agitação em agitador do tipo vortex, os tubos foram adicionados lentamente 4700 µL de NaOH 2 N.

Em seguida, os tubos foram deixados em repouso até atingirem a temperatura ambiente por cerca de 20 minutos. Após este processo, foram feitas leituras em espectrofotômetro na absorvância de 410 nm. O branco foi feito usando no ensaio água deionizada em substituição ao extrato. A concentração de nitrato foi obtida a partir de uma curva padrão com concentrações crescentes de NO_3^- (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 $\mu\text{mol mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em $\text{mmol de NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1} \text{ MS de tecido}$. O método utilizado foi o de (CATALDO et al., 1975).

2.16- Determinação da atividade da glutamina sintetase

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

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

2.17- Determinação das concentrações de glicina-betaína

Foram transferidos 25 mg de massa seca das folhas e das raízes para tubos eppendorfs de 2 mL, sendo adicionados 2 mL de água destilada e agitado por 4 h no

“shacker” a 25 °C (extração a frio), e centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos a 25 °C, após a centrifugação, foi coletado o sobrenadante para obtenção do extrato aquoso e descartado o precipitado.

No eppendorfs de 2 mL adicionou-se 250 µL do extrato aquoso + 250 µL de H₂SO₄ 2N (diluição da amostra 1:2) e os eppendorfs permaneceram durante 1h no banho de gelo (na geladeira - de 0° a 4° C), e adicionado 200 µL de KI-I₂ gelado, mantido durante 16h a 0°C (banho de gelo na geladeira – 0° a 4°C). O processo de centrifugação foi de 15 minutos, 10.000 rpm a 0 °C. eliminou-se o sobrenadante. Foi lavado o precipitado 2 vezes com 2 mL de H₂SO₄ 1N gelado com centrifugações por 5 minutos, 10.000 rpm, 0 °C para cada lavagem (não agitar enquanto estiver lavando). Após as lavagens, foi dissolvido o precipitado em 3 mL de 1,2-dicloroetano agitando vigorosamente e realizando-se diluições 1:6 (diluição para a curva) ou testadas outras maiores (1:12, 1:24 ou 1:48 para as amostras - a diluição vai depender da quantidade de glicina-betaina precipitada). Assim, depois de 2 a 2,5 h de descanso, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 365 nm, usando-se água destilada + reagentes, como branco. Durante todo o ensaio foram mantidas as amostras entre as temperaturas de 0 °C a 4 °C. Para os cálculos, uma curva padrão de glicina-betaina foi preparada e os resultados foram expressos em mmol.Kg⁻¹ MS. O método utilizado foi segundo (GRIEVE; GRATAN, 1983).

2.18- Atividade da álcool desidrogenase e atividade da lactato desidrogenase

Para a extração das proteínas, os tecidos vegetais foram então homogeneizados em meio extrator, com a seguinte composição em mol.m⁻³: tampão Tris-HCl (pH 6,8), 50 ; Na⁺ 110; EDTA, 1; tiamina pirofosfato (TPP), 0.5; Mg⁺², 2,5 e ditioneitol (DTT), 2. Em seguida, centrifugou-se a 20000 g por 10 minutos a 4 °C. Aliquotas de 100 mL do sobrenadante foram adicionadas à mistura de incubação específica para cada enzima, cujo volume final foi de 3 mL. A mistura de incubação para a desidrogenase alcoólica foi composta em mol.m⁻³ por tampão Tris-HCl (pH 8,9), 50; ditioneitol (DTT) 2; bNAD 0,25; e 100 mL de etanol a 96%. A reação foi quantificada na direção da oxidação do etanol (BERTANI et al., 1980). A mistura de incubação para a desidrogenase láctica foi composta em mol.m⁻³ por tampão Tris-HCl (pH 9,9), 50; glicina, 100; sulfato de hidrazina, 5; e 100 mL de lactato de sódio, 60. A reação foi quantificada na direção da oxidação do lactato (HOFFMAN; HANSON, 1986). Após três minutos a 25 °C, as

atividades das enzimas foram quantificadas a 340 nm, utilizando-se $\text{DH} + \text{H}^+$ como padrão.

2.19- Determinação de ácido abscísico

As amostras de folhas e raízes foram coletadas no mesmo horário em que foram realizadas as análises de trocas gasosas. Foram coletados 5 discos foliares de 1,25cm diâmetro de folhas completamente expandidos, do terceiro ou quarto pares a partir do ápice e 5 gramas de raízes aleatoriamente do sistema radicular de plantas controle e estressadas. Após a coleta, as amostras de folhas e raízes foram imediatamente congeladas em N (nitrogênio) líquido e posteriormente liofilizadas.

2.19.1- Extração e purificação

Foi utilizado o protocolo descrito por Ross et al.,(2004), com algumas modificações. Os tecidos de folha e raiz liofilizados foram macerados em N líquido com 100% de polyvinylpyrrolidone (PVPP). Foram utilizados 50 mg de massa seca de folhas e 200 mg de massa seca de raiz. Em seguida, foi colocado o solvente de extração (acetona/ H_2O /ácido acético: 80/19/1). Para folhas utilizou-se 1,5 mL e para raiz 2,5 mL do solvente de extração. O extrato foi transferido para outro tubo. O almofariz foi lavado com mais 500 μL do solvente de extração (acetona/ H_2O /ácido acético: 80/19/1) e transferido para o mesmo tubo, adicionando-se 40 ng de (-)-5,8',8',8'-d₄-ABA deuterado. 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 250 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 900 μL de H_2O /ácido acético (99/1) e, em seguida, centrifugado (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 1 mL de metanol/ H_2O /ácido acético (80/19/1). O extrato foi liofilizado e o concentrado foi ressuscitado em 220 μL de (85/15) (H_2O /acetonitrila com 0,07% de ácido acético), agitado em baixa velocidade por 5 min (4°C), sonificado por 5 min e centrifugado (15.000 x g/10 min/4°C). O sobrenadante foi, em seguida, transferido para via injetora.

2.19.2- Separação por HPLC e detecção por MS/MS

As separações cromatográficas das amostras de folhas e raízes foram feitas em um cromatografo líquido de alto desempenho (Shimadzu, Tóquio, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo (Micromass, modelo Quattro II com fonte Z-sprayTM, Manchester, Reino Unido). O HPLC possuía 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 a espectrometria de massa no modo de ionização *electrospray* negativo (HPLC/MS/ESI-). As amostras foram analisadas, utilizando-se de uma coluna cromatográfica C-18 Supelcosil (Supelco; 15 cm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 mm de tamanho da partícula), com fluxo de 0,3 ml min⁻¹. Os eluentes usados foram ácido fórmico 0,1% (A) e acetona (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 30 V e 5 V, respectivamente, energia de colisão de 15 Ev, fluxo de gás de secagem 400 L h⁻¹, fluxo de gás de dessolvatação de 15 L.h⁻¹ e argônio como gás de colisão. Os dados foram processados pelo software MassLynx NT (versão 3,2, Micromass, Altricham, Reino Unido). A detecção e a 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 ABAd₄, 267 → 156).

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.0- Resultados ambientais durante o experimento

A temperatura do ar mínimo-máxima e umidade relativa do ar foram de: 24,5/39,1 e 53,3% a 91%, respectivamente. O fotoperíodo médio foi de 12h e a radiação fotossinteticamente ativa variou de $42 \mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $968 \mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$ (às 13h00). Sendo assim, as médias para a Tar, Tfol e UR, foi calculado que DPV_{FA} variou de 0,38 kPa a 1,89 kPa. A temperatura média da folha foi de 30,3 °C, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

3.1- Potencial hídrico

Os potenciais hídricos das plantas irrigadas (controle), sob alagamento e sob deficiência hídrica foram, respectivamente, de -0,6 MPa; -1,1 MPa e -2,8 MPa (Figura 1). Esses resultados sugerem que nas plantas sujeitas ao alagamento a diminuição do potencial hídrico deve está relacionada com a baixa concentração de O_2 , apesar das raízes estarem submersa totalmente em água, as plantas mostraram uma deficiência de água no tecido foliar. Entretanto, essa diminuição deve ter promovido uma mudança do comportamento do metabolismo da planta, tais como, a fosforilação oxidativa para a fosforilação do ADP para ATP em reações que ocorrem exclusivamente na glicólise e na fermentação, fazendo com que a capacidade de síntese também mude de 36 ATP, quando da respiração aeróbica, para apenas 2 ATP com a fermentação. Contudo, essa diminuição de ATP pode estar envolvida com a baixa atividade das proteínas aquaporinas que estão relacionadas com o transporte de água na raiz. Além disso, a baixa energia promoveu uma redução no crescimento radicular (Figura 19-B) reduzindo a absorção de água e nutrientes do solo.

No solo com deficiência hídrica, as plantas tiveram uma redução maior do potencial hídrico em relação às plantas alagadas, indicando que a suspensão hídrica de 30 dias do solo foi suficiente para a redução do crescimento radicular (Figura 19-B) e, conseqüentemente, uma menor absorção de água pelas raízes. A deficiência hídrica, provavelmente, deve promover um decréscimo dos solutos orgânicos e um aumento dos níveis de etileno nas raízes, ocasionando um desbalanço hormonal e que, com isso, afetaria a permeabilidade da membrana e as proteínas de transporte das raízes.

Esses resultados corroboram com os encontrados por Liberato et al., (2006), que verificaram reduções no potencial hídrico de até 70% em plantas de acariquara (*Minquartia guianensis* Aubl.) sem irrigação comparadas com plantas irrigadas diariamente e por Costa e Marengo, 2007 em planta jovens de andiroba.

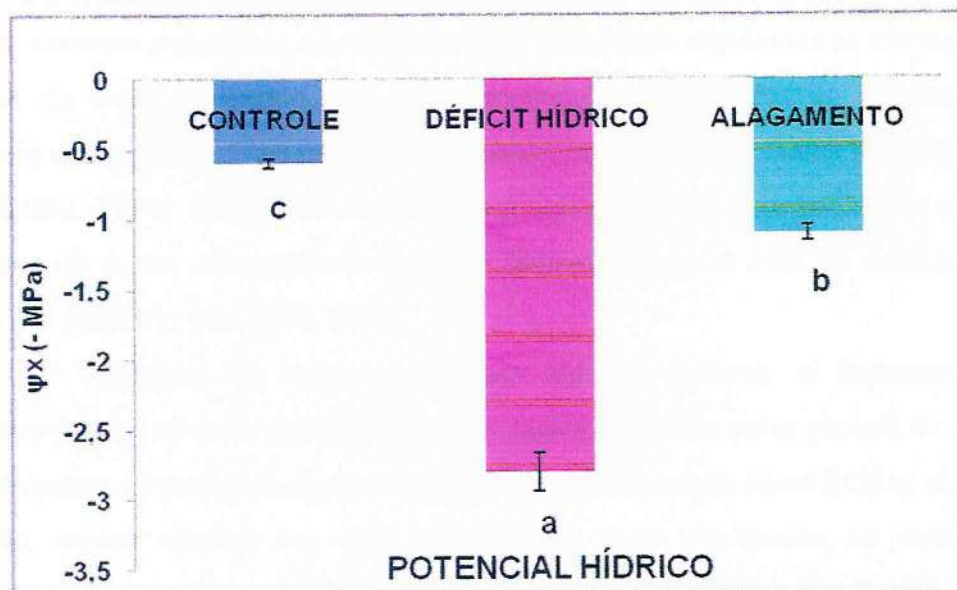


Figura 1. Potencial hídrico da folha de planta de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.2-Condução estomática, transpiração e concentrações de ácido abscísico

Os valores obtidos da condutância estomática foram de $0,12 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, $0,28 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e $0,49 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ sob déficit hídrico, alagamento e controle, respectivamente, mostrando que houve diferenças significativas entre os tratamentos (Figuras 2 A). Essa redução significativa da condutância estomática sobre o alagamento e o sobre o déficit hídrico está relacionado à diminuição do potencial hídrico foliar (Figura 1) e ao aumento das concentrações de ácido abscísico na raiz e na folha (Figura 2-C). Entretanto, esse aumento na concentração de ABA não levou ao completo fechamento estomático, pois folhas ainda possuía uma baixa taxa de transpiração (Figura 2 B)

Conforme relatado por Centrito, (2003), a diminuição da condutância estomática (g_s) é uma das primeiras respostas ao estresse ambiental, contudo se esta

alagada e déficit hídrico (Figura 2-C). Esses resultados se devem a possível tripla função do ABA que, a curto prazo, diminui a condutância estomática, e consequentemente, a redução da transpiração. Por outro lado, quando se trata de longo prazo o ABA deve promover a síntese de proteínas, tais como a LEA (*late embryogenesis abundant*), a formação de canais iônicos, e as enzimas da biossíntese da prolina (Figura 13), açúcares (Figura 8 e 9) e as enzimas antioxidantes. Entretanto, o ABA (ácido abscísico) deve estar envolvido na redução da parte aérea e crescimento das raízes, em geral.

Como podemos observar, uma das funções do aumento ácido abscísico é evitar a perda de água por transpiração, a partir da redução da condutância estomática (Figura 2-A e 2-B). Além disso, o aumento do ABA promoveu uma diminuição da parte aérea (Figura 6), servindo também de uma válvula de escape para evitar a perda de água pelo processo de transpiração (Figura 2-B).

Os níveis de ácido abscísico foram maiores nas raízes no que tange às folhas (Figura 2-C), e este aumento se deve, provavelmente, a biossíntese deste hormônio ocorre preferencialmente no sistema radicular, ademais, os resultados também mostraram que as plantas sob deficiência hídrica são mais sensíveis do que as plantas sob alagamento, indicando que esse parâmetro é mais responsivo ao estresse hídrico do que ao alagamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Gomes et al., 2004, trabalhando com plantas de laranjeiras.

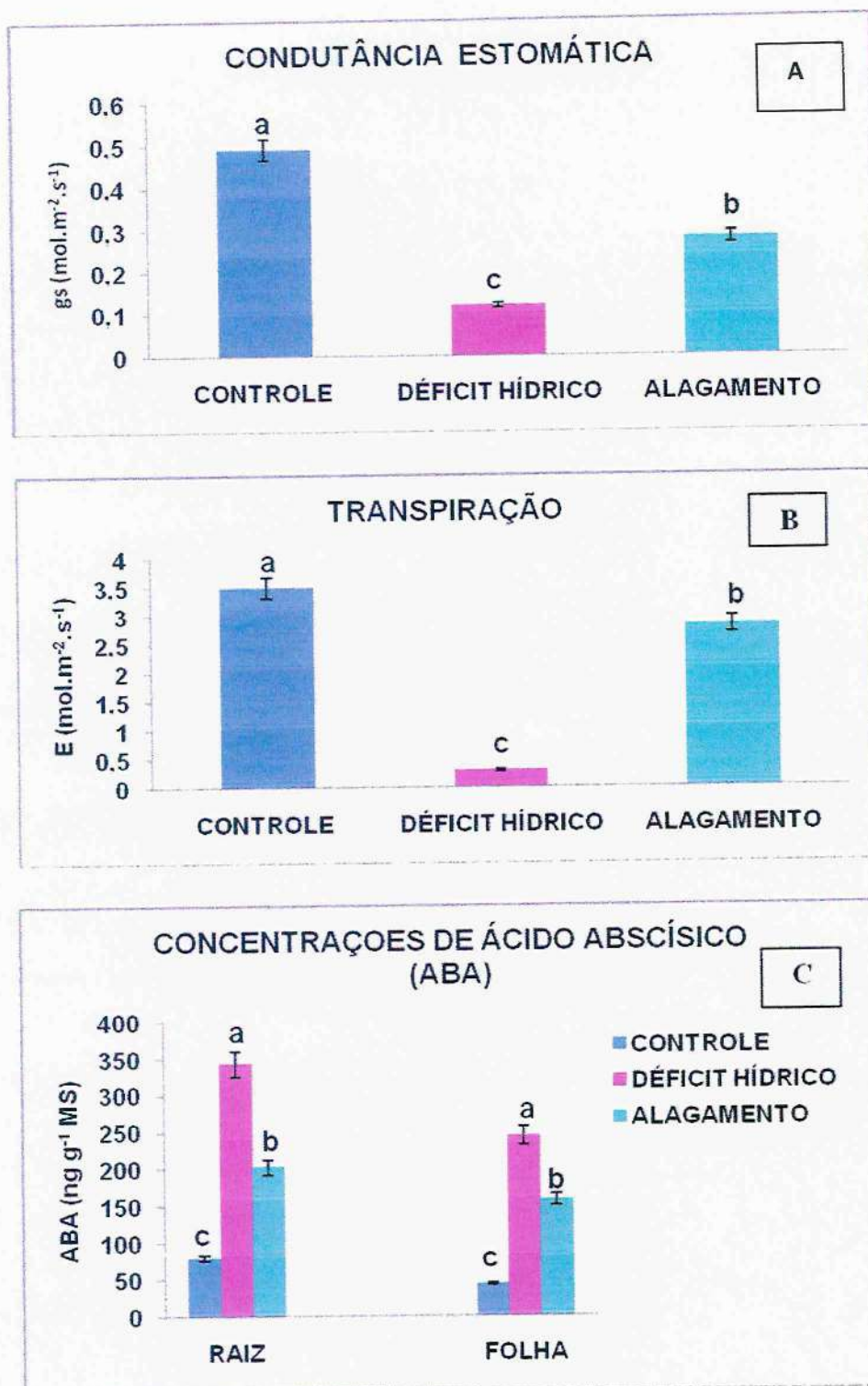


Figura 2. Condutância estomática (A), transpiração (B) e concentrações de ácido abscísico (C) em folhas e raízes de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.3- Atividade da redutase do nitrato

Os valores encontrados nas raízes foram 0,290 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$, 0,409 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$ e 0,051 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$ para as plantas controle, alagadas e déficit hídrico e nas folhas 0,190 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$, 0,306 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$ e 0,017 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$ para as plantas controle, alagadas e déficit hídrico, respectivamente mostraram que houve uma diferença significativa para as plantas controle, alagadas e sob déficit hídrico (Figura 3). Os resultados dessa atividade foram maiores em solos anóxicos em comparação aos solos areados, tanto na raiz quanto na folha devido ao possível aumento de NADH (aceptor de elétrons), uma vez que esta enzima é altamente dependente desse poder redutor.

