



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-BOTÂNICA TROPICAL



Universidade Federal Rural
da Amazônia
BIBLIOTECA

LUANA MORAES DA LUZ

RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE
Hymenaea courbaril L. E *H. stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

Biblioteca



23510019

Dissertação
503.749
L 979
la 01

BELÉM

2012

mc:48037



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-BOTÂNICA TROPICAL



LUANA MORAES DA LUZ

RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE
***Hymenaea courbaril* L. E *H. stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA**
HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

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

Orientador: Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa.
Co-Orientador: Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho

BELÉM/PA

2012



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BOTÂNICA TROPICAL
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI

LEANA MORAES DA LUZ

RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE
Hymenaea courbaril L. E *H. stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

Universidade Federal Rural da Amazônia
Biblioteca
Nº 2351/12 Data 20/07/2012

Luz, Luana Moraes.

Respostas ecofisiológicas e bioquímicas de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. e *H. stigonocarpa* Mart. submetidas à deficiência hídrica e reidratação./ Luana Moraes Luz. Belém, 2011.

71 f.:

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica Tropical) - Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, 2011.

1. *Hymenaea courbaril*
 2. *H. stigonocarpa*
 3. Ecofisiologia
 4. Bioquímica
 5. Plantas - *Hymenaea courbaril* - potencial hídrico
 6. Plantas - *H. stigonocarpa* - potencial hídrico
 7. Plantas - Deficiência hídrica
 8. Plantas - Reidratação
 9. Plantas - Trocas gasosas
- I. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-BOTÂNICA TROPICAL


LUANA MORAES DA LUZ

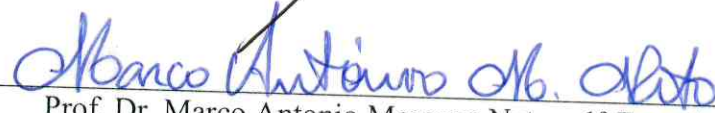
RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE
Hymenaea courbaril L. E *H. stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

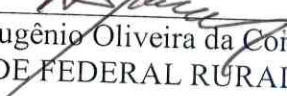
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de **mestre**.

Aprovado em 23 de dezembro de 2011.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa - Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA


Prof. Dr. Marco Antonio Menezes Neto - 1º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ


Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição - 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA


Prof. Dr. Cândido Ferreira Oliveira Neto - 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

DEDICO

Aos meus exemplos de vida além de serem as pessoas da minha vida, meus pais Antonio Luz e Edna Moraes e ao meu irmão Leandro Moraes.

OFEREÇO

A Deus.

AGRADECIMENTOS

Todos os que realizam um trabalho de pesquisa sabem que não o fazem sozinhos.

Agradeço a Deus por todas as vezes que esteve ao meu lado para me guiar.

Agradeço a todas as pessoas que foram presentes, se preocuparam, foram solidárias e torceram por mim.

Aos meus pais (Antônio Luz e Edna Moraes) por ter me ensinado o caminho certo da vida a “moda antiga”, por ter proporcionado não só o ensino, mas a educação.

Ao meu querido irmão Leandro Moraes, por ter assumido a responsabilidade da nossa família com grande carinho, dedicação e ter ajudado nos meus estudos infinitas vezes.

Ao meu orientador, prof. Roberto Cezar, por sempre estar disposto a me ajudar, a compartilhar o seu inigualável conhecimento, certamente ele é o maior exemplo acadêmico.

Ao meu co-orientador, prof. Benedito Gomes, pelas suas contribuições e avaliações críticas desde a elaboração do projeto a essa dissertação.

Ao Prof. Candido Neto pela ajuda nas análises bioquímicas.

À Equipe do Laboratório, Tamires Borges, Nariane, Joze Melissa e Susana Silva por todas as noites e dias de análises. Sem vocês, meninas, eu não conseguiria. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos difíceis. E em especial a Ediane Alves que esteve comigo do início ao fim, serei eternamente grata por sua distinção de sempre poder me ajudar, abdicando de muitas atividades e momentos importantes da sua vida acadêmica.

Ao Sr. Demóstenes de Andrade (Doquinha), ao Dr. Ismael Viégas e ao Prof. Lázaro Cunha pela generosidade de sempre estarem prontos para ajudar.

À Prof. Adrylaine, Édson e Jessivaldo Galvão pelo auxílio nas análises estatísticas e a Professora Ana Wilma pela assistência nas correções gramaticais.

A uma pessoa que esteve comigo durante toda a Graduação e Pós-Graduação, compartilhando momentos bons e outros que por muitas vezes foram difíceis da minha carreira profissional e pessoal. Obrigada por tudo Eng. Bruno Wendell de Freitas Pereira.

À Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi pela oportunidade do estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CAPES/REUNI) pela bolsa concedida.

Ao Coordenador, professores, secretária e colegas do Curso de Mestrado em Botânica Tropical.

Enfim, a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, contribuíram com sua amizade e com sugestões efetivas para a realização deste trabalho, gostaria de expressar minha profunda gratidão.

RESUMO

RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE *Hymenaea courbaril* L. E *H. stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