O aumento do NADH promoveu a redução do nitrato (Figura 4) e diminuiu a taxa de fermentação etanólica ou láctica, em especial o ácido láctico que pode ser tóxico e pode ser facilmente excretado como o etanol e o ácido nítrico que vai tentar ajudar no equilíbrio do metabolismo da planta.

A redução da concentração de nitrato (Figura 4), e o possível acúmulo de nitrito são muito menores que poderia se esperar para a alta atividade da redutase do nitrato do extrato. Isso indica que para as raízes e folhas as taxas de redução de nitrato não foram somente ditadas pelo estado da ativação desta enzima, mas também por outros fatores como a disponibilidade de substrato.

Por outro lado, isso comprova que esta enzima citosólica, de extrema importância para o metabolismo vegetal, tem a sua síntese e sua atividade induzidas pelo substrato (DONATO et al., 2004). Contudo, a atividade dessa enzima para os tratamentos de estresses, hídrico ou alagado, pode ser provavelmente devido à presença constante do nitrato (NO_3^-) vindo da reserva do vacúolo e que por isso, sua atividade foi mantida baixa ou ainda poderia ser devido a sua síntese *de novo* (ANDRADE NETTO, 2005).

De modo geral, os resultados encontrados estão de acordo com o envolvimento das rotas metabólicas para explicar o consumo do nitrato e o transporte de nitrato à parte aérea da planta. Essa diminuição nas plantas sob hipoxia se deve ao aumento da aRN e a diminuição do potencial hídrico (Figura 1) da planta, no qual apesar da redução da absorção desse nutriente pela diminuição de energia (ATP) nas raízes, esse substrato (NO_3^-) pode estar armazenado do vacúolo celular e aos poucos vão sendo liberado para o citossol para fomentar a alta da atividade aRN e consequentemente a diminuição de

nitrato (Figura 4), pois este mecanismo de absorção é um processo ativo, e por conseguinte o aumento nas concentrações de amônio (Figura 5).

As altas concentrações de NH_4^+ livre (Figura 5) acumulado em condições de estresse é, provavelmente, produzido não pela rápida redução de NO_3^- , mas por meio da ação de enzimas proteolíticas. Então, os resultados mostraram a forte dependência da redutase do nitrato por uma manutenção adequada do fluxo transpiratório de água através da planta. Esta dependência tem sido reportada na literatura e, a princípio, vem sendo associada a uma redução na concentração do íon NO_3^- , substrato da redutase do nitrato, em direção aos sítios ativos da enzima, ou, ainda, a um efeito direto da redução do potencial de água do tecido, provocado por um estresse que afeta o metabolismo do nitrogênio, sobre a atividade ou a indução da síntese de redutase do nitrato. Resultados semelhantes foram encontrados com trabalho de Castro et al., (2007) trabalhando com plantas de teca (*Tectona grandis* L.f.) submetida a deficiência hídrica e Freitas et al., (2007) trabalhando com mudas de açaí sob déficit hídrico e hipoxia parcial.

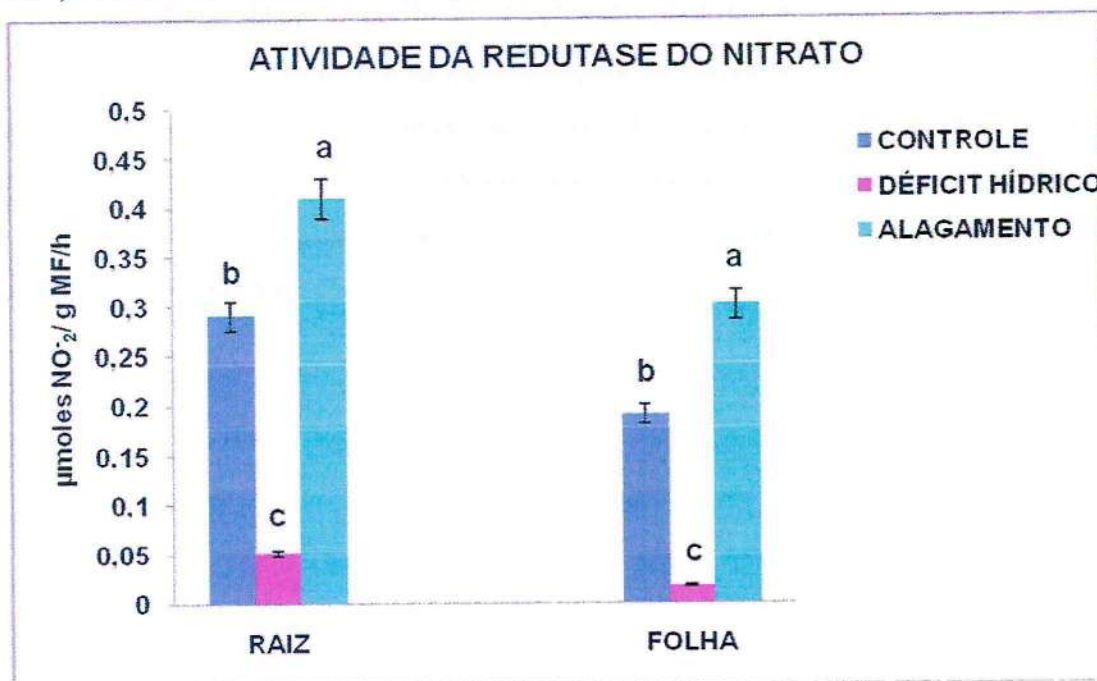


Figura 3. Atividade da redutase do nitrato nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.4- Concentrações de nitrato

Foi observado um decréscimo significativo nas concentrações de nitrato nas raízes e nas folhas para as plantas submetidas ao alagamento e a deficiência hídrica (Figura 4). Os valores para as raízes foram de 0,8; 0,3 e 0,1 $\mu\text{moles de NO}_3^-/\text{g MS}$ e para as folhas 0,6; 0,12 e 0,04 $\mu\text{moles de NO}_3^-/\text{g MS}$ para as plantas controle, alagadas e sob déficit hídrico, respectivamente. A suspensão da irrigação do solo promoveu uma diminuição na absorção de NO_3^- pelas raízes, e conseqüentemente seu transporte para as folha através do fluxo transpiratório, atenuando a atividade da enzima redutase do nitrato nas raízes e folhas.

Já nas plantas submetidas ao alagamento, as reduções nas concentrações de nitrato nas raízes e nas folhas correspondem a uma redução de energia das raízes (respiração) e com isso, o processo de absorção ativa de nitrato pelas raízes e, assim, o fluxo do mesmo diminui também para as folhas. Além disso, a alta atividade da enzima redutase do nitrato (Figura 3) utilizou as concentrações de nitrato do tecido vegetal da planta, reduzindo drasticamente as concentrações de nitrato para os ambos os órgãos. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira Neto (2008) trabalhando com plantas de sorgo (*sorghum bicolor* Moench) submetidas à deficiência hídrica enquanto que, para plantas alagadas, não foram encontrados resultados em relação às concentrações de nitrato.

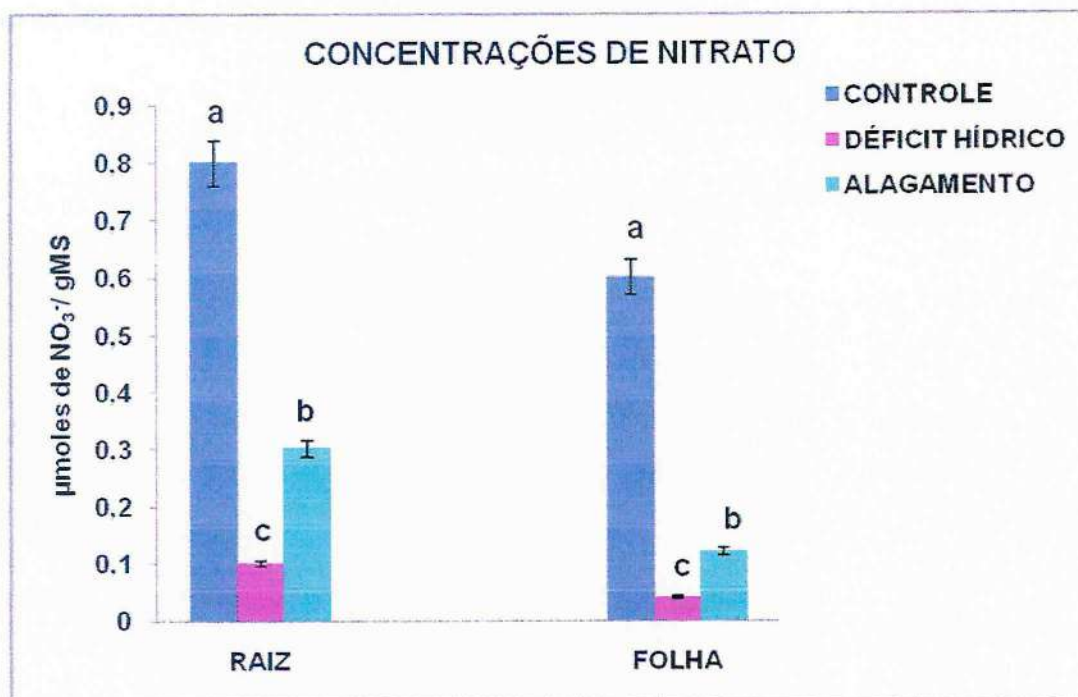


Figura 4. Concentrações de nitrato nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.5- Concentrações de amônio livre

Os resultados indicaram diferença significativa entre as plantas controle, alagada e sob déficit hídrico nas raízes e nas folhas. Os valores das raízes foram para as plantas controle (22 mmol de NH_4^+ / Kg de MS), plantas alagadas (29 mmol de NH_4^+ / Kg de MS) e déficit hídrico (36 mmol de NH_4^+ / Kg de MS) e para as folhas das plantas controle (9 mmol de NH_4^+ / Kg de MS), plantas alagadas (16 mmol de NH_4^+ / Kg de MS) e sob déficit hídrico (21 mmol de NH_4^+ / Kg de MS) como mostra a Figura 5.

As plantas sob deficiência hídrica e alagamento podem ter induzido outras rotas para formação do amônio livre no meio celular, promovendo um acúmulo de amônio através de um descompasso entre sua produção (desaminação, fotorrespiração, catabolismo de aminoácidos) e redução da atividade da enzima glutamina sintetase (Figura 6), responsável pela redução de amônio em glutamina. Estes resultados comprovam que a deficiência hídrica aumentou expressivamente as concentrações de amônio livre em consequência da possível redução da fotossíntese, haja vista que as mesmas mantêm o metabolismo do nitrogênio pelo fornecimento de energia (ATP) e pelas formações dos poderes redutores (NADPH, FADH E NADH), ademais, a falta de

água promoveu uma diminuição na absorção de fontes de nitrogênio pelas raízes como nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) e a redução da atividade da aRN na raízes e folhas (Figura 3).

Os processos de inibição da glutamina sintetase, bem como o provável aumento da absorção de amônio (plantas sob alagamento), fotorrespiração, redução de nitrato e catabolismo de compostos nitrogenados (predominantemente aminoácidos) foram fatores predominantes para resultar no acúmulo de quantidades letais de NH_4^+ para as plantas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Barreto et al., (2008) e Oliveira-Neto, (2008) em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* Moench) submetidos ao alagamento e deficiência hídrica, respectivamente, os quais observaram as altas concentrações de amônio livre.

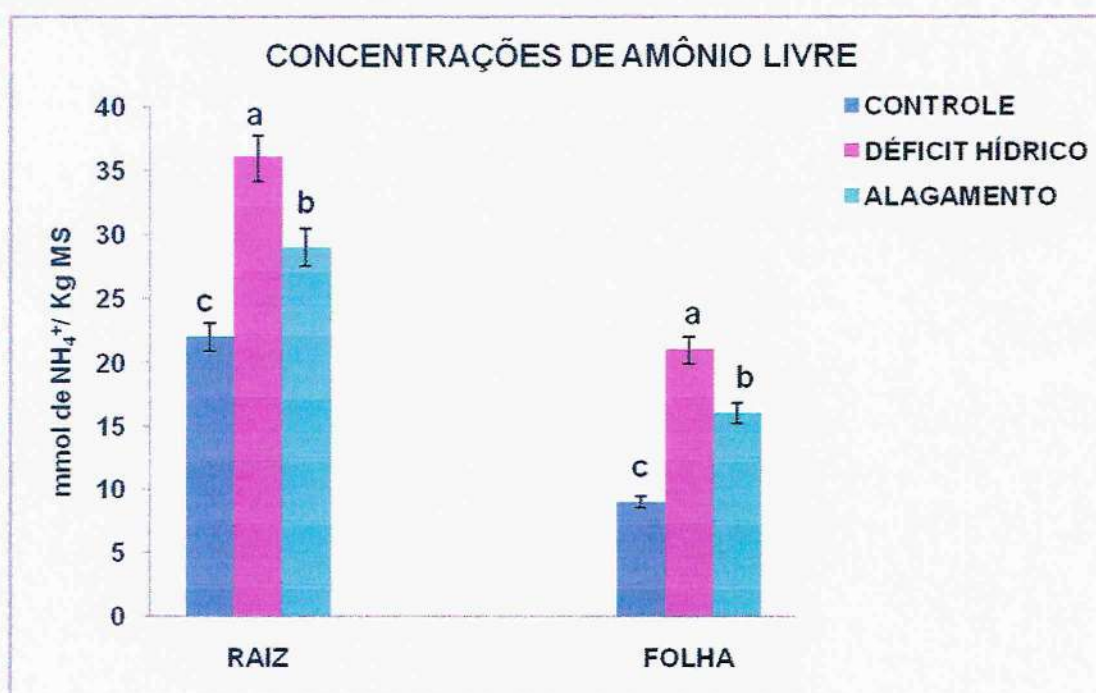


Figura 5. Concentrações de amônio livre nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.6- Atividade da glutamina sintetase

As plantas submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento reduziram significativamente a atividade da enzima glutamina sintetase (Figura 6). Os valores para as raízes das plantas controles foram de 28 mmols GGH/ Kg MS, plantas alagadas 8,4 mmols GGH/ Kg MS e sob déficit hídrico 7 mmols GGH/ Kg MS, enquanto nas folhas, as plantas controle foram 30,34 mmols GGH/ Kg MS, plantas alagadas 17,2 mmols GGH/ Kg MS e sob déficit hídrico 9,2 mmols GGH/ Kg MS, respectivamente, como mostra a Figura 6.

Os resultados evidenciaram que a atividade desta enzima reduziu nas plantas sob alagamento e deficiência hídrica devido às baixas concentrações de ATPs no meio celular, uma vez que essa enzima é altamente dependente de energia vindo da atividade fotossintética nas folhas e do processo respiratório nas raízes, porém esta enzima não fica totalmente inativa, devido ao processo de catabolismo das proteínas e à fotorrespiração que podem promover uma maior atividade desta enzima.

Contudo, a atividade desta enzima não ficou totalmente inativa, pois como a GS precisa de amônio como substrato, tal amônio vem de outras rotas metabólicas como as desaminações, fotorrespiração a partir da oxidação da glicina, catabolismo das proteínas e síntese de lignina (FERREIRA et al., 2002). Além disso, a redução da atividade desta enzima pode estar relacionada com a redução de glutamato no cloroplasto ou nos plastídios celular, ou seja, como esta enzima precisa de ATP, amônio e glutamato para sua atividade, a deficiência de ATP e do glutamato foram fundamentais para seu baixo funcionamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira-Neto, (2008) trabalhando com plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* Moench) sob déficit hídrico.