O suprimento de água para uma espécie resulta de interações que se estabelecem ao longo do sistema solo-planta-atmosfera. Quando a quantidade de água absorvida é maior que a quantidade transpirada a planta passa a sofrer deficiência hídrica que pode ocasionar o aumento da tensão negativa no vaso xilemático, resultando em mudanças nas relações hídricas refletindo na capacidade fotossintética associada com as alterações no metabolismo do carbono e do nitrogênio. O objetivo do trabalho foi investigar os efeitos da deficiência hídrica e reidratação nos aspectos fisiológicos e bioquímicos em plantas jovens de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém/PA. Cinquenta muda de cada espécie em estudo foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 18 kg de Latossolo Amarelo de textura média. Após cinco meses de aclimação, as medições dos parâmetros fisiológicos e bioquímicos foram realizadas, sendo uma no início do experimento, 13 e 26 dias após a suspensão hídrica. Nesse último momento as plantas foram reidratadas por dois e quatro dias. A espécie *H. courbaril* reduziu sua transpiração, fotossíntese, condutância estomática, potencial hídrico e conteúdo relativo de água após 26 dias em 93.8, 93.5, 87.0, 525 e 52.8%, respectivamente em relação ao status hídrico inicial. Enquanto que no mesmo período a *H. stigonocarpa* apresentou redução da transpiração, fotossíntese, condutância estomática, potencial hídrico e conteúdo relativo de até 60.9, 31.3, 60.2, 135 e 25%, respectivamente. Ambas as espécies após quatro dias de reidratação conseguiram recuperar a maioria de suas características fisiológicas, com exceção do conteúdo relativo de água para ambas e da fotossíntese para a espécie *H. courbaril*. Similar às mudanças fisiológicas, os aspectos bioquímicos também foram afetados, como por exemplo, a redução do nitrato teve sua atividade reduzida em 56% para a *H. courbaril* e 30% em *H. stigonocarpa*, decorrido 26 dias de estresse. No mesmo período, ambas as espécies aumentaram a concentração de sacarose em 18%, com uma diminuição de 52 e 29% do conteúdo de amido e proteínas solúveis totais, respectivamente. As taxas de carboidratos solúveis totais, aminoácidos livres totais, prolina e glicina-betaina tiveram aumento significativo a partir do décimo terceiro dia nas duas espécies alcançando valores, respectivos, de 1.8, 1.7, 2.6 e 2.0; 2.6, 1.5, 2.6 e 1.5 vezes maior que o status hídrico inicial. Somente as concentrações dos carboidratos e prolina foram readquiridas para *H. courbaril*. Todavia, a *H. stigonocarpa*, com exceção da redução do nitrato, conseguiu recuperar as variáveis bioquímicas após quatro dias de reidratação. Portanto, a *H. stigonocarpa*, devido à recuperação da maioria de suas características bioquímicas e fisiológicas, exerce maior adaptabilidade em relação ao estresse hídrico, o que a torna mais potencialmente recomendada para ambientes com restrições hídricas, apesar da *H. courbaril* apresentar alta plasticidade a esse ambiente.

Termos para indexação: potencial hídrico, trocas gasosas, ajustamento osmótico, espécie arbórea, tolerância à seca.

ABSTRACT

ECOPHYSIOLOGICAL BIOCHEMICAL RESPONSES OF PLANTS AND YOUNG A *Hymenaea courbaril* L. AND *H. stigonocarpa* Mart. SUBMITTED TO WATER STRESS AND REHYDRATION

The water supply for a species is the result of interactions that take place over the soil-plant-atmosphere. When the amount of water absorbed is greater than the amount transpired the plant suffers from water stress which may lead to increasing tensions negative xylem vessel, resulting in changes in water relations reflected in photosynthetic capacity associated with changes in the metabolism of carbon and nitrogen. The objective of this study was to investigate the effects of water stress and rehydration in physiological and biochemical aspects in young plants of *H. courbaril* and *H. stigonocarpa*. The experiment was conducted in a greenhouse belonging to the Institute of Agricultural Sciences (ICA) of the Federal Rural University of Amazonia (UFRA) in Belém / PA. Fifty changes of each species under study were transplanted to pots containing 18 kg of polyethylene Yellow Latosol of medium texture. After five months of acclimatization, measurements of physiological and biochemical parameters were performed, one at the beginning of the experiment, 13 and 26 days after the suspension fluid. In the latter when the plants were rehydrated by two and four days. The species *H. courbaril* reduced their transpiration, photosynthesis, stomatal conductance, water potential and relative water content after 26 days 93.8, 93.5, 87.0, 52.5 and 52.8%, respectively compared to the initial water status. While in the same period *H. stigonocarpa* decreased transpiration, photosynthesis, stomatal conductance, water potential and relative content of up to 60.9, 31.3, 60.2, 135 and 25% respectively. Both species after four days of rehydration were able to recover most of their physiological characteristics, except for the relative water content for both and photosynthesis of *H. courbaril*. Similar to changes in physiological, biochemical aspects were also affected, for example, nitrate reductase activity was reduced by 56% for *H. courbaril* and 30% in *H. stigonocarpa*, after 26 days of stress. At the same time, both species to increase the concentration of sucrose in 18% with a decrease of 52 to 29% of the content of starch and soluble proteins, respectively. The rates of total soluble carbohydrates, free amino acids, proline and glycine betaine had a significant increase from the thirteenth day in both species reaching values, respective, 1.8, 1.7, 2.6 and 2.0, 2.6, 1.5, 2.6 and 1.5 times greater than the initial water status. Only the concentrations of carbohydrates and proline were repurchased for *H. courbaril*. However, *H. stigonocarpa* except nitrate reductase, was able to recover biochemical variables after four days of rehydration. Therefore, *H. stigonocarpa* due to the recovery of most of their biochemical and physiological characteristics, exerts greater adaptability in relation to water stress, which makes it potentially recommended for environments with water restrictions, despite *H. courbaril* show high plasticity in this environment.

Index terms: water potential, gas exchange, osmotic adjustment, tree species, drought tolerance.

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
2. RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS JOVENS DE <i>Hymenaea courbaril</i> L. E <i>H. stigonocarpa</i> Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
2.1 INTRODUÇÃO	21
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	22
2.2.1 Local e condução do experimento	22
2.2.2 Potencial hídrico antemanhã	23
2.2.3 Conteúdo relativo de água	23
2.2.4 Trocas gasosas	24
2.2.5 Análise de dados	24
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
2.4 CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	36
3. RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE <i>Hymenaea courbaril</i> L. E <i>H. stigonocarpa</i> Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO	37
RESUMO	37
ABSTRACT	38
3.1 INTRODUÇÃO	39
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.2.1 Local e condução experimental	41
3.2.2 Determinação da atividade da redutase do nitrato	42
3.2.3 Determinação do amido	43
3.2.4 Determinação dos carboidratos solúveis totais	43
3.2.5 Determinação das proteínas solúveis totais	44
3.2.6 Determinação dos aminoácidos livres totais	44
3.2.7 Determinação da sacarose	45
3.2.8 Determinação da prolina	45
3.2.9 Determinação da glicina- betaína	46
3.2.10 Análise de dados	46

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.4 CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
ANEXOS	69

CONTEXTUALIZAÇÃO

O clima do nosso planeta é cíclico. Há os ciclos muito longos, de séculos, provocados pela atividade solar, os ciclos médios, de décadas, provocados pela Oscilação Decadal do Pacífico (ODP) e os ciclos curtos, de meses, provocado pelo *El Niño*, que causa um déficit de precipitação pluviométrica no norte e leste da Amazônia (Hackbart, 2008).