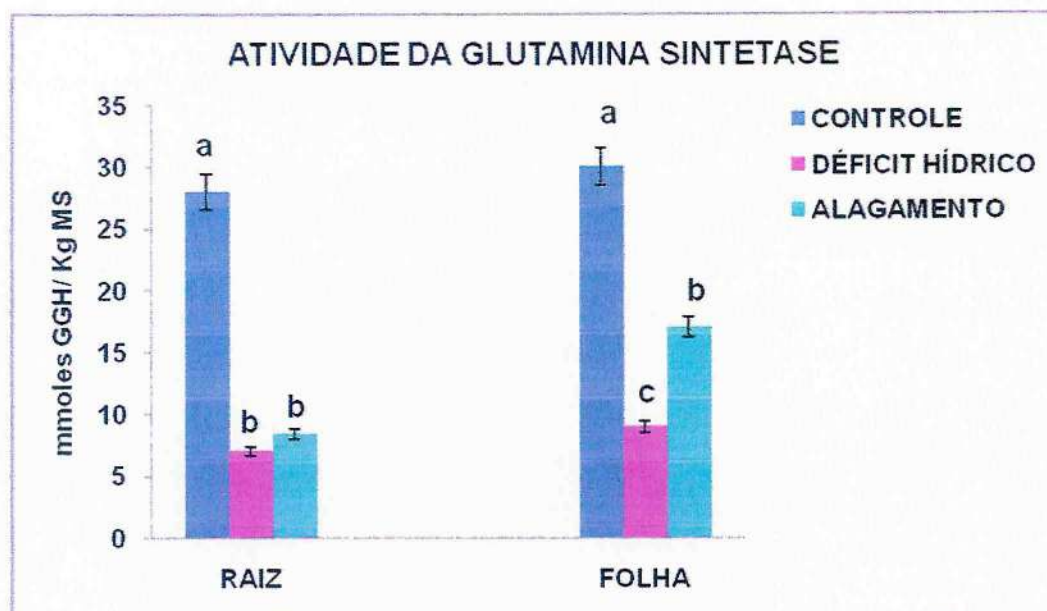


Figura 6. Atividade da glutamina sintetase nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.7- Concentrações de amido

Os valores para as concentrações de amido nas raízes das plantas controle foram de 0,0837 mmol de GLU/ g de Resíduo, plantas alagadas 0,0392 mmol de GLU/ g de resíduo e sob déficit hídrico 0,0116 mmol de GLU/ g de resíduo e para as folhas das plantas controle foram 0,245 mmol de GLU/ g de resíduo, plantas alagadas 0,356 mmol de GLU/ g de resíduo e sob déficit hídrico 0,105 mmol de GLU/ g de resíduo como mostra a Figura 7.

A redução das concentrações amido nas folhas sob a deficiência hídrica está provavelmente relacionada com a diminuição da fotossíntese e a degradação do amido através das enzimas α e β -amilase, formando novos açúcares como a sacarose com intuito de ajuste osmótico (Figura 9) e/ou transporte para outros drenos preferenciais e/ou a inativação da enzima chave na síntese de amido pela a ADP-glicose pirofosforilase.

No caso das raízes, essa redução está relacionada à diminuição do fluxo de fotoassimilados das folhas para as raízes, devido à deficiência hídrica promover uma redução no potencial de pressão positiva no floema, além disso, o provável aumento do consumo de energia (ATP) na raízes pelo processo de respiração celular impulsionado

pelo processo de absorção de nutrientes, metabolismo do nitrogênio e crescimento radicular, inibe qualquer possibilidade de armazenamento de reserva de açúcares no sistema radicular. Resultados semelhantes foram encontrados por Cruz et al., (2008) quando trabalhando com plantas de tangerina (*Citrus reticulata*) sob déficit hídrico.

Com relação ao amido, foi observado que nas folhas das plantas sob alagamento, ocorreu um aumento na concentração dessa substância, enquanto nas raízes ocorreu uma redução. Estes resultados mostram que o alagamento do solo deve ter, provavelmente, causado uma redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes e diminuição do crescimento e das atividades metabólicas das raízes, que, por sua vez, passam a demandar por menos carboidratos. Tais transformações provocariam acúmulo de amido nas folhas e esgotamento de carboidratos nas raízes (LIAO; LIN, 2001).

Em muitas plantas sob alagamento do solo, uma das primeiras respostas fisiológicas observadas é o fechamento estomático (CHEM et al., 2002), que aumenta a possibilidade de sobrevivência da planta, pois reduz a demanda de água e nutrientes, restringindo ainda a absorção de nutrientes potencialmente tóxicos. Vários estudos têm mostrado que o alagamento do solo é normalmente capaz de diminuir, de forma significativa, a capacidade fotossintética em plantas intolerantes a esse estresse. A redução na abertura estomática seria a principal causa da queda na capacidade fotossintética em plantas alagadas. No entanto, fatores metabólicos, como o acúmulo de amido nas folhas, também são apontados como responsáveis pela diminuição da fotossíntese durante o alagamento do solo (LIAO; LIN, 2001). Resultados semelhantes foram encontrados em plantas de Sibipiruna submetido ao alagamento (HENRIQUE et al, 2009).

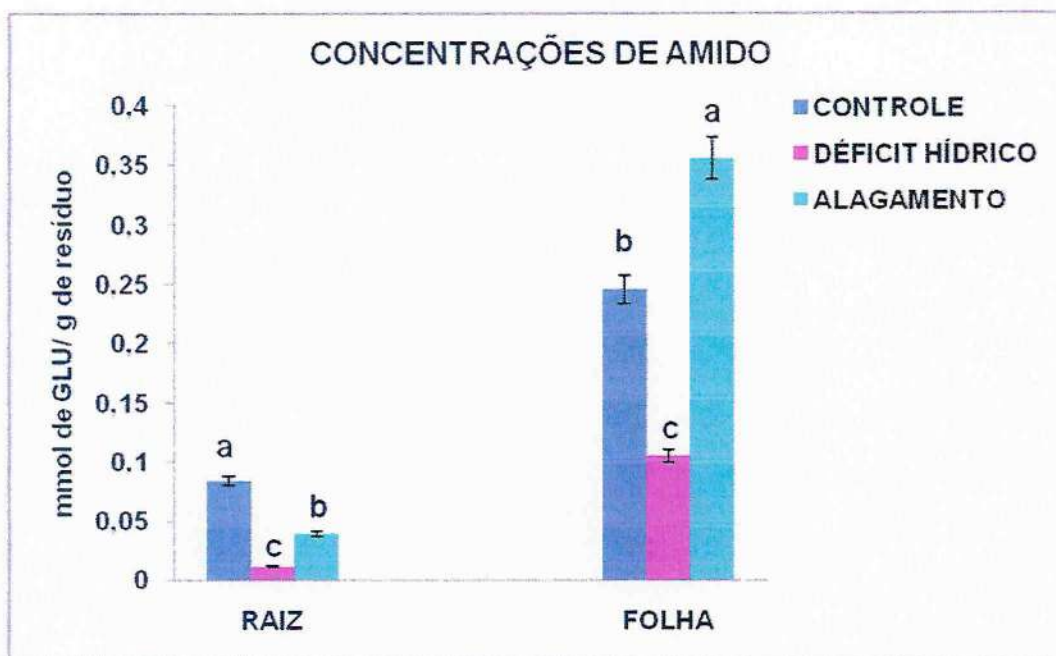


Figura 7. Concentrações de amido nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.8- Concentrações de carboidratos solúveis totais

No que concerne aos teores de carboidratos solúveis totais, os resultados revelaram um aumento significativo para as plantas sob deficiência hídrica e nas plantas sob alagamento, respectivamente. Na Figura 8, os valores comprovam que os carboidratos para as raízes nas plantas controle foram de 0,83 mmol de GLU/ g de resíduo, plantas alagadas 1,82 mmol de GLU/ g de resíduo e sob déficit hídrico 3,26 mmol de GLU/ g de resíduo e nas folhas as plantas controle 1,32 mmol de GLU/ g de resíduo, plantas alagadas 2,41 mmol de GLU/ g de resíduo e sob déficit hídrico 4,83 mmol de GLU/ g de resíduo.

Nas plantas sob deficiência hídrica o aumento dos carboidratos solúveis totais está relacionado com o processo de ajustamento fisiológico no metabolismo dessas plantas, sendo assim, reduzindo seus potenciais osmóticos no sentido de manter a planta hidratada, e conseqüentemente, retardar a desidratação dos seus tecidos. Estes aumentos observados em plantas sob estresse estão associadas ao fato de que com a desidratação, ocorre diminuição do conteúdo de amido na célula, além de queda na capacidade de fotossíntese, fato que paralisará o crescimento celular, assim como

reduzirá a síntese de sacarose para exportação, possibilitando aumentos nos teores de carboidratos totais no meio celular.

O aumento nas concentrações de açúcares solúveis totais pode estar relacionado com a proteção da biomembranas que pode ser degradadas com a falta de água no citosol e pelo aumento de substâncias iônicas, tornando várias enzimas inativas no citosol. A hidrólise do amido, através do aumento da atividade das enzimas hidrolíticas (α e β -amilase) produz acúmulo de hidratos de carbono (sacarose em particular) com a aquisição da tolerância ao estresse. Resultados semelhantes foram encontrados com Oliveira (2005), trabalhando com quatro leguminosas arbóreas submetidas à deficiência hídrica, em que houve um incremento nas concentrações de carboidratos solúveis totais.

Nas plantas sob alagamento, foi observado um acréscimo nos teores de carboidratos solúveis totais, este relacionado com o consumo dos açúcares redutores que é aumentado devido o subaproveitamento da glicose para a produção de energia, quando ocorre a deficiência de oxigênio, assim este consumo pode ser compensado por um maior fluxo de sacarose que chega nestes tecidos.

O acúmulo de amido nas folhas (Figura 7) e o maior conteúdo de açúcares solúveis nas raízes (Figura 8) do tratamento sob alagamento do solo promoveu uma diminuição da demanda por carboidratos por causa da redução do crescimento e das baixas atividades metabólicas nas raízes. Então, o aumento de carboidratos e o acúmulo de amido nas folhas não resultam em deficiência de açúcares nas raízes, e ainda que o nível de açúcares nas raízes não seria crítico para a tolerância dessa planta ao alagamento do solo.

Então, apesar da diminuição fotossintética da planta, pode-se afirmar que o aumento dos níveis de carboidratos tanto nas raízes quanto nas folhas possivelmente, está relacionado ao mecanismo de síntese de sacarose no citoplasma da folha, este açúcar será então, transportado para as raízes (processo respiratório). Por outro lado, este processo deve estar relacionado à regulação entre a síntese de amido ou de sacarose, por meio da triose fosfato aumentando e/ou diminuindo as concentrações de amido ou sacarose nos cloroplastos ou no citoplasma da célula. Resultados semelhantes foram encontrados por Dias-Filho (2006) em plantas de capim marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) submetido ao alagamento.

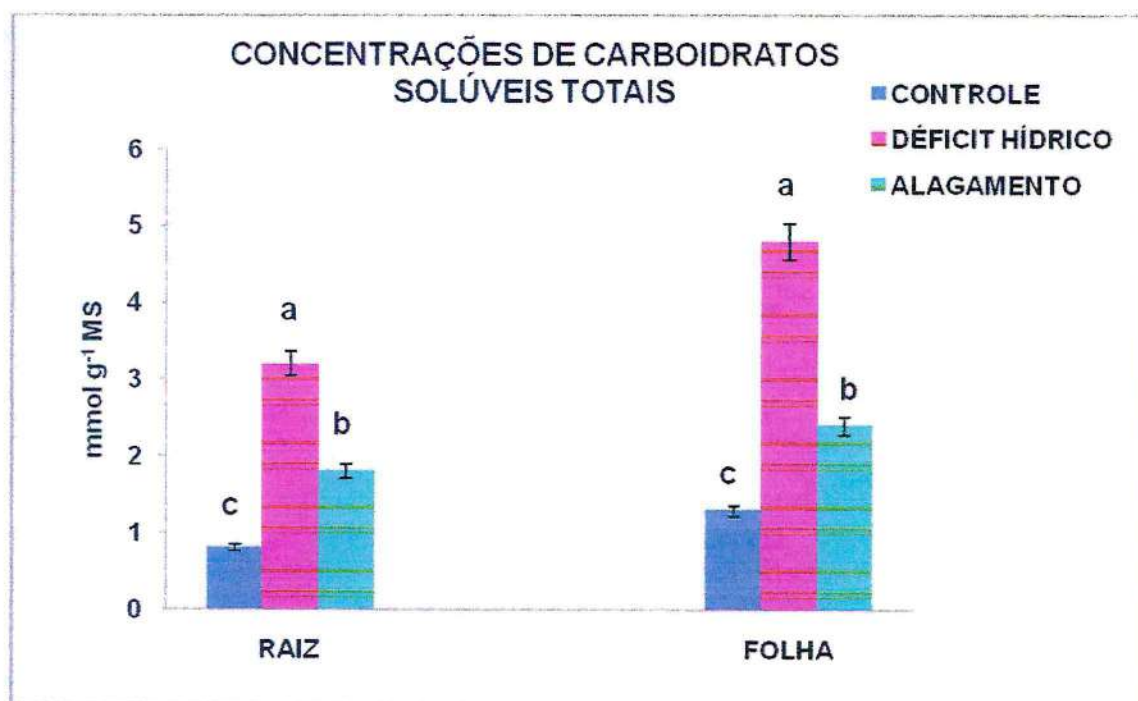


Figura 8. Concentrações de carboidratos solúveis totais nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.9- Concentrações de sacarose

Em plantas de jatobá, encontramos os seguintes valores: nas raízes das plantas controle foram 12,846 mg sacarose g⁻¹ MS, plantas alagadas de 5,654 mg sacarose g⁻¹ MS e sob déficit hídrico de 18,857 mg sacarose g⁻¹ MS e nas folhas das plantas controle os resultados foram de 27,622 mg sacarose g⁻¹ MS, plantas alagadas de 15,533 mg sacarose g⁻¹ MS e sob déficit hídrico de 36,875 mg sacarose g⁻¹ MS como mostra a Figura 9.

O aumento das concentrações de sacarose está ligada, provavelmente, à diminuição fotossintética e da quebra do amido (Figura 6) através da enzima α e β -amilase em açúcares. Esses açúcares podem ser quebrados e então transportados para os diversos drenos, na forma de sacarose.

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. 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 muito utilizado para o processo de ajustamento osmótico (KINGSTON-SMITH et al., 1999).

Assim como os demais açúcares, a sacarose, pode se ligar às moléculas de água na folha com a finalidade de manter o nível de água da folha, bem como e induzir um ajustamento osmótico na planta e, por isso, apresentou um aumento quanto ao estresse hídrico. Não obstante, esse açúcar teve sua concentração diminuída nas plantas sob alagamento e esta redução deve está ligada a um incremento nas folhas do amido (Figura 6) e conseqüentemente menor a quantidade de fotoassimilados (sacarose) disponível e transportado para as raízes.

Estes resultados mostram que o alagamento do solo causa redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes e diminuição do crescimento e das atividades metabólicas das raízes, que por sua vez, passam a demandar por menos carboidratos. Tais transformações provocariam acúmulo de amido nas folhas e esgotamento de carboidratos nas raízes e nas folhas. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva (2009) ao trabalhar com plantas de Andiroba (*Carapa guianenses* Aubl.) submetidas ao déficit hídrico e por Beltrão et al. (2006) ao trabalhar com plantas de mamona (*Ricinus communis* L.).

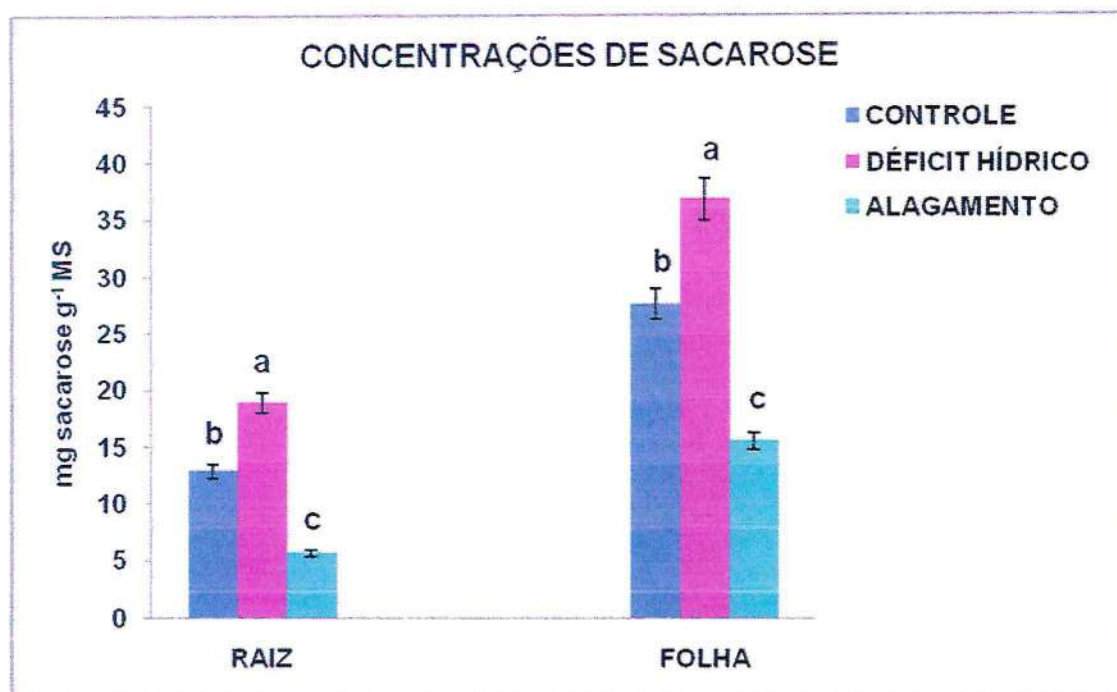


Figura 9. Concentrações de sacarose nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.10- Concentrações de glicina-betaina

Ocorreu um aumento significativo nas concentrações de glicina-betaina tanto nas plantas sob alagamento, como sob deficiência hídrica, em comparação com as plantas controle. Foram encontradas concentrações desse composto nas raízes das plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica de 9,6, 15,3 e 21,0 μg glicina-betaina. g^{-1} MS, respectivamente, enquanto nas folhas das plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, as concentrações de 8,6, 15,9 e 28,0 μg glicina-betaina. g^{-1} MS, respectivamente (Figura 10).

O aumento do valor de glicina-betaina deve-se à provável formação de aminoácidos através da degradação das proteínas e das altas concentrações de amônia vindo, possivelmente, da fotorrespiração e processos de desaminações. Estes processos são fundamentais para a formação das betainas, compostos que possuem um grupo amônio quaternário em que o átomo do nitrogênio é metilado totalmente e também a glicina betaina é sintetizada a partir da colina ou da glicina (McNEIL; NUCCIO; HANSON, 1999).

As maiores concentrações de glicina-betaína em plantas sob deficiência hídrica, provavelmente, contribuem para uma melhor absorção e transporte de água do solo à parte aérea por meio de ajustamento osmótico e também uma proteção da membrana celular, bem como proteção contra o mecanismo do estresse oxidativo das plantas (ASHRAF; HARIS, 2004). Sendo assim, esse acúmulo ocorreu para proteger o metabolismo vegetal uma vez que glicina-betaína pode atuar como osmólito compatível e mantendo o contrapeso da água entre a célula vegetal e o ambiente, estabilizando as macromoléculas (MELONI, 2004). Resultados semelhantes foram obtidos em plantas de andiroba (*Carapa guianenses* Aubl.) trabalhado por Costa, (2009) em que observou um acréscimo de glicina-betaína sob deficiência hídrica, no entanto, ainda não foram encontrados resultados com glicina-betaína em plantas sob alagamento.

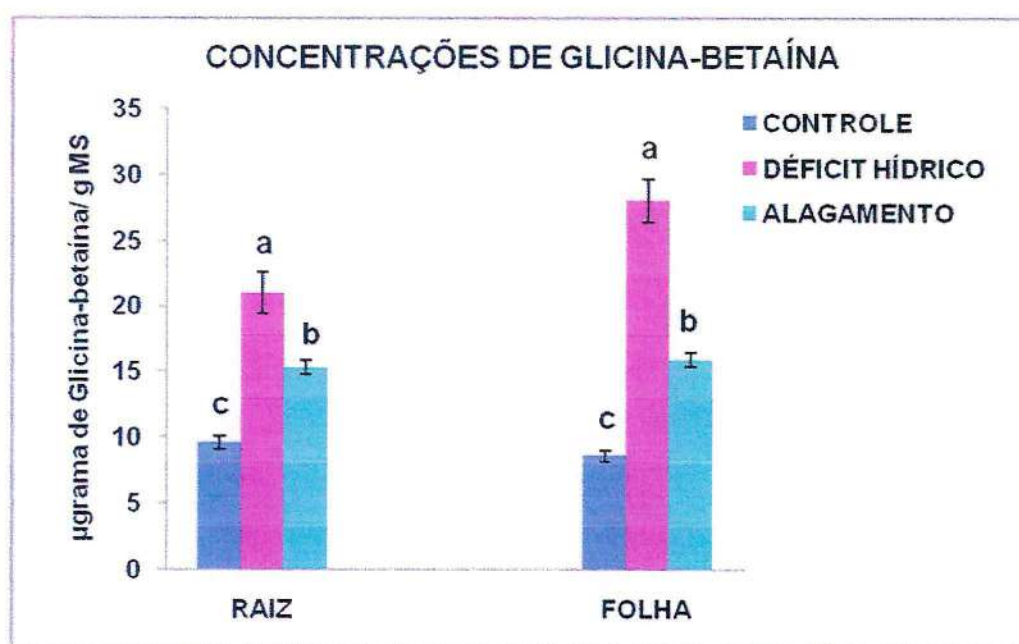


Figura 10. Concentrações de glicina-betaína Concentração de nitrato nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.11- Concentrações de proteínas solúveis totais

As concentrações de proteínas solúveis totais nas raízes e nas folhas foram reduzidas significativamente nas plantas sob alagamento e sob deficiência hídrica, em

comparação ao controle, com exceção das folhas de plantas sob alagamento, nas quais foi observado um aumento nessas concentrações (Figura 11). As concentrações de proteínas solúveis totais nas raízes foram de: 3,2, 1,6 e 0,6 mg de Proteína/ g MS nas plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, respectivamente. Nas folhas, as concentrações foram de: 2,6, 3,8 e 1,2 mg de Proteína/ g MS, nas plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, respectivamente.

Esses resultados se devem ao aumento da atividade de enzimas proteolíticas, que quebram as proteínas de reserva das plantas e também da diminuição da síntese “*de novo*” das mesmas. Esse tipo de estresse interfere basicamente no metabolismo bioquímico da planta e como uma forma de defesa contra falta de água, a planta muda seu comportamento metabólico como, por exemplo, degrada proteínas em aminoácidos, dentre os quais, a prolina (Figura 13), que está diretamente ligada ao ajustamento osmótico do tecido foliar das células. Além disso, algumas proteínas envolvidas na interação hidrofílica com macromoléculas celulares são sintetizadas “*de novo*” visando estabilizar o metabolismo e atuar na recuperação dos danos ocasionados pelo estresse hídrico (YORDANOV; VELIKOVA; TSONEV, 2000; XIONG; SCUMAKER; ZHU, 2002).

Estudos sobre proteínas relacionadas com a desidratação mostram que algumas proteínas se acumulam quando o sinal do ambiente é déficit hídrico, baixas e altas temperaturas, pressão osmótica externa aumentada e outros fatores ambientais adversos. As prováveis funções estão relacionadas com sequestro de íons, proteção de membranas e saturação de proteínas (chaperonas) e retenção de água (ZHU et al., 1997).

Todavia, quase todas as proteínas LEA (“late embryogenesis abundant”) podem apresentar uma parte extremamente hidrofílica e sua expressão abundante durante a maturação e o estresse hídrico (DURE, 1993), e isto, certamente implicariam na função de proteção das estruturas celulares, uma vez que tal deficiência afetaria todo o processo bioquímico da planta e, através desta estratégia poderia manter os níveis de água nas folhas, bem como o equilíbrio osmótico das células (LOBATO et al., 2008).

A deficiência hídrica promove uma restrição na absorção de água diminuindo a turgescência celular, retardando o crescimento da planta (Figura 20) e aumentando a síntese de enzimas proteolíticas que quebram as proteínas armazenadas nas plantas e reduz à síntese de proteínas, indicando que a deficiência afeta todos os processos bioquímicos na tentativa de manter os níveis de água na folha, assim como o balanço osmótico celular. Além disso, algumas proteínas envolvidas na interação hidrofílica

com macromoléculas celulares são sintetizadas para estabelecer o metabolismo e agir na recuperação dos danos causados pelo estresse hídrico (STREIT et al, 2005).

Portanto, a manutenção de teores elevados de proteína nos períodos precedidos de épocas secas nas folhas, relaciona-se com a quebra das proteínas de reserva e a degradação de clorofilas que foram observadas nessa mesma época. Nesse sentido, Streit et al., (2005) relata que na senescência foliar ocorre a degradação de proteínas, clorofilas e ácidos nucléicos.

Nas folhas, o aumento de proteínas solúveis totais, nas plantas alagadas, pode estar ligada à forte correlação entre a capacidade das plantas em sintetizar proteínas em condições de baixa disponibilidade de oxigênio, com a manutenção da carga energética do adenilato, garantindo um “pool” de ATP para atender à demanda de energia requerida pelo crescimento das plantas. Desta forma, a planta procura ajustar-se ao estresse promovendo aumento das proteínas solúveis da folha, sendo a principal a rubisco, mega enzima responsável pela carboxilação das plantas como o jatobá, que tem metabolismo fotossintético C_3 , ineficiente (LARCHER, 2000).

Barreto et al., (2008), trabalhando com a cultivar de sorgo AG2005E sob alagamento, mostraram maiores acúmulos de proteínas livres durante todo o período de desenvolvimento das folhas, portanto os aminoácidos degradados foram utilizados em maior grau para síntese de proteínas. Marques e Joly (2000), avaliando o comportamento de quatro espécies forrageiras em resposta ao estresse anóxico, confirmaram que o crescimento, durante o déficit de oxigênio e sobrevivência após o estresse, esteve relacionado com as alterações nas concentrações de proteínas solúveis totais.

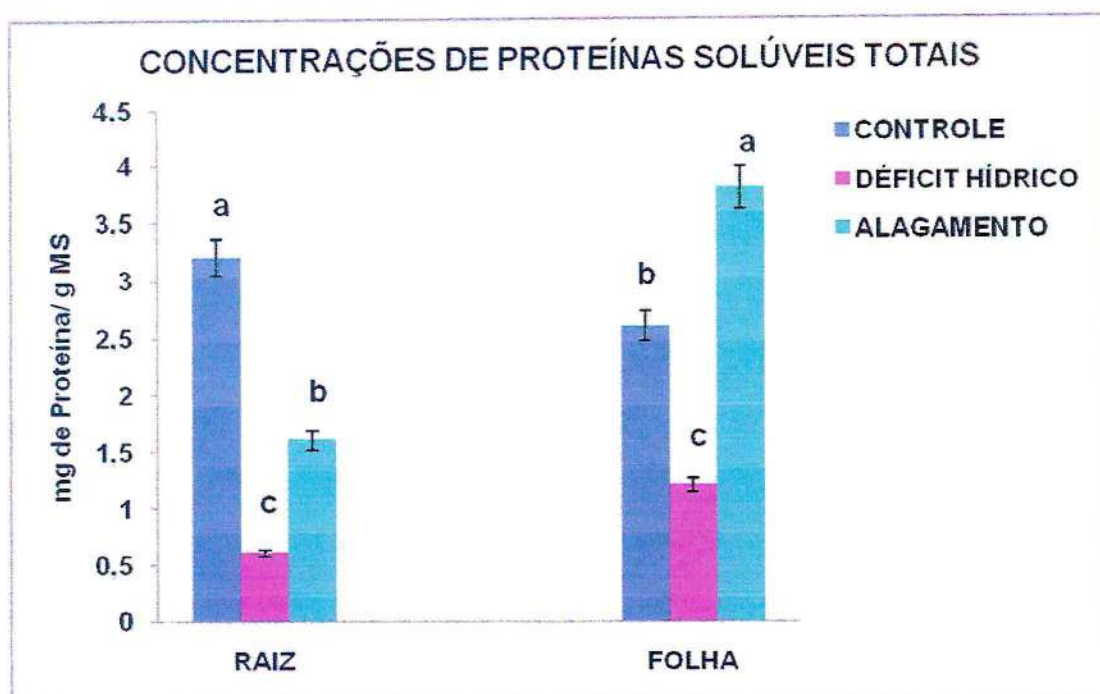


Figura 11. Concentrações de proteínas solúveis totais nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.12- Concentrações de aminoácidos solúveis totais

As concentrações de aminoácido solúveis totais nas raízes e nas folhas em questão apresentaram uma redução nas plantas submetidas ao alagamento, enquanto ocorreu um aumento nas plantas submetidas ao estresse hídrico (Figura 12). As concentrações de aminoácidos solúveis totais nas raízes foram de: 70,638, 17,654 e 95,648 μmol de AA/g MS nas plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, respectivamente. Nas folhas, as concentrações foram de: 55,965, 35,434 e 110,875 μmol de AA/g MS, nas plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, respectivamente.

O acúmulo de aminoácidos pode ser decorrente da restrição da síntese de proteínas, bem como aos distúrbios provocados pela deficiência hídrica nos tecidos do floema, reduzindo a translocação para outros órgãos (OLIVEIRA, 2005). Esses compostos promovem o abaixamento do potencial osmótico e a manutenção da turgescência, e serve de reserva de nitrogênio para a possível retomada do crescimento quando as tensões ambientais cessarem ou amenizarem. Sendo assim, o acúmulo de aminoácidos pode ser considerado como um sinal de tolerância das plantas sob

diferentes estresses ambientais. Resultados semelhantes foram encontrados com Oliveira (2005) trabalhando com quatro leguminosas em resposta ao déficit hídrico e sistema de corte e trituração e com Carvalho (2005) trabalhando com plantas de paricá (*Schizolobium amazonicum*, Huber Ducke), em que ambos foram verificados o aumento de aminoácidos sob suspensão hídrica.

Os altos teores de aminoácidos nas raízes e folhas se devem provavelmente à alta atividade do metabolismo do nitrogênio, em contrapartida, nas plantas sem irrigação, o aumento se deve principalmente à atividade das enzimas proteolíticas quebrando as proteínas em aminoácidos, além da diminuição da síntese das mesmas (OLIVEIRA NETO, 2008).

As concentrações de aminoácidos solúveis totais nas folhas e nas raízes variaram significativamente entre os tratamentos (Figura 12). As maiores concentrações foram observadas nas plantas sob deficiência hídrica, seguida das plantas controle. As plantas sob alagamento, apresentaram as menores concentrações. Isto se deve, provavelmente, ao aumento da síntese de proteínas (Figura 11) principalmente da Rubisco nas folhas, além da baixa atividade da enzima glutamina sintetase (Figura 6), enzima chave ou conhecida como porta de entrada para formação de todos os aminoácidos nas raízes e nas folhas. Resultados semelhantes foi observado por Barreto et al. (2008) ao se verificar plantas de sorgo submetidas à inundação.

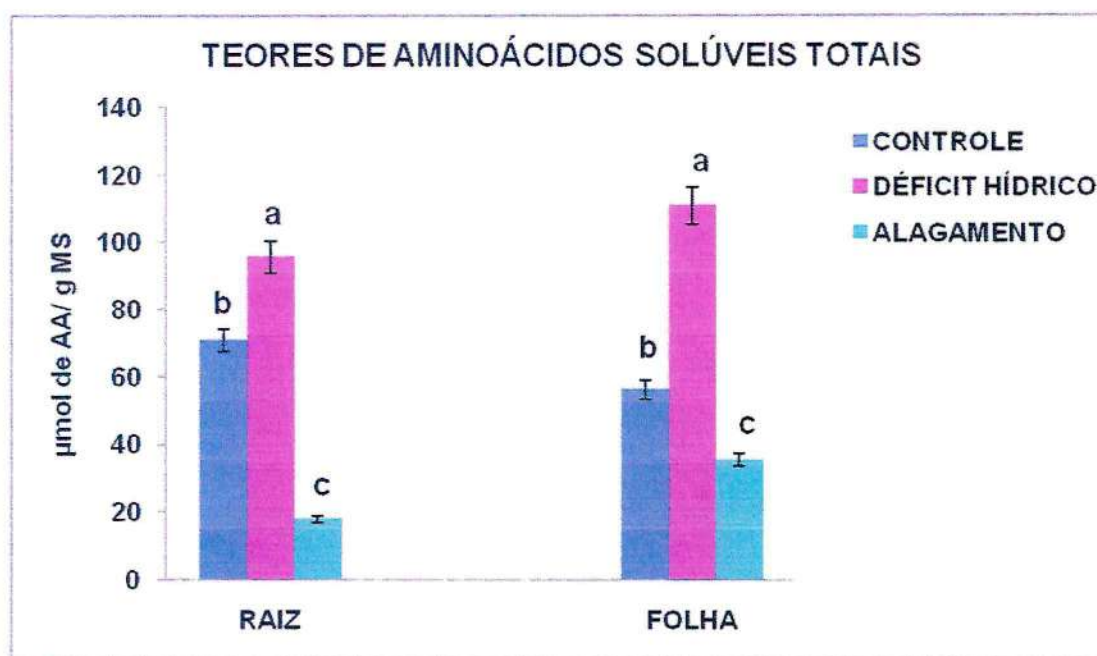


Figura 12. Concentração de aminoácido solúvel total nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.13- Concentrações de Prolina

As concentrações de prolina nas raízes e folhas aumentaram significativamente, tanto nas plantas sob deficiência hídrica, quanto em plantas submetidas ao alagamento (Figura 13). As concentrações de prolina nas raízes foram de: 1,34, 4,1 e 5,41 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}$ MS nas plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, respectivamente, enquanto nas folhas, as concentrações foram de: 1,8, 5,6 e 7,83 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}$, nas plantas controle, sob alagamento e sob deficiência hídrica, respectivamente.