A média de precipitação na região amazônica é de 2300 mm anuais, porém esse valor não é uniforme em toda a região (Fisch, 1996). Os dados climatológicos utilizados na classificação climática do Estado do Pará demonstram uma maior deficiência hídrica no interior da região Nordeste e Sudoeste do Estado e maiores valores de deficiência nas regiões Este e Noroeste o que corresponde a aproximadamente 45% do território durante o período seco. Devido a esses fatores mais da metade das florestas da região sofre estiagens anuais que duram de julho a novembro. Mesmo após várias semanas seguidas sem chuva, continuam verdes, úmidas e imunes ao fogo, são as chamadas “florestas de raízes profundas”, pois através de suas raízes consegue capturar, durante a seca, água estocada a mais de 10 metros de profundidade. Mas se a estiagem for muito prolongada, como acontece durante o evento climático *El Niño*, o solo profundo também ficará seco, impedindo que as raízes se abasteçam de água (Embrapa, 2001).

O suprimento de água para uma espécie resulta de interações que se estabelecem ao longo do sistema solo-planta-atmosfera, o qual é determinado pela habilidade da planta em utilizar a água armazenada no solo, enquanto a demanda da atmosfera, por outro lado, está relacionada à combinação dos fatores meteorológicos interagindo com o dossel vegetativo da cultura (Carlesso, 1995).

O déficit de água aumenta a tensão negativa do xilema, evidenciados por mudanças nas relações hídricas refletindo nas alterações dos processos fisiológicos e bioquímicos, o que pode afetar as plantas de modos diferentes a depender de diversas características inerentes a cada vegetal. Em ambientes de seca moderada as plantas através de sua arquitetura foliar podem regular a perda de água e a captação que permite a manutenção do conteúdo relativo de água nas folhas, possibilitando uma pequena mudança na capacidade fotossintética que está associada com as alterações no metabolismo do carbono e do nitrogênio (Cornic & Massacci, 1996; Mwanamwenge et al., 1999).

Em regiões com diferentes características de clima e solo, vem sendo utilizadas medições de trocas gasosas em plantios florestais para avaliar as respostas primárias de produtividade dessas espécies diante as variações diurnas e sazonais (Waring & Landsberg,

2011). O principal mecanismo de controle das trocas gasosas é o movimento estomático nas plantas superiores. Para a maioria das espécies, o fechamento estomático ocorre após reduções da disponibilidade hídrica do solo (Taiz & Zeiger, 2004). A redução das trocas gasosas promovida pela deficiência de água altera os processos bioquímicos através da diminuição da capacidade da planta em formar proteínas para seu crescimento bem como reduz a produção de amido, pois a atividade da sacarose fosfato sintase é diminuída, sob déficit de água (Kramer & Boyer, 1995). A planta, sob essas condições desfavoráveis, passa a reduzir a produção de carboidratos através do processo fotossintético, dos quais parte é utilizada para armazenamento (Souza et al., 1982). Assim, a planta passa a acumular compostos orgânicos como os açúcares solúveis e aminoácidos, responsáveis pelo ajustamento osmótico em condições de déficit hídrico. A prolina é um composto muito expressivo na osmorregulação dos tecidos vegetais submetidos ao estresse (Lawlor & Leach, 1985). Enquanto vários aminoácidos são conhecidos por se acumular em função da tensão osmótica, a prolina tem um papel protetor específico aparentemente dentro da adaptação das células das plantas com restrição hídrica (Handa et al., 1986) e parece ser o osmorregulador orgânico preferido dentre muitas plantas. O acúmulo dessa substância no tecido vegetal, primariamente ligada à diminuição do conteúdo relativo de água, resulta da diminuição da síntese ou degradação das proteínas (Taiz & Zeiger, 2004; Kerbauer, 2008).

O comportamento vegetal anormal observado pelas alterações bioquímicas e fisiológicas resultantes do estresse hídrico pode ser revertido através da reidratação, que dependendo do período de deficiência, proporciona uma recuperação das características fotossintéticas e o *status* hídrico inicial que estão diretamente ligados ao desempenho das atividades bioquímicas. Em plantas de *Minquartia guianensis*, a recuperação da taxa fotossintética após 21 dias de estresse se deu em seis dias (Liberato et al., 2006), diferente das respostas de *Carapa guianensis* onde a recuperação se deu em oito dias. No entanto para esta mesma espécie as taxas de transpiração e condutância estomática se deram no quarto dia. A taxa de recuperação da condutância estomática ocorreu de maneira mais rápida que a taxa fotossintética (Gonçalves et al., 2009). Esse comportamento confirma o fato dos estômatos atuarem como eficiente mecanismo de entrada de CO₂, para manter elevada concentração desse gás dentro da célula para ser utilizada na fase bioquímica da fotossíntese, o que explica uma resposta tardia do processo fisiológico em plantas submetidas à reidratação (Lawlor, 2002).

Aspectos como esses mostram a relevância de se conhecer os fatores intrínsecos e ambientais relacionados à fisiologia das árvores amazônicas. Se as mudanças climáticas e a

destruição das florestas tropicais continuarem com as taxas atuais (aproximadamente 22.000 km². ano⁻¹) (Laurance et al., 2004), provavelmente os produtos madeireiros serão obtidos de florestas secundárias ou de plantios. Entretanto, não se sabe como espécies de diferentes estádios sucessionais na floresta amazônica responderão a estas variações ambientais de deficiência hídrica.

As estratégias que as plantas normalmente desenvolvem para conter a seca são constituídas de uma mistura de mecanismos de tolerância. Essas estratégias de tolerância envolvem respostas fisiológicas e bioquímicas imediatas, considerando que as estratégias que envolvem características morfológicas podem desenvolver-se a longos prazos (McCue & Hanson, 1990).

Portanto, mudanças fisiológicas e bioquímicas, constituem o foco dessa pesquisa, a qual tem como objetivo compreender a relação entre as respostas fisiológicas e bioquímicas em folhas de plantas jovens de duas espécies florestais, *Hymenaea courbaril* e *H. stigonocarpa*, submetidas à deficiência hídrica e reidratação, que apesar de pertencerem ao mesmo gênero, não se sabe a relação das respostas comportamentais quando ambas as espécies são submetidas ao mesmo ambiente com disponibilidade hídrica limitada.

O gênero *Hymenaea* possui 14 espécies ocorrentes em regiões tropicais e subtropicais (Lee & Langenheim, 1975). Entre as espécies arbóreas de ampla distribuição encontram-se a *Hymenaea Courbaril* L. e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, pertencentes à família Leguminosae e subfamília Caesalpinioideae (Lorenzi, 1992; Almeida et al., 1998).

A *H. stigonocarpa*, popularmente conhecida como jatobá-do-cerrado ou jutaí, (Carvalho, 2007) é uma leguminosa arbórea secundária tardia (Durigan & Nogueira, 1990) de ocorrência comum em ecossistemas de cerrado e serradão brasileiro (Correa, 1984; Lorenzi, 1992; Almeida et al., 1998). Ocorre, naturalmente, em solos secos e, em solos de fertilidade química baixa, mas sempre em terrenos bem drenados, com necessidade de precipitação pluvial média anual variando entre 760 mm a 1.800 mm (Carvalho, 2007).

É uma planta decídua, heliófita e seletiva xerófito. Suas árvores variam de 6 a 15 metros de caule liso com ramos inermes, velutíneos ou glabrescentes (Almeida et al., 1998). As folhas contêm pecíolos de 6-13 cm, tomentosos, ferrugíneos; folíolos opostos, 4,7-2,3 cm x 10,8-5,3 cm, concolores, coriáceos, oblongos, base assimétrica, ápice geralmente arredondado, face adaxial tomentosa, face abaxial pelúcido-punctada; pecíolulo de 1 mm. Inflorescências racemosas, terminais com brácteas. Flores com cálice turbinado-campanulado, velutíneo, quatro sépalas concrecidas, esverdeadas; corola creme, pétalas oboval-oblongas, subiguais, livres; ovário glabro (Martins, 2009).

Com flores hermafroditas apresentam um sistema de reprodução predominante de cruzamentos, polinização quiróptero-filia, dispersão do tipo barocoria e zoocoria das sementes permitindo uma alta diversidade genética (Moraes et al., 2007). Os frutos são do tipo legume nucóide, curtoestipitado, muricado, glabro, castanho-avermelhado (Martins, 2009). Robustos, os frutos variam entre 10-20 cm de comprimento por 4-6 cm de largura (Rizzini, 1971), apresentando polpa seca, farinácea, adocicada, comestível e de sabor e cheiro muito característico (Rocha, 1992). A polpa é consumida *in natura* e na forma de geléia, licor e farinhas para bolo, pães e mingaus (Rocha, 1992; Silva, 1995; Almeida et al., 1998). Por produzir anualmente grande quantidade de frutos, esta espécie representa um papel ecológico fundamental, pois serve de alimento para a fauna terrestre (Moraes et al., 2007) sendo recomendada para a recuperação de áreas degradadas, já que é bastante procurada pela fauna tornando-se uma espécie apta para essas finalidades (Carvalho, 2007).

A espécie *Hymenaea courbaril*, mais conhecida como jatobá-da-mata (Lorenzi, 2000), é uma espécie clímax, semidecídua, heliófita que atinge altura de 15-20 m, com tronco de até 1 metro de diâmetro. É uma árvore de fácil multiplicação, não podendo faltar na composição de reflorestamentos heterogêneos (Lorenzi, 1998). Ocorre desde o sul do México, até grande parte da América do Sul, incluindo Guiana Francesa, Suriname, Guiana, Venezuela, Colômbia, Peru e Bolívia (Melo & Mendes, 2005), com abundante ocorrência na Amazônia, chegando até a região sudeste do Brasil (Loureiro et al., 1979) em quase todas as áreas de matas pluviais a matas secas (Lorenzi, 2002; Ipef, 2008).

É uma espécie hermafrodita e alógama com as árvores que medem de 10-20 m de altura com fuste cilíndrico, normalmente reto (Lorenzi, 2000). Apresentam ramos inermes, hirsutos. As folhas contêm pecíolo de 5-10 mm, tomentoso; folíolos 5,0-5,5 x 2,0-2,5 cm, opostos, concolores, coriáceos, oblongos, base assimétrica, ápice geralmente agudo, face adaxial glabrescente ou glabra, lustrosa, face abaxial pelúcido-punctada; peciólulo de 1 mm. As inflorescências são racemosas, terminais com brácteas. Flores com cálice campanulado, eglanduloso, quatro sépalas imbricadas, concrecidas, esverdeadas; corola alva, pétalas imbricadas, oblongas, subiguais, livres; ovário glabro. Os frutos são do tipo legume nucóide, curto-estipitado, verrugoso, lustroso, castanho escuro (Martins, 2009). A polinização das flores é realizada pelos morcegos e a dispersão dos frutos e sementes por mamíferos, tais como a anta, o veado, a queixada e o macaco-prego (Lorenzi, 2000). Os frutos contêm uma polpa que origina uma farinha muito nutritiva, consumida tanto pelo homem como pelos animais silvestres (Lorenzi, 1998).

É uma árvore que produz sementes com abundância e regularidade o que favorece seu uso comercial (Campos & Uchida, 2002), com comprimento de aproximadamente 10 a 20 cm, com diâmetro variando entre 4 a 6 cm (Jayaprakasam et al., 2007). Suas sementes apresentam dormência causada por impermeabilidade do tegumento (Almeida et al., 1999), que garante maior longevidade, permitindo que germine mesmo decorrido muito tempo da dispersão. Devido a isso, devem ser submetidas, antes da semeadura, a tratamento para quebrar a dormência.

Da árvore é extraído óleo essencial, taninos, materiais resinosos e pécnicos, amido e açúcares, sendo as cascas e folhas utilizadas no tratamento de diarréias, cólicas intestinais, cistite, tosses, bronquite e asma (Panizza, 1997) além da resina que exsuda do seu tronco, utilizada para vernizes (Loureiro et al., 1979).

A *H. courbaril* aparece em área com temperatura média entre 20 a 30 °C, solos profundos, argilosos e bem drenados. Cresce bem em zonas úmidas com precipitação anual entre 1.500 e 3.000 mm onde sua deficiência hídrica não deve passar de 100 mm (Nappo et al., 2005). Não se desenvolve bem em solos inundáveis (Carvalho, 1994), sendo pouco exigente em fertilidade e umidade do solo, não podendo faltar na arborização de parques e grandes jardins além do reflorestamento (Lorenzi, 1992).