Nas plantas sob deficiência hídrica, o aumento dos teores de prolina pode estar relacionado ao aumento da atividade das enzimas proteolíticas promovendo uma disponibilidade maior de aminoácidos livres (Figura 12) como a prolina (Figura 13), no sentido de proteger os tecidos vegetais contra esse estresse por servirem como reserva de nitrogênio, osmo-soluto e protetor hidrofóbico de enzimas e estruturas celulares (MADAN et al., 1995), o que não deve ter ocorrido com as plantas sob alagamento, onde a diminuição de prolina não se deveu a diminuição dos aminoácidos livres, uma vez que houve um aumento desses osmólitos com esse tratamento (Figura 12). No

entanto, esta diminuição deve ser, provavelmente, pelo aumento do catabolismo desses iminoácidos.

A utilização anaeróbica dos açúcares traz como consequência o acúmulo de produtos tóxicos, tais como o etanol. Nas espécies sensíveis, o acúmulo de etanol pode causar morte das células das raízes, sendo, portanto, necessário o desenvolvimento de mecanismos para sua eliminação, os quais podem incluir migração deste composto dos tecidos anóxicos para tecidos bem oxigenados, difusão para áreas vizinhas, ou, ainda, reorientando compostos glicolíticos intermediários para a formação de produtos finais como prolina (RICARD et al., 1994).

O mecanismo de acúmulo de prolina em situações estressantes, entretanto, não é ainda claramente entendido. Decréscimo nos níveis de proteína poderia, segundo Marur et al., (1994) refletir em diminuição da síntese ou em aumento da degradação, levando a altos níveis de aminoácidos livres. Segundo Madan et al., (1995) o maior teor de prolina pode ser devido, também, à maior atividade das enzimas envolvidas na biossíntese de prolina (ornitina aminotransferase e pirrolina-5-carboxilase redutase), tanto quanto devido à inibição da enzima de degradação, a prolina oxidase. Desde que os efeitos de deficiência hídrica dependem da espécie, tecido e idade, como da natureza, duração e intensidade do estresse, não é surpreendente que diferenças marcantes encontra-se no padrão de aminoácidos em plantas em condição de estresse (MARUR et al., 1994).

Para tolerar os efeitos dos estresses ambientais, as plantas utilizam o mecanismo de ajustamento osmótico, processo pelo qual o potencial hídrico pode diminuir sem que haja redução da turgescência das células vegetais, permitindo a continuidade de processos fisiológicos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (DI MARTINO et al., 2003; DESTRO, 2006). Este mecanismo capacita a célula a acumular compostos, denominados solutos compatíveis ou osmoprotetores, que preservam a integridade celular, principalmente de proteínas, enzimas e membranas, e promovem a redução do potencial hídrico durante os períodos de estresse osmótico proporcionados em condições de maior deficiência hídrica (MELONI et al., 2004).

Na realidade, o ajustamento osmótico não é devido ao aumento na concentração de solutos que ocorre durante a desidratação e na diminuição de volume celular, pois neste mecanismo o aumento na concentração de solutos compatíveis é independente das alterações no volume das células resultantes da perda de água (VERSLUES; BRAY, 2006). Em condições de estresse, o metabolismo de aminoácidos é amplamente

alterado, com isso a síntese de proteínas é diminuída e a proteólise aumentada (SODEK, 2004).

Por conseguinte, ocorre a indução da biossíntese de prolina promovida pelo incremento de metabólicos como poliaminas, amônia, arginina, ornitina, glutamina e glutamato (SILVEIRA et al., 2002). O aumento dos teores de prolina pode ativar várias funções celulares: ajustamento osmótico reserva de carbono e nitrogênio utilizado no crescimento para restabelecimento após estresse, desintoxicação do excesso de amônia, estabilizador de proteínas e membranas e eliminadores de radicais livres.

Adicionalmente, existem evidências de que a biossíntese desse aminoácido poderia estar também associada à regulação do pH citosólico ou mediação do incremento da razão $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, influenciando o fluxo de carbono devido à via oxidativa da pentose fosfato (KAVI KISHOR et al., 2005). Além de atuar ainda como fonte acessível de energia, em que uma única molécula oxidada é capaz de produzir 30 ATP (KAVI KISHOR et al., 2005).

Resultados semelhantes foram observados em plantas de mogno brasileiro trabalhado por Cordeiro (2007) e em plantas de paricá e guapuruvu submetidas a dois ciclos de deficiência hídrica por Carvalho (2005) demonstraram o acúmulo de prolina sob condição de seca. Resultados diferentes foram observado por Barreto et al.,(2008) ao pesquisar plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* Moench) em que o alagamento promoveu uma diminuição na síntese de prolina.

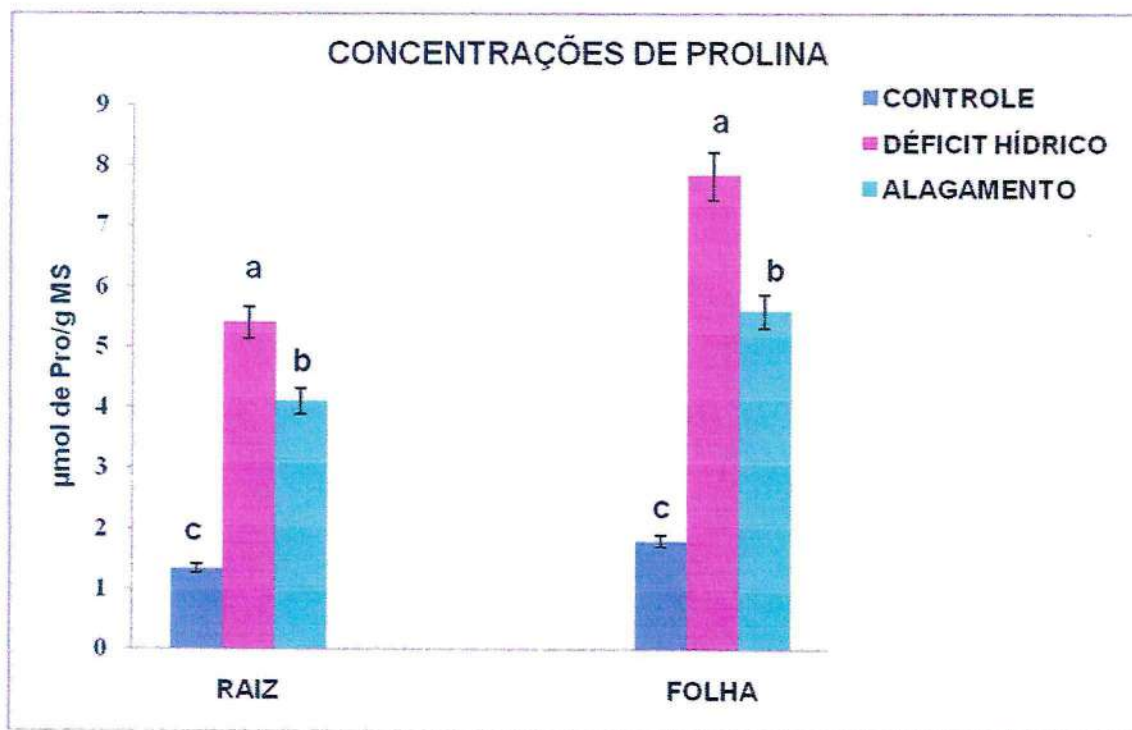


Figura 13. Concentrações de prolina nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.14- Atividade da álcool desidrogenase e lactato desidrogenase

Foi observado um aumento significativo na atividade da enzima álcool desidrogenase nas raízes e folhas de plantas jovens de jatobá (Figura 14-A). Mostraram que nas raízes a atividade da álcool desidrogenase (ADH) nas plantas sob irrigação foram de 5,2 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} , para as plantas alagadas foram de 11,6 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} e sob déficit hídrico foi de 8,41 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} . Por outro lado, nas folhas sob irrigação os valores foram de 2,82 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} , para as plantas alagadas 7,13 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} e déficit hídrico foram de 5,71 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} .

Para a atividade da lactato desidrogenase (LDH), os valores encontrados para as raízes foram de 2,8; 10,1 e 1,8 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} nas plantas controle, alagadas e sob déficit hídrico, respectivamente. Em contrapartida, para as folhas os valores foram de 1,4; 7,2 e 0,71 moles de $\text{NADH H}^+ \text{ Kg}^{-1}$ de Proteína min^{-1} , nas plantas controle, sob alagamento e déficit hídrico, respectivamente (Figura 14-B).

Foi observado que o alagamento aumentou significativamente as atividades de ADH e LDH tal elevação se deve, provavelmente, à deficiência de oxigênio que permite reciclar o NAD^+ de maneira que se mantenha a via glicolítica ativa. Dessa forma, a produção de ATP durante a permanência das plântulas nessas condições está relacionada à capacidade delas em manter essa rota por períodos mais prolongados.

Na ausência de O_2 cessam o transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa do mitocôndrio, o ciclo do ácido tricarboxílico não pode operar e o ATP pode ser reduzido apenas por mecanismo de fermentação (TAIZ; ZEIGER, 2004, KERBAUER, 2004). Sendo assim, a anoxia promove a fermentação do piruvato através do aumento da ativação das enzimas álcool desidrogenase (ADH) e lactato desidrogenase (LDH).

Outro fator importante (relacionado à sobrevivência das plantas à anoxia) é a capacidade de manterem a produção de ATP e a reciclagem do poder redutor. Segundo Sousa e Sodek (2002), há uma resposta das plantas às condições anaeróbicas por meio de mudanças na expressão de genes. A adaptação metabólica pode ser associada a aumentos na taxa de fermentação, em função de incrementos na atividade das enzimas álcool desidrogenase (ADH), piruvato descarboxilase (PDC) e lactato desidrogenase (LDH). Durante a privação de O_2 , a PDC converte piruvato a acetaldeído, que é metabolizado pela ADH a etanol, com a regeneração de NAD^+ para sustentar a glicólise. Espécies vegetais podem apresentar genótipos deficientes em PDC e ADH e confirmam a essencialidade da fermentação etanólica na aclimação das plantas ao estresse por alagamento e privação de O_2 (KÜRSTEINER; DUPUIS I.; KUHLEMEIER, 2003).

Neste estudo, foi constatado que, de maneira geral, para as espécies tolerantes e medianamente tolerantes ao déficit de oxigênio, a atividade dessas duas enzimas nas folhas e raízes em hipoxia quantificadas ao final do experimento apresentou maior ou igual àquela verificada quando as plantas foram submetidas à aeração normal.

A despeito de inúmeras informações envolvendo ADH e LDH, não existem evidências concretas na literatura de que a atividade dessas enzimas seja limitante para a sobrevivência das plantas sob hipoxia (DREW 1997). De acordo com Thomson; Greeway, (1991) e Waters et al., (1991), a manutenção da integridade da ADH poderia auxiliar na conversão do etanol a acetaldeído no período pós-hipóxico, prevenindo os seus efeitos tóxicos. Resultados semelhantes foram observados por Moraes et al., 2001, trabalhando com plantas herbáceas em condições de hipoxia.

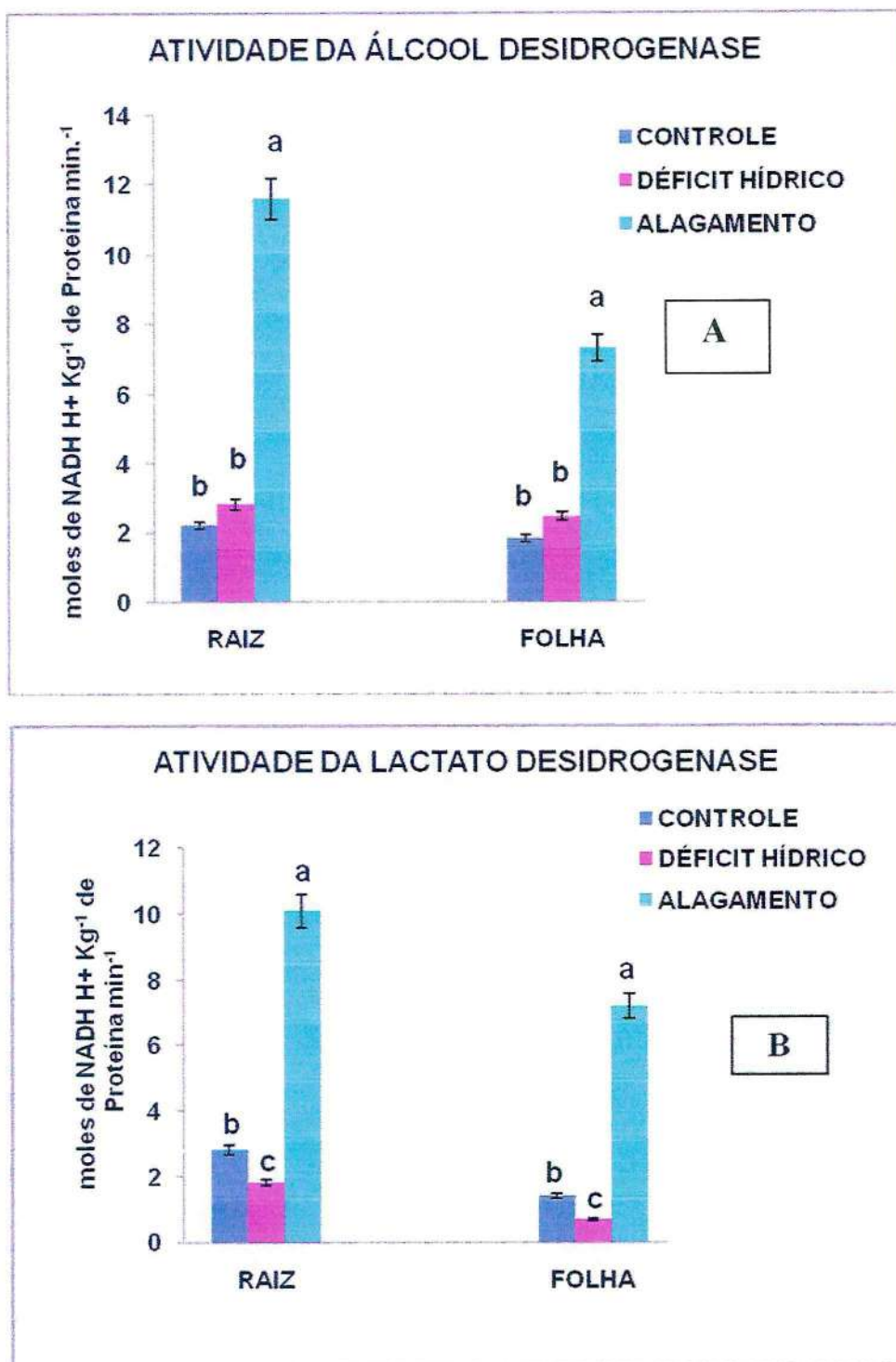


Figura 14. Atividade da álcool desidrogenase (A) e da lactato desidrogenase (B) nas raízes e nas folhas de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias a deficiência hídrica e ao alagamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.15- Número de folhas

Os resultados mostraram uma diminuição significativa do número de folhas em plantas sob deficiência hídrica (20), quando comparadas às plantas controle (38), as quais não diferiram, entretanto, das plantas sob alagamento (36) (Figura 15).

Essa diminuição do número de folhas nas plantas sob déficit hídrico, pode-ser relacionada, provavelmente, ao aumento na produção de etileno e degradação dos pigmentos clorofilianos, no qual existe uma correlação inversa entre os níveis de citocinina nas folhas com início da senescência foliar. Lea; Ai-Sulait; Palmer (1995) demonstraram que o aumento na concentração de ácido abscísico (ABA) no xilema, é responsável pela restrição do desenvolvimento das folhas. Assim, o déficit hídrico afeta a divisão e a expansão celular, provocando uma redução do alongamento e do desenvolvimento da área foliar, ajudando o processo de abscisão das folhas. Além disso, esta redução está também relacionada ao aumento provável da atividade das enzimas de degradação como a celulase e poligalacturonase, responsáveis pela abscisão foliar (PIMENTEL, 2004).

A redução do número de folhas em plantas sob déficit hídrico pode ser considerada uma estratégia de sobrevivência sob condições adversas, para evitar a perda de água por transpiração (KOZLOWSKI, 1995). Sendo assim, o déficit hídrico limita não apenas o tamanho, mas também o número de folhas, pois diminui o número e a taxa de crescimento dos ramos.

Nas plantas sob alagamento, o número de folhas foi estatisticamente igual ao das plantas controle. Esse resultado sugere que o tempo de alagamento não foi suficiente para causar redução significativa do número de folhas. Pode-se inferir, também, que o jatobá, sob períodos curtos de alagamento de até 30 dias, mostra-se resistente.

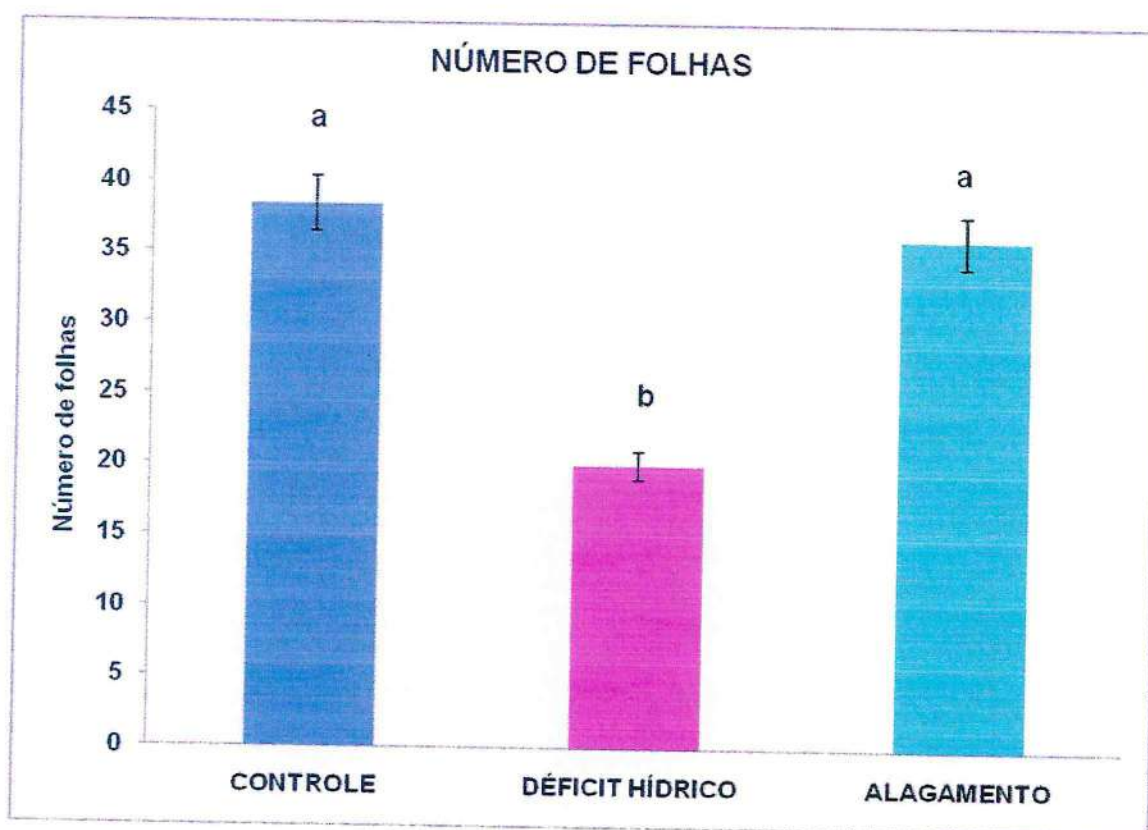


Figura 15. Número de folhas em planta de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetida durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.16- Altura da planta

As alturas das plantas controle e sob inundação não tiveram diferença significativa (Figura 16), em que as médias dos valores foram de 75,83 e 70,66 cm, respectivamente. Para as plantas submetidas ao déficit hídrico a altura média foi de 61,16 cm, mostrando que a suspensão hídrica afetou a altura da mesma.

A redução do crescimento longitudinal da planta sob déficit hídrico está relacionada a diversos fatores, dentre os quais a diminuição da condutância estomática (Figura 2-A), a qual está relacionada à diminuição do processo fotossintético da planta, em que o fechamento dos estômatos está intimamente ligado a redução do processo de carboxilação da planta, isto é, redução da atividade fotossintética. Outro fator está relacionado com a redução do metabolismo do nitrogênio e, consequentemente, a diminuição da síntese de aminoácidos, dentre eles o triptofano que é o precursor da auxina, hormônio de crescimento da planta, o ácido indol-3-acético (AIA). A

deficiência hídrica pode afetar diretamente a altura da planta pela redução da expansão celular e a formação da parede celular, e indiretamente, reduzindo a disponibilidade de carboidratos ou influenciando a produção de reguladores de crescimento.

Segundo Kudrev (1994), a deficiência hídrica interrompe o processo de crescimento, não apenas diminuindo o acúmulo de massa fresca e seca, mas também alterando o processo de crescimento, via controle hormonal e acelerando os processos catabólicos.

Resultados encontrados por Osório et al. (1998), mostraram diferenças entre a altura de três clones de *E. globulus*, submetidas ao déficit hídrico. Entretanto, as plantas sob alagamento não tiveram alterações significativas em razão da curta duração do experimento.

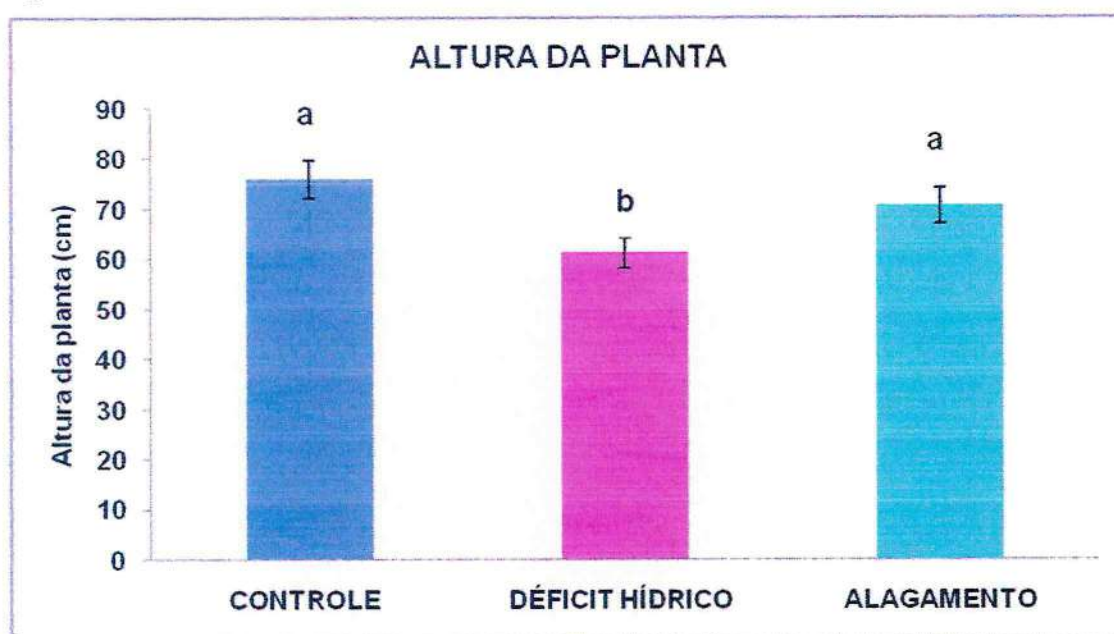


Figura 16. Altura da planta de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetida durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.17- Diâmetro do caule

O diâmetro do caule foi diminuído pelo estresse hídrico (Figura 17) onde variaram de 0,8; 0,6 e 0,76 cm para as plantas controle, sob déficit hídrico e plantas alagadas, respectivamente. Com assim, o diâmetro do caule reduziu apenas significativamente para as plantas sob déficit hídrico e não havendo diferença estatística para as plantas sob alagamento (Figura 17). A possível resposta a redução do diâmetro do caule, está ligada provavelmente ao maior fechamento estomático, que influenciará negativamente na produção e no acúmulo de assimilados. Esse decréscimo na produção de fotoassimilados e aumento na atividade de enzimas oxidantes, resultado de elevação da temperatura da planta que elevam a respiração e o gasto de fotoassimilados e, por conseguinte, reduzem o crescimento do caule. Tal crescimento tem sido menos estudado do que os demais órgãos das plantas, mas provavelmente, ele é afetado pelas mesmas forças que limitam o crescimento das folhas durante o estresse hídrico.

Nas plantas submetidas ao alagamento não houve diferença em relação às plantas controle, pois, possivelmente, o tempo de estresse não foi suficiente para promover alterações no crescimento das mesmas ou essa espécie é bastante resistente a esse tipo de estresse. Silva et al., (2002) encontraram reduções na altura das plantas, diâmetro do caule e da copa de plantas de *Melaleuca alternifolia* sob déficit hídrico de aproximadamente 100 dias. Após deixar clones de eucaliptos sem irrigação, Reis et al., (2006) observaram reduções no diâmetro do caule (12,5%, no máximo, respectivamente) em todos os clones avaliados em relação a plantas que estavam sendo irrigadas diariamente, entretanto não existe nenhuma informação com relação a esse parâmetro, no que concerne ao estresse anóxico.

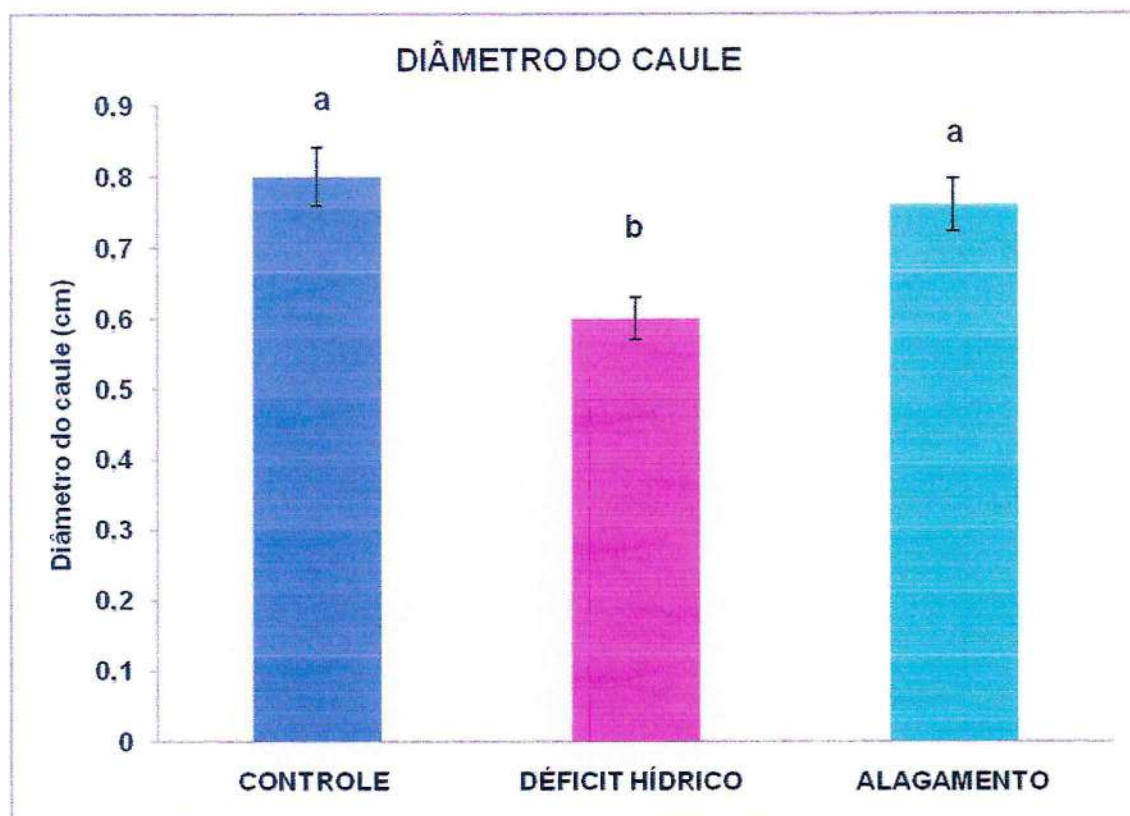


Figura 17. Diâmetro do caule em planta de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetida durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.18- Área foliar

Os resultados mostraram uma diferença significativa entre os tratamentos, nos quais houve uma redução de 68,76 cm² (plantas controle) para 57,58 cm² (plantas alagadas) e 45,38 cm² (plantas submetidas ao déficit hídrico), respectivamente como mostra a Figura 18. A redução da condutância estomática (Figura 2-A) possivelmente tenha contribuiu para a redução da taxa fotossintética e, com isso, ocorreu a diminuição na área foliar (Figura 18), levado por um decréscimo na fotossíntese e, conseqüentemente, nessa redução de área foliar, que implicará no crescimento da planta.

O alagamento e a deficiência hídrica promovem vários danos como a diminuição da fotossíntese, a absorção de nutrientes, os distúrbios hormonais e podendo ser exteriorizados pela redução nos teores de clorofilas resultante da degradação e/ou decréscimo de sua síntese e de sua área foliar como constatado em folhas de outras espécies submetidas a diferentes níveis de inundação (HUANG et al., 1994; PEZESKI

et al., 1996). Constatou-se que a redução da concentração de clorofilas é maior quando se permite o estresse por excesso de água que causa a hipoxia e que com isso, conduz a planta a profundas alterações seu metabolismo (LARCHER, 2000). Entretanto, na pesquisa do trabalho em questão, isso não foi observado, uma vez que o alagamento não afetou o número de folhas, provavelmente indicando que a espécie aqui estudada seja resistente a esse tipo de estresse.

A redução no crescimento da parte aérea das plântulas inundadas (Figura 19-A) deve ter ocorrido principalmente devido à expansão de folhas, isto é, a área foliar (Figura 18), uma vez que os sintomas como necrose, senescência e abscisão foliar não foram expressivos. A redução da área foliar das plantas jovens de jatobá, sob alagamento e déficit hídrico, poderia ser explicado pelas seguintes hipóteses: a) baixa produção de ATP; b) redução na síntese e translocação de substâncias reguladoras do crescimento, como giberelinas e citocininas, do sistema radicial para a parte aérea; c) decréscimo na taxa de assimilação de CO_2 em razão do fechamento estomático; d) redução na produção e translocação de fotoassimilados para a respiração. Por outro lado, reduções significativas no número de folhas e na área foliar total foram observadas em *Anadenanthera macrocarpa* e *Acacia farnesiana* (BARROS; BARBOSA, 1995) e em plantas de *Setaria anceps* e *Paspalum repens* submetidas parcialmente ou totalmente a inundação (ISHIDA et al., 2002).

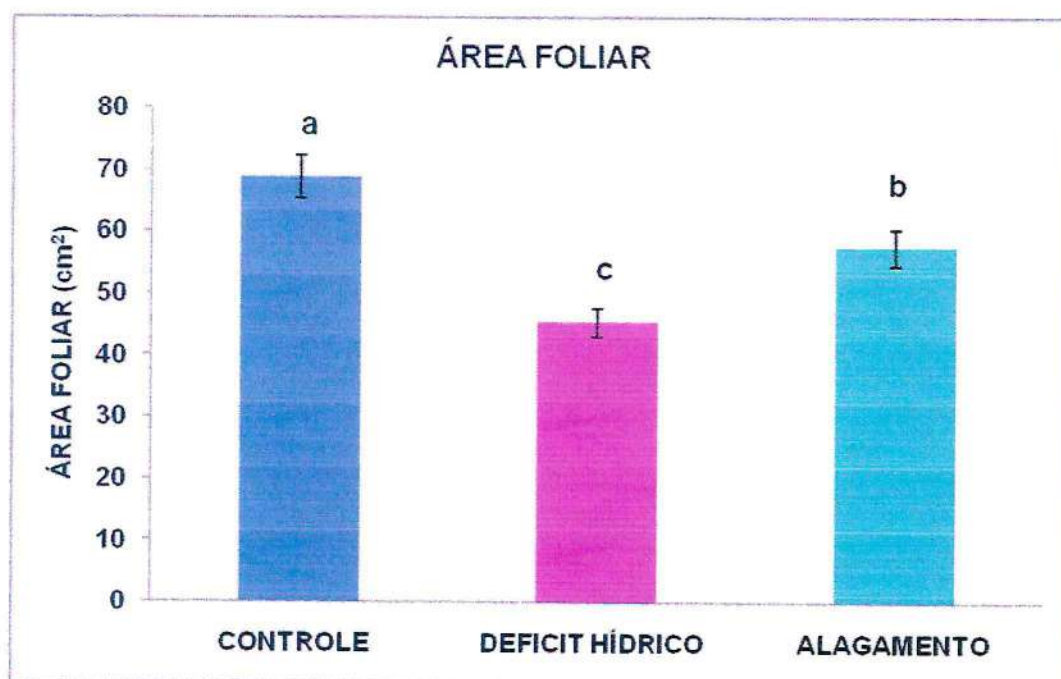


Figura 18. Área foliar em plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.19- Massa seca da parte aérea e sistema radicular

Os resultados revelaram um decréscimo significativo na massa seca da parte aérea sob deficiência hídrica e inundação (Figura 19-A). Essa redução teve uma variação das plantas controle para as plantas sob deficiência hídrica e sob as plantas inundadas de 20,93 para 8,34g, e para 15,92g, respectivamente. Essa redução, nas plantas submetidas ao estresse hídrico, se deve provavelmente à diminuição no comprimento da planta (Figura 16), diâmetro do caule (Figura 17), número de folhas (Figura 15) e área foliar (Figura 18), que influenciaram na taxa fotossintética da planta e no metabolismo do nitrogênio, bem como nas enzimas, aminoácidos e proteínas etc... Logo, a redução das substâncias de reservas e um aumento da ineficiência do transporte dos fotoassimilados podem causar um decréscimo em conjunto de toda sua parte aérea (PIMENTEL, 2004).