A madeira do jatobá da mata e do serrado é empregada na construção civil em vigas, caibros, ripas, acabamentos internos (marcos de portas, tacos e tábuas para assoalhos), na confecção de artigos para esportes, cabos de ferramentas, peças torneadas, esquadrias, jóias, objetos de arte e peças de decoração, bem como móveis de alto luxo. Conhecida como Brazilian-cherry, a madeira do jatobá consta junto com o ipê (Brazilian-walnut) e o mogno (Mahogany) no grupo das 10 mais valiosas e negociadas madeiras do mundo.

Apesar das árvores dessas duas espécies serem úteis na construção civil e naval (Correa, 1984; Lorenzi, 1992), devido seu crescimento lento, resultando em um fuste rígido (Lorenzi, 1992) elas também, como já foi citado, tem utilidades em ornamentação e em áreas destinadas ao reflorestamento, pois além de servirem de alimento para a fauna nativa (Lorenzi, 1992), servem como uma fonte de captação de CO₂ atmosférico (Phillips et al., 2002; Malhi et al., 2002).

As hipóteses levantadas neste estudo é que ambas as espécies sofrerão igualmente com o estresse; e que as espécies ao final do período seco recuperarão seu metabolismo através da reidratação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. J. B.; FERRAZ, I. D. K.; BASSINI, F. **Estudos sobre a permeabilidade do tegumento e a germinação de sementes de *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae), uma espécie de uso múltiplo.** Revista da Universidade do Amazonas: Série Ciências Agrárias, Manaus, 8 (1-2): 63-71, 1999.

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: Espécies vegetais úteis.** Planaltinha: EMBRAPA-CPAC. 464p., 1998.

CAMPOS, M.A.A; UCHIDA, T. **Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.37, n.3, p.281-288, 2002.

CARLESSO, R. **Absorção de água pelas plantas: água disponível versus extraível e a produtividade das culturas.** Revista Ciência Rural, Santa Maria, v.25, n.1, p.183-188, 1995.

CARVALHO, P.E.R. **Jatobá-do-cerrado - *Hymenaea stigonocarpa*.** Circular técnica Embrapa Florestas, Colombo, n.133, p.1-8, 2007.

CORNIC, C., MASSACCI, A. **Leaf photosynthesis under drought stress.** In: **Photosynthesis and Environment.** Ed. Baker, N.R. Kluwer Acad. Publs, 347-366. 1996.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivada.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/ IBDF, 1984. v.4, 765p., 1984

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. **Recomposição de matas ciliares.** São Paulo: Instituto Florestal. 14p. (IF. Série registros, 4),1990.

EMBRAPA; IPAM; WHRC. **Simulando o efeito do El Niño na Floresta Amazônica.** Belém/PA. 2001. Disponível em: <http://www.ipam.org.br/biblioteca/livro/Simulando-o-efeito-do-El-Nino-na-Floresta-Amazonica/375>. Acessado em 02 de julho de 2011.

FISCH, G. **Clima da Amazônia.** Revista Climanálise, 1996. Disponível em: <http://climanalise.cptec.inpe.br/~rclimanl/boletim/cliesp10a/fish.html>. Acesso em 07 de setembro de 2011.

GONÇALVES, J. F. DE C., SILVA, C. E. M. DA, GUMARÃES, D. G. **Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação.** Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.44, n.1, p.8-14, 2009.

HACKBART, E. **Oscilação Decadal do Pacífico** - Cientistas reconstróem o clima do planeta. 2006. Disponível em: http://www.metsul.com/secoes/visualiza.php?cod_subsecao=31&cod_texto=7. Acesso em 25 de fevereiro de 2011.

HANDA S.; HANDA, A.K.; HASEGAWA, P.M. & BRESSAN, R.A. **Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cells to salinity stress.** Plant Physiol 80: 938–945, 1986.

IPEF–Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais. Disponível em: <<http://www.ipef.br>>. Acesso em: 08 agosto de 2011.

JAYAPRAKASAM, B. LINDO, R.L.A.; WITT, D.L.; NAIR, M.G. **Terpenoids from stinking toe (Hymenaea courbaril) frits with cyclooxygenase and lipid peroxidation inhibitory activities.** Food Chemistry., v. 105, n. 2, p. 485-490, 2007.

KERBAUER, G. B. **Fisiologia Vegetal.** 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plant and soils.** Academic Press, New York. 495p, 1995

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos: Rima. 531p, 2000.

LAURANCE, W.F.; ALBERNAZ. A.K.M.; FEARNSIDE, P.M.; VASCONCELOS, H.L.; FERREIRA, L.V. **Deforestation in Amazonia.** Science, 304:1109, 2004.

LAWLOR, D.W. & UPRETY, D.C. **Effects of water stress on photosynthesis of crops and the biochemical mechanism.** In: Abrol YP, Mohanty P and Govindjee (eds) Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity, p.419–449, 1993

LAWLOR, D.W. **Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP.** Annals of Botany, v.89, p.871-885, 2002.

LIBERATO, M.A.R.; GONÇALVES, J.F.C.; CHEVREUIL, L.R.; NINA JUNIOR, A.R.; FERNANDES, A.V.; SANTOS JUNIOR, 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, p.315-323, 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 2ªed. São Paulo: Plantarum, 352p., 1992.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.** V.2. Nova Odessa: Plantarum. 381p., 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 3ª ed. Nova Odessa: Plantarum. 352p., 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, v.1, 368p., 2002.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F. da; ALENCAR, J. da C. **Essências madeireiras da Amazônia. Manaus.** Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. v. 1, 1979.

MALHI, Y.; MEIR, P.; BROWN, S. **Hilosophical Transactions of the Royal Societty of London. Series A-Mathematical Physical and Engineering Sciences. Forests, carbon and global climate.** V.360, n.1797, p. 1567-1591, 2002.

MARTINS, M. V. **Leguminosas arbustivas e arbóreas de fragmentos florestais remanescentes no noroeste paulista. Taxonomia Vegetal.** Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências de Botucatu/UNESP. 173p., 2009.

MCCUE, K.F., HANSON, A.D. **Drought and salt tolerance: towards understanding and application.** TibTech. 8, p.358–362, 1990.

MELO, M.G.G.; MENDES, A.M.S. **Jatobá (*Hymenaea courbaril*) L.** Informativo Técnico. Rede de Sementes da Amazônia, n.9. 2p., 2006.

MORAES, M.L.T.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. **Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*.** Scientia Forestalis. n.74, p.75-86, 2007.

MWANAMWENGE, J., LOSS, S. P., SIDDIQUE, K. H. M., P. S. COCKS. **Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.)**. *Europ. J. Agronomy*, 11, p.1–11. 1999.

NAPPO, M. E.; NAPPO, A. E.; PAIVA, H. N. **Zoneamento ecológico de pequena escala para nove espécies arbóreas de interesse florestal no Estado de Minas Gerais**. *Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal*. Periodicidade Semestral. 5ª Ed.14p., 2005.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. 15.ed. SP: IBRASA. 279p., 1997.

PHILLIPS, O.L.; MALHI, Y.; VINCETI, B.; BAKER, T.; LEWIS, S.L.; HIGUCHI, N.; LAURANCE, W.F.; VARGAS, P.N.; MARTINEZ, R.V.; LAURANCE, S.; FERREIRA, L.V.; STERN, M.; BROWN, S.; GRACE. J. **Changes in growth of tropical forests: Evaluating potential biases**. *Ecological Applications*. v. 12, n. 2, p. 576-587, 2002.

RIZZINI, C. T. **Plantas do Brasil: árvores e madeiras úteis do Brasil. Manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: Edgard Blucher. 294p., 1971.

ROCHA, M. R., BORGES, J. D., NAVES, R. V., VIDAL, V. L. **Estudos sobre a emergência de plântulas de jatobá do cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.; *Caesalpinaceae*)**. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 14, n. 1, p. 61-64, 1992.

SILVA, J. A., SILVA, D. B., JUNQUEIRA, N. T. V., ANDRADE, L. R. M. **Frutas nativas dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 165p., 1995.

SOUZA, J. G.; BARREIRO NETO, M; SILVA, J. B. V.; GILES, J. A. **Estudos de parâmetros fisiológicos para a resistência ao algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) à seca**. Embrapa – Algodão, 20p. (Embrapa – Algodão. Documentos, 16), 1982.

TAIZ, L.; ZEIGER E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Editora Artemed. 719p., 2004.

WARING, R. H., LANDSBERG, J. J. **Generalizing plant–water relations to landscapes**. *Journal of Plant Ecology*. v 4, n 1–2, p.101–113, 2011.

CAPÍTULO I

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS JOVENS DE *Hymenaea courbaril* L.
E *Hymenaea stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E
REIDRATAÇÃO**

Resumo – O objetivo do trabalho foi investigar os efeitos da deficiência hídrica e reidratação nos aspectos fisiológicos em plantas jovens de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. As medições dos parâmetros fisiológicos foram realizadas no início do experimento, 13 e 26 dias após a suspensão hídrica. Nesse último momento as plantas foram reidratadas por dois e quatro dias. A *H. courbaril* reduziu sua transpiração, fotossíntese, condutância estomática, potencial hídrico e conteúdo relativo de água após 26 dias em 93.8, 93.5, 87.0, 52.5 e 52.8%, respectivamente em relação ao status hídrico inicial. Enquanto que no mesmo período a *H. stigonocarpa* apresentou redução da transpiração, fotossíntese, condutância estomática, potencial hídrico e conteúdo relativo de até 60.9, 31.3, 60.2, 135 e 25%, respectivamente. Ambas as espécies após quatro dias de reidratação conseguiram recuperar a maioria de suas características fisiológicas, com exceção do conteúdo relativo de água para ambas e da fotossíntese para a espécie *H. courbaril*. Portanto a *H. stigonocarpa* apresenta maior adaptabilidade às condições de estudo, o que a torna mais potencialmente recomendada para ambientes com restrições hídricas, apesar da *H. courbaril* apresentar alta plasticidade a esse ambiente.

Termos para indexação: *Hymenaea courbaril*, *H. stigonocarpa*, trocas gasosas; potencial hídrico, tolerância à seca.

CHAPTER 1

ANSWERS ECOPHYSIOLOGY OF SEEDLINGS OF *Hymenaea courbaril* L. AND *Hymenaea stigonocarpa* Mart. SUBMITTED TO WATER STRESS AND REHYDRATION.

Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of water stress and rehydration on physiological aspects in young plants of *H. courbaril* and *H. stigonocarpa*. Measurements of physiological parameters were measured at the beginning of the experiment, 13 and 26 days after the suspension fluid. In this last moment rehydrate the plants were two and four days. *H. courbaril* reduced their transpiration, photosynthesis, stomatal conductance, water potential and relative water content after 26 days 93.8, 93.5, 87.0, 52.5 and 52.8% respectively compared to the initial water status. While in the same period, *H. stigonocarpa* decreased transpiration, photosynthesis, stomatal conductance, water potential and relative content of up to 60.9, 31.3, 60.2, 135 and 25%, respectively. Both species after four days of rehydration were able to recover most of their physiological characteristics, except for the relative water content for both photosynthesis and for the species *H. courbaril*. Therefore, *H. stigonocarpa* provides greater adaptability to the conditions of study, making it potentially more recommended for environments with water restrictions, despite *H. courbaril* show high plasticity in this environment.

Index terms: *Hymenaea courbaril*, *H. stigonocarpa*, gas exchange, water potential, tolerance to drought.

INTRODUÇÃO

De modo geral, o reflorestamento na região Amazônica se dá por meio do plantio de mudas de espécies nativas, sendo realizado preferencialmente nas épocas do ano de ótima disponibilidade hídrica (Carvalho Filho et al., 2003). Mas, alternativamente, o plantio de mudas pode ocorrer em meses mais secos do ano, ou naqueles sujeitos a períodos de veranico. Nesse caso, a evapotranspiração geralmente excede as médias das precipitações, caracterizando uma condição de deficiência hídrica limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas (Silva & Casali, 2000). Entre as espécies nativas, que vem sendo utilizadas no reflorestamento da região Amazônica e servindo como estudos para diversas áreas, estão às espécies *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa*.

Mas para o estabelecimento de um plantio de qualquer espécie é necessário evitar que as plantas sejam submetidas a estresses ambientais como altas temperaturas, salinidade, anoxia, congelamento, choque térmico, desnutrição, herbivoria e a baixa ocorrência de chuvas, principalmente no estágio inicial do desenvolvimento das plantas, pois esses estresses podem levá-las a morte antes de alcançarem a fase adulta.