Contudo, essa redução nas plantas sob alagamento, deve-se principalmente, a redução na área foliar (Figura 18). Além disso, a redução desses fotoassimilados causou um provável desbalanço entre fonte/dreno, e inativação de hormônios responsáveis pelo crescimento da planta em altura (Figura 16) e do diâmetro do caule (Figura 17),

afetando significativamente a massa seca da parte aérea (Figura 19-A). Por outro lado, as plantas alagadas reduzem seu crescimento durante o período de alagamento, quando comparadas às plantas controle, principalmente pela redução na área foliar.

Os resultados foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para a diminuição da massa seca da raiz para as plantas submetidas à deficiência hídrica e ao alagamento (Figura 19-B). Os valores revelaram uma redução do acúmulo de massa seca das raízes de 6,71g das plantas controle para 3,22g e 4,9g das plantas com deficiência hídrica e sob alagamento, respectivamente.

O decréscimo pode ter sido consequência da menor quantidade de energia disponível para os processos de crescimento, principalmente pela redução na área foliar, já que em condições de baixo nível de oxigênio, as plantas passam a respirar anaerobicamente, resultando em uma redução na carga energética do metabolismo celular (baixa produção de ATP), além do decréscimo na produção e translocação de fotoassimilados para a respiração, devido à baixa área foliar (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003). Além disso, o déficit hídrico provoca redução na síntese e translocação de substâncias reguladoras do crescimento, entre elas as giberelinas e as citocininas, do sistema radicular para a parte aérea do vegetal, e um acúmulo de inibidores nas raízes que podem alterar o crescimento da planta.

O indício da formação de raízes adventícias, e também de lenticelas e aerênquimas conseguissem manter a absorção de água e nutrientes da solução, como resposta à ineficiência da atividade das raízes originais, o que não se verificou nesta pesquisa, provavelmente devido ao pouco tempo em que as plantas foram submetidas ao alagamento.

Como o estresse hídrico causado pela seca se desenvolve de maneira gradual, há uma sequência de eventos que ocorrem, sendo a primeira e a mais sensível resposta ao déficit hídrico a diminuição do processo de crescimento em consequência da redução da turgescência (LARCHER, 2006), o que não ocorreu com as plantas submetidas ao alagamento. Menor crescimento em solos com baixa tensão de oxigênio também foi observado em *Jacaranda puberula* (PIMENTA et al., 1996) e observado por Vellini (2008), em plantas de clones de eucalipto irrigadas a cada seis dias (menor disponibilidade hídrica) em comparação as plantas irrigadas diariamente.

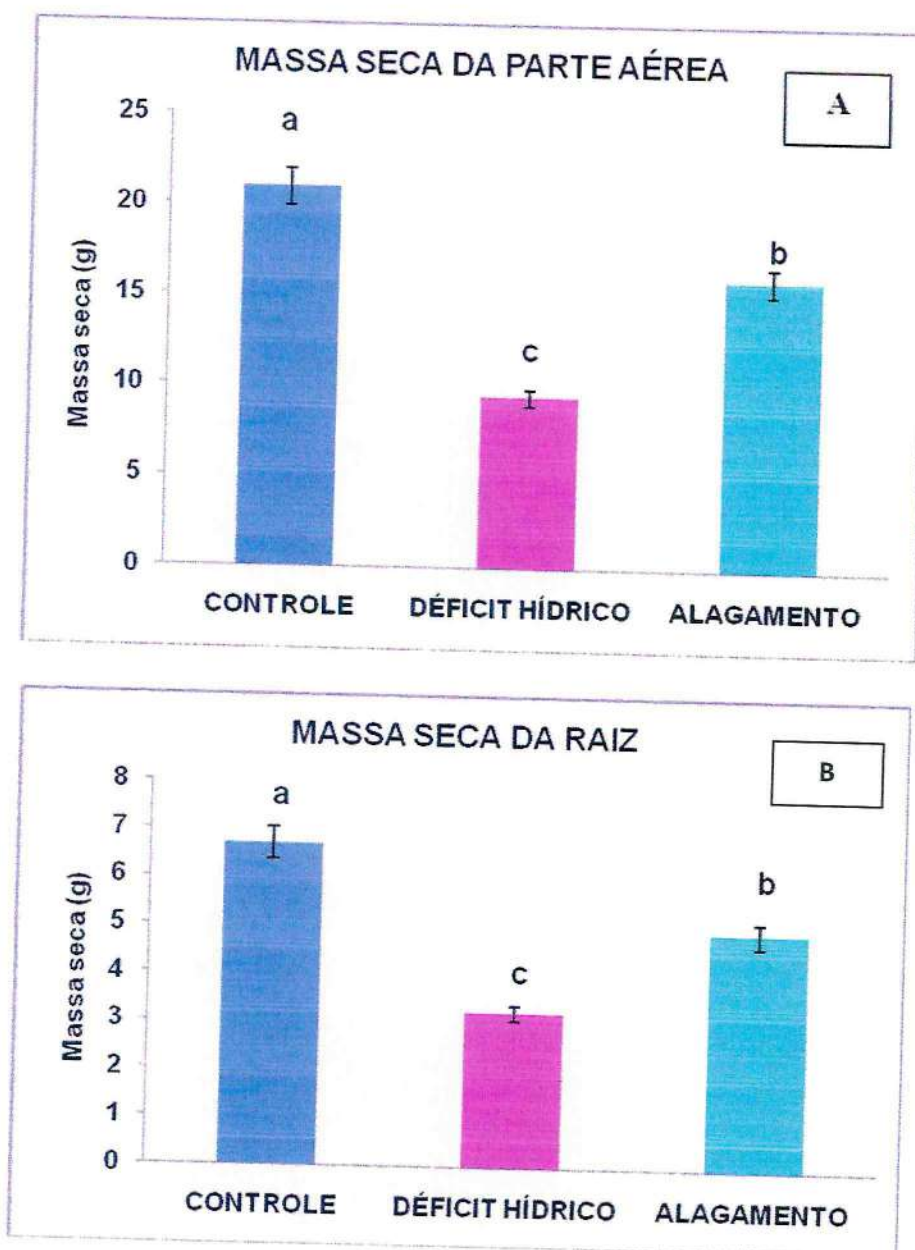


Figura 19. Massa seca da parte aérea (A) massa seca de raiz (B) de plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

3.20- Massa seca total

Os resultados da Figura 20 revelaram uma diminuição significativa para massa seca total das mudas de jatobá. Os valores mostraram que ao longo dos 30 (trinta) dias de estresse (déficit hídrico e alagamento) não houve um incremento de sua biomassa total. As plantas controle, déficit hídrico e alagamento tiveram uma biomassa total de 27,62g, 11,6g e 20,82g, respectivamente. Sendo assim, o teor de massa seca total, da

parte aérea e das raízes, observou-se que, em geral, as plantas de jatobá submetidas à restrição na disponibilidade de oxigênio molecular pela condição de alagamento, e deficiência hídrica apresentaram alterações significativas, ou seja, ocorreu decréscimo no acúmulo de biomassa total e esse decréscimo nas plantas sob estresse hídrico deve-se à diminuição do número de folhas (Figura 15), da altura da planta (Figura 16), diâmetro do caule (Figura 17), da área foliar (Figura 18) e da massa seca da raiz (Figura 19-B). Enquanto que nas plantas sob alagamento essa redução na massa seca total se deve, principalmente, à redução na área foliar (Figura 18) e massa seca da raiz (Figura 19-B).

Com isso, o tempo em que as plantas permaneceram sob hipoxia e a disponibilidade de água no solo ocorreu diferença no acúmulo de massa seca total. Em áreas alagadas ou sujeitas ao alagamento temporário, à difusão de gases da atmosfera até o solo é fortemente afetada, e as trocas gasosas são reduzidas a níveis extremamente baixos (JACKSON; COLMER, 2005).

A diminuição da biomassa total está envolvida pela redução da distribuição de nutrientes inorgânicos, água e fitormônios para os ramos, fotossíntese e outros drenos. Entretanto, os resultados mostraram que as plantas sob alagamento e suspensão hídrica do solo podem causar redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes, diminuindo seu crescimento e suas atividades metabólicas, que passam a demandar menor quantidade de carboidratos, acumulando os fotossintatos nas folhas (KERBAUER, 2004). Dessa forma, a maior disponibilidade de substrato respiratório, como a glicose, pode ser determinante na sobrevivência dos tecidos das raízes em ambientes anóxicos e, conseqüentemente, redução do crescimento da planta (LIN; LAO, 2001).

Puri e Swamy (2001) verificaram reduções significativas no crescimento de plantas jovens de nim indiano (*Azadirachta indica*) submetidas à rega a cada três semanas, durante 90 dias. Em comparação às plantas controle, irrigadas duas vezes por semana, as plantas estressadas tiveram reduções de 20% na altura e 35% no diâmetro do caule. Essas plantas também mostraram reduções significativas na produção de biomassa seca total, da ordem de 32% tanto na parte aérea quanto no sistema radicular.

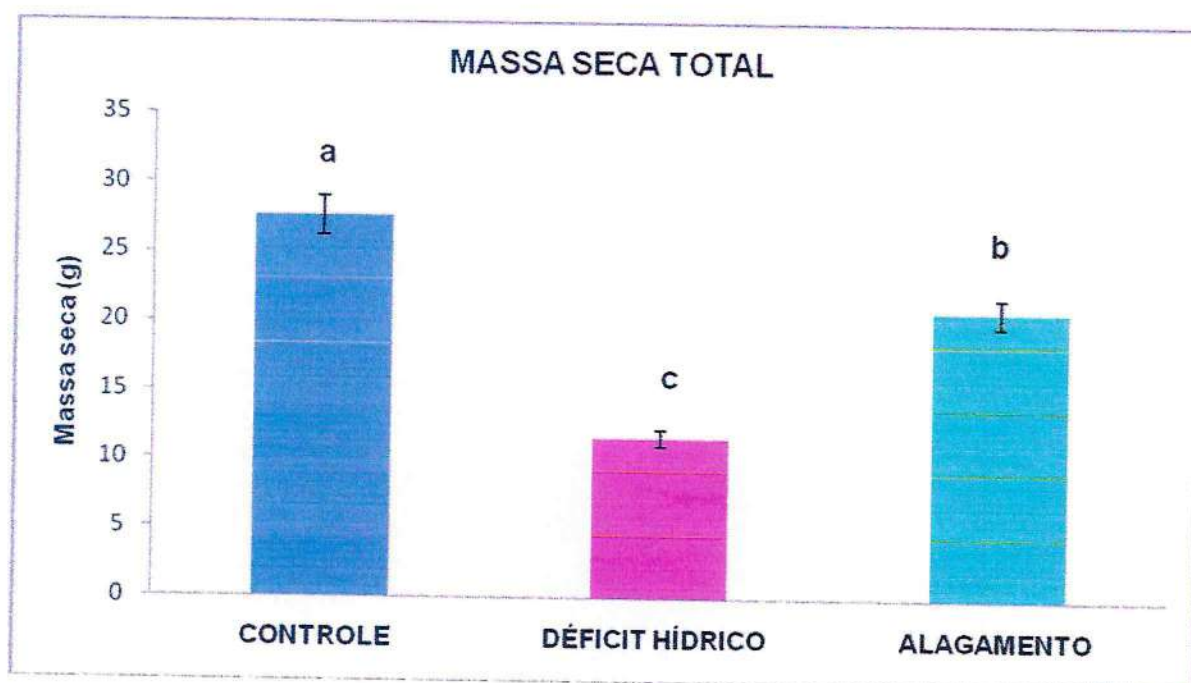


Figura 20. Massa seca total em plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas durante 30 dias sob suspensão hídrica e inundação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrões das médias.

4- CONCLUSÕES

A deficiência hídrica durante trinta dias resulta em diminuições consideráveis no potencial hídrico foliar, condutância estomática e transpiração.

A deficiência hídrica e o alagamento do solo durante trinta dias causam alterações consideráveis nas variáveis biofísicas e bioquímicas avaliadas.

A deficiência hídrica durante trinta dias promove uma diminuição significativa no número de folhas, na altura de plantas, no diâmetro do caule, na área foliar, na massa seca da parte aérea e raiz.

Plantas jovens de jatobá sob estresse hídrico durante trinta dias são suscetível à deficiência hídrica e tolerante ao alagamento do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR NETTO, A. O; RODRIGUES, J. D.; BASTOS, E. A; ONO, O. E. Desenvolvimento de plantas de ervilha (*Pisum sativum* L.), submetidas à diferentes potenciais da água no solo: Índices fisiológicos. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 52(3): 521-527, set./dez..1995.
- ALMEIDA, A.C.; SOARES, J.V. Comparação entre uso de água em plantações de *Eucalyptus grandis* e floresta ombrófila densa (Mata Atlântica) na costa leste do Brasil. *Revista Árvore*, v. 27, p. 159-170, 2003.
- ANGELOCCI, L. R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: Introdução ao tratamento biofísico. Piracicaba, 272p., 2002.
- ARMSTRONG, W.; BRANDLE, R.; JACKSON, M.B.; Mechanisms of flood tolerance diferentes regimes hídricos. 2001. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- ASHRAF, M.; HARIS, P.J. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, v. 166, p. 3-16, 2004.
- BARRETO, A. G. T; COSTA, R. C. L; CRUZ, F. J.R; CAMARGO, P. M. P; LUZ, L. M. Respostas bioquímicas e fisiológicas em plantas de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] submetidas ao alagamento. VI Seminário de Iniciação Científica da UFRA e XII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental/2008.
- BARROS JUNIOR, G.; GUERRA, H.O.C.; LACERDA, R.D de.; CAVALCANTI, M. L.F.; BARROS, A. D. de. Análise de crescimento da mamoneira submetida ao estresse hídrico. I Congresso Brasileiro de Mamona, Energia e Sustentabilidade, 23 a 26 nov, 1997, Campinas.
- BARROS, L.M.; BARBOSA, D.C.A. Crescimento de *Acacia farnesiana* (L.) Willd. em casa de vegetação. *Phyton*, v. 57, p. 179-191, 1995.
- BATES, L. S., WALDREN, R. P, TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. *Plant and Soil*. V. 39: 205-207. 1973.
- BELTRÃO, N. E. M; LUCENA, A. M. A; SILVA, G. A; OLIVEIRA, M. I. P. Estresse hipoxítico e anoxítico em plantas de mamoneira. III Congresso Brasileiro de Mamona-Energia e Ricinoquímica, 2006.

- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN.; FAGERSTEDT K.V. Antioxidants oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals Bot* 91:179-194 v. 2003.
- 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.
- BUCKERIDGE, M.S., DIETRICH, S.M.C. Galactomannans from Brazilian legume seeds1. *Rev. Brasil. Bot.* v. 13, p. 109-112, 1990.
- CAMPOS, M.A.S.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(3): 281-288. 2002.
- CARCELLER, M.; PRYSTUPA, P.; LEMCOFF, J.H. Remobilization of proline and other nitrogen compounds from senescing leaves of maize under water stress. *Journal Agronomy & Crop Science* 183, p.61-66. 1999.
- CARVALHO, C.J.R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [S. parahyba var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. *Rev. Árvore* vol.29 nº.6 Viçosa Nov./Dec. 2005.
- CARVALHO, C.J.R; ISHIDA, F.Y. Respostas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) jovens ao alagamento. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1231-1237, set. 2002.
- CASTRO, D. S.; LOBATO, A. K. S.; MENDES, F. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; CUNHA, R. L. M.; COSTA, R. C. L. Atividade da redutase do nitrato em folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.) sob déficit hídrico. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, p. 936-938, 2007.
- CATALDO, D. A.; HAROON, S. L. E; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun Soil Science Plant Analyse*, 6: (1):71-80, 1975.
- CENTRITO, M.; LORETO, F.; CHARTZOULAKIS, K.; The use of low [CO₂] to estimate dissusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of saltstressed oline saplings. **Plant. Cell and Environment**.p.585-594, 2003.
- CHAVES, J. H. Crescimento, fotossíntese e relações hídricas de clones de eucalipto sob

CHEN, T.H.H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology*, v.5, p. 250-257, 2002.

CORDEIRO, Y.E.M. Aspectos biofísicos e bioquímicos de plantas jovens de Mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King R.A) sob dois regimes hídricos. Belém/PA. 44f. 2009. Tese (Mestrado em Agronomia/Biologia Vegetal Tropical) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2007.

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

COSTA, G.F.; MARENCO, R.A.; Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazonica* Vol. 37(2) p.229 – 234. 2007.

COSTA, R. C. L. da. Assimilação de nitrogênio e ajustamento osmótico em plantas noduladas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) (Walp)] submetidas ao estresse hídrico. 1995. 255p. Tese (Doutorado em Bioquímica vegetal) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

CRUZ, M.C.M; SIQUEIRA, D. L; SALOMÃO, L. C. C; CECON, P. R; SANTOS, D. Teores de carboidratos em tangerineira ‘ponkan’ e limeira ácida ‘tahiti’ submetidas ao estresse hídrico. *Revista Ceres*. 55(4): 305-309, 2008.

DESTRO, M. V. P. Interação estresse salino e aplicação exógena de espermidina nos teores de glicina betaína de guandu. 2006. 69f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

DIAS-FILHO, M.B. Pastagens cultivadas na Amazônia oriental brasileira: processos e causas de degradação e estratégias de recuperação. In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V. (Ed.) **Recuperação de áreas degradadas**. Viçosa: UFV, Departamento de Solos; Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, 1998. p.135-147.

- DI MARTINO, C.; DELFINE, S.; PIZZUTO, R.; LORETO, F.; FUGGI, A. Free amino acids and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress. *New Phytologist*, Cambridge, v.158, p.455-463, 2003.
- DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G. DE; SOUZA, E. S. DE; FRANÇA, J. G. E. DE; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, 2004.
- DREW, M.C., Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.Biol.* 48:223-250, 1997.
- DAMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; PINHEIRO, H.A.; DUCATTI, C.; LOUREIRO, M.E. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, v. 164, p. 111-117, 2003.
- DAMATTA, F.M.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S.; REGAZZI, A.J. Water relations of coffee leaves (*Coffea arabica* and *C. canephora*) in response to drought. *Journal of Horticultural Science* v.68, p.741-746, 1993.
- DIAS-FILHO, M.B. Respostas morfofisiológicas de *Brachiaria* spp. ao alagamento do solo e a síndrome da morte do capim-marandu. In: BARBOSA, R.A. (Ed). **Morte de pastos de braquiárias**. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte, 2006. p.83-101.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. V.28, n.3, p.350-356. 1956.
- DURE, L. I. Structural motifs in Lea proteins.. In T. J. Close, and E. A. Bray (eds.) *Plant Responses to Cellular Dehydration during Environmental Stress*. Amer. Soc. Plant Physiology., Rockville, MD. p. 91-103, 1993.
- ELLIS, M.H.; DENNIS, E.S.; PEACOCK, J.W. Arabidopsis roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. *Plant Physiology*, Rockville, v.119, n.1, p. 57-64, Jan.1999.
- FREITAS, J. M. N. ; CARVALHO, K. S.; LOBATO, A. K. S.; CASTRO, D. S.; Maia, P.S.P.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C. L. Atividade da redutase do nitrato, conteúdo relativo de água e teores de clorofilas solúveis totais em folhas de açaizeiro

- (*Euterpe edulis* Mart.) submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, p. 924-926, 2007.
- GOMES, F. P.; GARCIA, C. H. Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. FEALQ, Piracicaba, SP. 2000. 309 p.
- GOMES, M.M.A; LAGÔA, A.M.M.A; MEDINA, C. L; MACHADO, E. C; MACHADO, M. A. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. *Braz. J. Plant Physiol.* v.16 nº.3 Londrina set./dez. 2004.
- GRIEVE C.M.; GRATAN S. R.. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil* 70: 303-307. 1983.
- HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P., Nitrate reductase from higher plants. In: *Methods in enzymology*, 17 A: 491 – 503, 1971.
- HEBERT, Y., E. GUINGO; O. LOUDET. The response of root/shoot partitioning and root morphology to light reduction in maize genotypes. *Crop Science*, 41: 363-371, 2001.
- HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; GOULART, P.F.P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E. M. Características fisiológicas e anatômicas de plantas de sibipiruna submetidas à hipoxia. *Cienc. Rural* vol.40 no.1 Santa Maria Jan./Feb. 2010 Epub Nov 06, 2009.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station, Circular*, 347. 1950.
- HOFFMAN, N.E.; HANSON, A.D. Purification and properties of hypoxically induced lactate dehydrogenase from barley roots. *Plant Physiology*, Rockville, v.82, n.3, p.664-670, Nov. 1986.
- HUANG, B.; JOHNSON, J. W.; NESMITH, S. e BRIDGES, D. C. Growth, physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to waterlogging and nutrient supply. *Journal of Experimental Botany*. Oxford, v. 45, n. 271, p. 193-202. 1994.
- ISHIDA, F.Y; OLIVEIRA, L.E.M.; CARVALHO, C.J.R.; ALVES, J.D. EFEITOS DA INUNDAÇÃO PARCIAL E TOTAL SOBRE O CRESCIMENTO, TEOR DE

- CLOROFILA E FLUORESCÊNCIA DE *Setaria anceps* e *Paspalum repens*. Ciênc. agrotec., Lavras. V.26, n.6, p.1152-1159, nov./dez., 2002.
- JACKSON, M.B.; COLMER, T.D. Response and adaptation by plants to flooding stress. *Annals of Botany*, v.96, p.501-505, 2005.
- JONES, H. G. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, v. 58, n. 2, p. 119-130. 2007.
- KAMACHI, K.; YAMAYA, T.; MAE, T.; OJIMA, K. A. Role for glutamine synthetase in remobilization of leaf nitrogen during natural senescence in rice leaves. *Plant Physiology*. 96, 411-417, 1991.
- KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; SRI LAXMI, P.; 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, n. 3, p. 424-438, 2005.
- KERBAUY, G. B. *Fisiologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.
- 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.
- KOLZOŁOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. Effect of flooding on water, carbohydrate and mineral relation. In: KOLZOŁOWSKI, T.T. *Flooding and plant grow*. New York, Academic Press. p.165-188. 2004.
- KOZŁOWSKI, T. I. Water supply and leaf shedding. In: . Water deficits and plant growth. New York: Academic Press, n.4, p.191-222. 1995.
- KOZŁOWSKI, T. T. e PALLARDY, S. G. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. *The Botanical Review*, v. 68, n. 2, p. 270-334. 2002.
- KUDREV, T.G. *Água: vida das plantas*. Trad. José Glicério de Rezende. São Paulo: Ícone, 1994. 178 p.
- KÜRSTEINER, O.; DUPUIS I.; KUHLEMEIER, C. The pyruvate decarboxylase gene of *Arabidopsis* required during anoxia but not other environmental stresses. *Plant Physiology*. v.132, p.968-978, 2003.

- LACHER W. Ecofisiologia vegetal. RIMA. São Carlos, SP. 2000. 554P.
- LARCHER, W. Ecofisiologia Vegetal. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Rima, 2006. 531 p.
- LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S.; PONS, T.L. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, Berlim. 540p.
- LAWLOR D.W. Limitation to photosynthesis in leaves water-stressed: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, 89: 871–885, 2002.
- LAWLOR, D. W, CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*, v.25. 2002. p.275-294.
- LEA, P.J.; AI-SULAIT, A.; PALMER, S. Absorção e metabolismo de nitrogênio sobre estresse hídrico. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL: O MILHO EM PERSPECTIVA, 1995. Belo Horizonte, MG. Anais. EMBRAPA/CNPMS, 1995. v. 1, p. 163-194, 1995.
- LECOEUR, J.; SINCLAIR, R.T. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. *Crop Science*, Madison, v.36, p.331-335, 1996.
- LEE. Y & LANGENHEIM, J. H. Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinoideae, Detarieae). University of California Press, Berkeley, Los Angeles. 1975.
- LEMKE-KEYES, C.A.; SACHS, M.M. Anaerobic tolerant null: mutant that allows *Adh1* nulls to survive anaerobic treatment. *Journal of Heredity*, Washington, v.80, n.4, p.316-319, July/Aug.1989.
- LIAO, C. T.; LIN, C.-H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. *Proceedings of the National Science Council, Roc (B)*, v. 25, p. 148-157, 2001.
- LIBERATO, M. A. R.; GONÇALVES, J. F. C.; CHEVREUIL, L. R.; NINA JÚNIOR, A. R.; FERNANDES, A. V.; SANTOS JÚNIOR, U. M. Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, n. 2, p. 315-323. 2006.

- LICHTENTHALER, H. K. The stress concept in plants: An introduction. *Annals of New York Academy of Sciences*, v. 851, p. 187-198. 1998.B
- LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C. L.; SANTOS FILHO, B. G., CRUZ, F. J. R.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. Biochemical and physiological behavior of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. under stress during the vegetative phase. *Asian Journal of Plant Sciences*, v.7, p.44-49, 2008.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras - Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil Vol. II, Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1998.
- MAESTRI, M. et al. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water stressed coffee plants (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*). *Journal Horticultural Science*, v.70, n.2, p.229-233, 1995.
- MADAN, S.; NAINAWATEE, H. S.; JAIN, R. K.; CHOWDHURY, J. B. Proline and proline metabolizing enzymes in in-vitro selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L. under salt stress. *Annals of Botany*, v. 76, p. 51-57, 1995.
- MANSUR, R. J. C. N. e BARBOSA, D. C. A. Comportamento fisiológico em plantas jovens de quatro espécies lenhosas da caatinga submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. *Phyton* 68: 97-106, 2000.
- MARTINS, D. et al. Caracterização química das plantas aquáticas coletadas no reservatório de Salto Grande (Americana-SP). *Planta Daninha*, v. 21, p. 21-26, 2003. (Edição especial).
- MARQUES, M.C.M.; JOLY CA. Germinação e crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de florestas inundadas. *Acta Botânica Brasileira*. 14: 113-120.2000.
- MARUR, C. J.. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, Brasília, v. 6, n.2, p. 103-108, 1994.
- McNEIL, S.D.; NUCCIO, M.L.; HANSON, A.D. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiology*, v.120, p. 945-949, 1999.
- MELO, M. G. G.; MENDES, A. M. S. Jatobá (*Hymenaea courbaril* L). Informativo técnicos Rede de Sementes da Amazônia, Manaus n.9. Universidade do Estado Amazonas, 2005.

- MELONI, D.A. Braz J. Plant Physiol., 16 (1):39-46 (2004). manipulation of leaf senescence. Plant Physiology, v. 113, p. 313-319, 1997.
- MITRA, J. Genetics and genetic improvement of drought resistance of crop plants. Current Science, v.80, p. 758-763, 2001.
- MORAES, M.G; ALVES, J.D; OLIVEIRA, L.E.M; VITORINO, P. F. P. G; MAGALHÃES, M.M. Caracterização do crescimento da atividade das desidrogenase alcoólica e láctica em seis espécies herbáceas sob condição de hipoxia. Ciênc. agrotec., Lavras, v.25, n.1, p. 86-95, jan./fev., 2001.
- 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 Approaches for Agricultural Development. Dordrecht:Kluwer, p.37-61, 1993.
- 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.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p.22-31, 2005.
- NOGUEIRA, R.J.M.C.; MORAES, J.A.P.V; BURITY, H.A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor de folhas e relações hídricas em aceloreiras submetidas a déficit de água. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.1, p.75-87, 2002.
- OLIVEIRA-NETO, C.F. Crescimento, produção e comportamento fisiológico e bioquímico em plantas de sorgo (*sorghum bicolor* [L.] moench) submetidas à deficiência hídrica /Belém, 2008. 114p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2008.
- OLIVEIRA, M. A. J. DE; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; RODRIGUES, J. D. Atividade da redutase de nitrato em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes*). Ciência Rural, v. 35, n. 3, p. 515-522, 2005.
- OSÓRIO, J.; OSÓRIO, M. L.; FAÇANHA, J. G. V. Avaliação da resistência à seca de *Eucalyptus* spp., mediante termometria a infravermelho. Revista Árvore, Viçosa, v. 8, n. 2, p. 363-373, 1998.

- PAGTER, M.; BRAGATO, G.; BRIX, H. Tolerance and physiological responses phragmites australis to water deficit. *Aquatic Botany* 81:285-299, 2005.
- PELACANI, C.R.; OLIVEIRA, L.E.M.; SOARES, A.M.; CRUZ, J.L.C. Relações hídricas de algumas espécies florestais em substrato inundado. *Revista Árvore*, 19: 548-558. 1995.
- 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.
- PETERNELLI, M. Características morfológicas e estruturais do capim-braquiara (Brachiaria brizantha (Hochst ex A. Rich.) Stapf. Cv. Marandu) sob intensidades de pastejo. 2003. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Zootecnia, USP, Pirassununga. 2003.
- PETRY, C. Adaptação de cultivares de soja a deficiência hídrica no solo. Dissertação de Mestrado, UFSM, Santa Maria, p.106, 1991.
- PEZESHKI, S. R., PARDUE, J. H.; DeLAUNE, R. D. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. *Tree Physiology*, Victoria, v. 16, p. 453-458, 1996.
- PEZESHKI, S.R. Plant response of flooding. In: WILKINSON, R.E. & DEKKER, M. *Plant-environment interactions*. New York. p.289-321, 1994.
- PIMENTA, J.A., MEDRI, M.E., BIANCHINI, E., MULLER, C., OKAMOTO, J.M., FRANCISCONI, L.M.J.; CORREA, G.T. 1996. Aspectos da morfoanatomia e fisiologia de *Jacaranda puberula* Cham. (Bignoniaceae) em condições de hipoxia. *Revta brasil. Bot.* 19:215-220.
- PIMENTEL, C. A relação da planta com a água. EDUR, Seropédica. 2004, p.191.
- PLAUT, Z. Photosynthesis in plant crop under water and salt stress. In- PESSARAKLI, M. *Handbook of plant crop physiology*, Israel, cap. 27, p.587-601, 1995.
- PURI, S.; SWAMY, S. L. Growth and biomass production in *Azadirachta indica* seedlings in response to nutrients (N and P) and moisture stress. *Agroforestry Systems*. n. 51, p. 57-68. 2001.

- REDDY, A. R., CHAITANYA, K. V, VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1189–1202. 2004.
- REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; FONTAN, I. C. I.; MONTE, M. A.; GOMES, A. N.; OLIVEIRA, C. H. R. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus* spp submetidos a dois regimes de irrigação no campo. *Árvore*, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006.
- REIS, I. N. R. S.; SANTOS-FILHO, B.G.; CASTRO, C.V.B.; LAMEIRA, C. N. ROSSATO, V. Trocas Gasosas e Alocação de Biomassa em Plantas Jovens de Curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith) Submetidas ao Alagamento. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 507-509, jul. 2007.
- RICARD, B.; COUEÉ, I.; RAYMOND, P.; SAGLIO, P.H.; SAINT-GES, V.; PRADET, A. 1994. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiol. Biochem.* 32:1-10.
- ROSS A.R.S.; AMBROSE S.J.; CUTLER A.J. FEURTADO J.A.; KERMODE A.R. NELSON K. ZHOU R., ABRAMS S.R. Determination of endogenous and supplied deuterated abscisic acid in plant tissues by high performance liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry with multiple reaction monitoring. *Anal. Biochem.*;329:324-333, 2004.
- SANTOS, H.P.; BUCKERIDGE, M.S. The Role of the Storage Carbon of Cotyledons in the Establishment of Seedlings of *Hymenaea courbaril* Under Different Light Conditions. *Annals of Botany* 94(6): 819-830, 2004.
- SANTOS, F.R.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, PB, v.2, n3, p.287-294, 1998.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's Guid: version 6.12, SAS Institute, Cary, NC. 1996.
- SCHÜTZ, W.; MILBERG, P.; LAMONT, B.B. Germination responses and seedling responses to water availability and soil type in four eucalypt species. *Acta oecologica*, 23: 23-30, 2002.

- STREIT, N.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W. C.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n.3, p. 748-755, maio/jun., 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Trad. SANTARÉM, E. R...[et al.]. – 3.ed. – Porto Alegre: Artmed, 2004. p.719.
- THOMSON, C.J. & GREENWAY, H. 1991. Metabolic evidence for stelar anoxia in maize roots exposed to low O₂ concentrations. *Plant Physiol.* 96:1294-1301.
- TOBE, K.; ZHANG, L.; OMASA, K. 2005. *Annals of Botany*, 95: 649-659.
- VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. *Anal Biochemical.*, V. 22: 280-283. 1968.
- VELLINI, A.L.T.T.; PAULA, N.F.de; ALVES, P.L.da.C.A.; PAVANI, L.C.; BONINE, C.A.V.; SCARPINATI, E.A.; PAULA, R.C.de. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.32, n.4, p.651-663, 2008.
- WATERS, I.; MORRELL, S.; GREENWAY, H.; COLMER, T.D. Effects of anoxia on wheat seedling.2 – Influence of O₂ supply prior to anoxia on tolerance to anoxia, alcoholic fermentation and sugar levels. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.42, n.244, p.1437-1447, Nov.1991.
- WEATHERBURN, M. W. Phenol hipochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*. V. 39: 971-974. 1967.
- XIONG, L.; SCUMAKER K. S.; ZHU J-K. Cell signaling during cold, drought and stress. *The Plant Cell*, 14: 165-183. 2002.
- YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthetica*, v. 38, n. 1, p. 171-186. 2000.
- ZHU, J., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Crit. Revista Plant Scienci.* 16:253-277. 1997.