De todos os recursos que a planta necessita para o seu desenvolvimento, a água é o mais abundante e, ao mesmo tempo, o mais limitante para a produtividade agrícola e florestal. Além disso, também limita a produtividade de ecossistemas naturais, pois à medida que o solo seca, torna-se mais difícil às plantas absorverem água, porque aumenta a força de retenção e diminui a disponibilidade de água no solo às plantas (Bergamaschi, 1992).

As plantas possuem três mecanismos que podem resistir ao estresse hídrico: (1) redução da perda de água através de controle estomático e alterações morfológicas; (2) aumento na extração de água do solo e; (3) aumento da capacidade de tolerar baixo potencial hídrico (Nilsen & Orcutt, 1996) onde o fechamento estomático é devido diretamente à baixa pressão de turgor nas células guardas (Maroco et al., 1997), resultante da produção de ácido abscísico (ABA) pela raiz (Fort et al., 1997) em resposta a deficiência hídrica, ou pode ser influenciado também pela radiação solar, concentração de CO₂ na atmosfera e a temperatura do ar (Machado et al., 2002). Além de a condutância estomática diminuir com o fechamento dos poros estomáticos a velocidade da transpiração também é reduzida (Lawlor, 2002), restringindo a entrada de CO₂ nas folhas que resulta na inibição ou diminuição da atividade fotossintética (Chaves et al., 2002).

Para conhecer o grau de adaptação das espécies à deficiência hídrica, medições do potencial hídrico foliar vêm sendo utilizadas para fornecer informações que permitam identificar o *status* hídrico em que se encontram as plantas. Para a maioria das espécies, o potencial hídrico acompanha as variações diurnas da demanda evaporativa da atmosfera, atingindo um valor máximo logo antes do amanhecer. Nesse momento, as plantas são encontradas com a máxima turgescência possível para uma dada condição hídrica no solo (Kramer & Boyer, 1995.). Dessa forma, o potencial hídrico antemanhã ($\Psi_{w_{am}}$), tem sido considerado um indicativo do estado hídrico das plantas (Ngugi, 2004), bem como da quantidade de água disponível no solo (Taiz & Zeiger, 2004).

Assim, a irreversibilidade das alterações comportamentais das plantas durante o estresse hídrico vai depender do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento da planta. A reversibilidade pode ocorrer devido à capacidade elástica dos organismos para suportarem tensões, retornando à condição normal após a interrupção do estresse. Mas, após níveis intensos pode surgir uma tensão plástica e, nesse caso, as alterações provocadas são inflexíveis, causando danos que podem levar à planta a morte (Silva, 2003). Assim, a eficiência no uso da água por uma planta pode ser entendida como eficiente mecanismo de evolução adaptativa através do qual esta adquire maior elasticidade para enfrentar possíveis déficits hídricos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi investigar as respostas ecofisiológicas de duas espécies florestais submetidas a déficit hídrico e reidratação.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e condução experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém/PA, entre os meses de março a setembro de 2011. Cento e cinquenta mudas das espécies *Hymenaea courbaril* e *H. stigonocarpa*, com um mês de idade, foram adquiridas no viveiro da Associação das Indústrias Madeireiras do Estado do Pará (AIMEX), localizada no município de Benevides/PA. As espécies foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 18 kg de Latossolo Amarelo de textura média, previamente peneirada para retirada das impurezas. A correção do solo foi realizada dois meses antes do transplante com 1,8 g de calcário dolomítico por vaso e o teor de macronutrientes e micronutrientes foram corrigido pela aplicação de 5:7,5:10 g de NPK e 0,135 g de FTE BR12 por vaso de acordo com a

necessidade da planta a partir dos teores apresentados pela análise química e granulométrica do solo realizada pela EMBRAPA Amazônia Oriental (Anexo I).

As plantas foram irrigadas, até a capacidade de campo, em dias alternados. Essas foram mantidas em ambiente com iluminação natural com média de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de $1130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, atingindo temperaturas diurna de 23 a 37 °C com umidade relativa do ar entre 60,5 a 80%.

Após a aclimação, cinquenta mudas de cada espécie foram selecionadas aleatoriamente para compor os cinco grupos experimentais: E0) zero dia, início do experimento (plantas sem estresse hídrico); E13) 13 dias (plantas com 13 dias de estresse) e E26) 26 dias (plantas com 26 dias de estresse), em que a partir desse momento outros dois grupos que estavam em estresse (durante 26 dias) foram reidratados por dois (RD2) e quatro dias (RD4). Cada grupo continha duas espécies com cinco repetições, ambos submetidos a dois tratamentos: plantas induzidas ao estresse e; plantas periodicamente irrigadas, totalizando 100 unidades experimentais. Os grupos de plantas são independentes um do outro e destrutivo a cada avaliação.

As respostas ao déficit hídrico foram avaliadas nos dias 0, 13 e 26, e as respostas a reidratação foram avaliadas no 2º e 4º dia após os 26 dias de estresse, conforme os seguintes métodos:

Potencial hídrico antemanhã ($\Psi_{w_{am}}$) e Conteúdo relativo de água (CRA)

O potencial hídrico foi determinado na antemanhã ($\Psi_{w_{am}}$), entre 4:30 às 5:30 h através de uma bomba de pressão do tipo *Scholander* (mod. Pms Instrument Co., Corvallis, USA). A análise foi realizada imediatamente após o corte do terceiro ou quarto par de folíolos totalmente expandidos, a qual foram colocados na câmara onde foi, em seguida, aplicada uma pressão até ocorrer a exsudação pelo corte feito no pecíolo da folha (Turner 1981). Para a análise do conteúdo relativo de água na folha foi retirado 10 discos foliares (10 mm de diâmetro) de cada planta, ao acaso, determinando-se imediatamente a massa dos mesmos (MF_1) em balança analítica, no horário de 9:00 às 10:00 h da manhã. Em seguida, os discos foram transferidos para placas de petri, contendo 35 mL de água destilada e deixadas em bancada (25°C) por um período de 48 horas. Após colocar os discos em papel de filtro para retirar o excesso de água, os mesmos foram pesados para determinar a massa túrgida (MF_2). Depois foram colocados em saco de papel e levados a estufa com temperatura entre 65 a 70 °C por 48 h e posteriormente foi determinada a massa seca dos discos (MS) (Slavick, 1979). O cálculo utilizado para quantificar o conteúdo relativo de água foi:

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

Trocas gasosas

As taxas de assimilação líquida do carbono (A), condutância dos estômatos ao vapor d'água (g_s), transpiração (E), temperatura foliar (T_f), concentração de CO_2 no ar e na folha ($364\text{-}228 \mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente) e fluxo de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foram determinados por meio de um analisador de gases a infravermelho (mod. LCI 6400, Hoddesdon, UK). As medições foram determinadas pela manhã das 09:00 às 10:00 h. As trocas gasosas foram medidas quando a densidade do fluxo de fótons fotossintéticos foi superior a $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A média do déficit de pressão de vapor entre o ar e a folha nos dias em que as medições foram feitas variaram de $2,6 - 3,7 \text{ kPa}$ e a temperatura média foliar de $34 \text{ a } 39 \text{ }^\circ\text{C}$. As medições foram realizadas em folhas expandidas do terceiro ou quarto par a partir do ápice.

Análise de dados

A análise de variância entre os fatores foi realizada utilizando-se o GLM do Software estatístico MINITAB 14 (2004) e ASSISTAT 7.6 (2011), enquanto as diferenças entre as médias foram segregadas com testes múltiplos de Tukey. As análises de regressão nas variáveis analisadas foram realizadas por meio do programa estatístico MINITAB 14.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho estudou os parâmetros ecofisiológicos: relações hídricas, condutância estomática, transpiração e assimilação de dióxido de carbono pelas folhas. Fez-se comparação dos parâmetros estudados entre as espécies ao longo do tempo de estresse. Os resultados mostraram diversas associações entre as espécies e características fisiológicas que poderão ser úteis quando da implantação das espécies no local definitivo.

O $\Psi_{w_{am}}$ das plantas decresce significativamente ($p \leq 0.05$) com o tempo de estresse hídrico em ambas as espécies, mas a *H. courbaril* foi mais severamente afetada pelo estresse com valor de -2.5 MPa decorridos 26 dias da suspensão hídrica comparada com o valor $-0,94 \text{ MPa}$ apresentado pela *H. stigonocarpa*. A diminuição do potencial hídrico é devido ao aumento da tensão nos vasos xilemáticos, quanto mais negativo o Ψ_w maior está sendo a

força necessária para que a planta absorva do solo a água a ser transportada a parte aérea. Esse transporte pode ser prejudicado dependendo do grau de severidade da deficiência hídrica, porém em *H. courbail* e *H. stigonocarpa* o transporte após o estresse não foi completamente prejudicado, pois quando reidratadas as espécies recuperaram seu potencial inicial que se encontrava entre -0.35 à -0.45 MPa (Anexo II), no entanto somente a *H. stigonocarpa* foi recuperada integralmente decorrido apenas 48h (RD2) após a reirrigação, ao contrário da outra espécie que levou 96h (Figura 1).

Fu et al. (2010) demonstrou evento similar em plantas de *Populus euphratica* e *P. Russkii* atribuindo as diferentes características de absorção de água a distribuição de raízes, em que a *P. euphratica* pode absorver água mais fortemente em uma maior profundidade que a *P. russkii*.

Por outro lado, Batista et al. (2010) estudando cultivares de café constataram que algumas cultivares, como Bourbon amarelo e Catimor, eram mais tolerantes em comparação a outras em até 1,7 vezes, fato atribuído aos maiores resultados de espessura do parênquima paliçádico. Possivelmente essas plantas, com maior desenvolvimento desse tecido, permitem uma maior eficiência na fixação de CO₂ pelo aumento da densidade estomática, e conseqüentemente maior condutância (Castro et al., 2009).

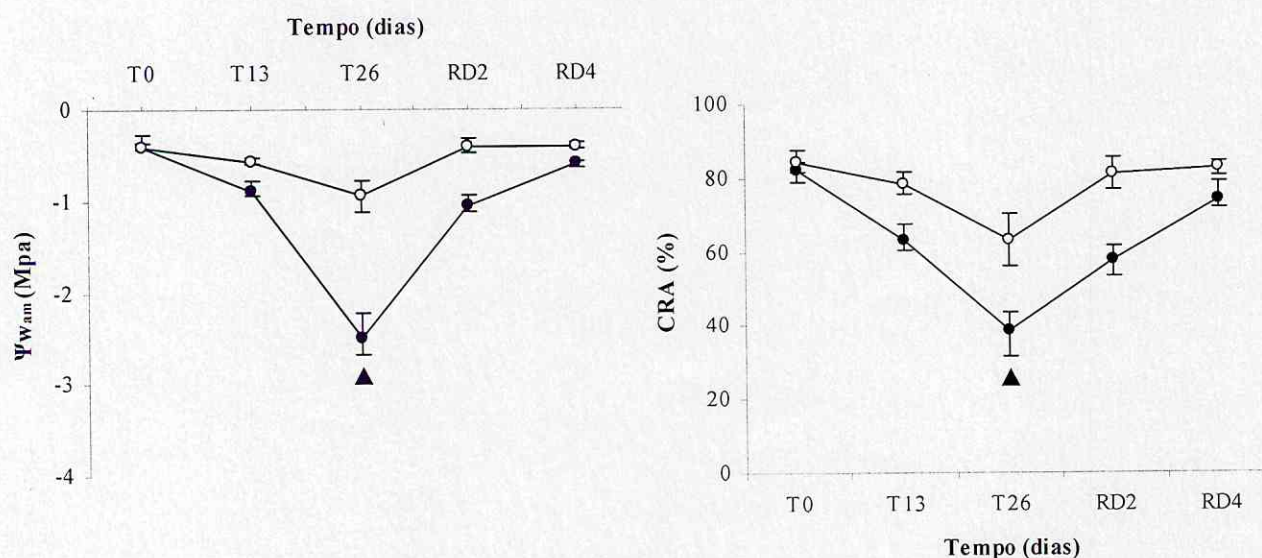


Figura 1. Potencial hídrico antemanhã ($\Psi_{w_{am}}$) e conteúdo relativo de água (CRA) em *H. courbaril* (●) e *H. stigonocarpa* (○). Plantas não estressadas (T0), plantas estressadas por 13 dias (T13), 26 dias (T26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Momento da reidratação (▲). As barras mostram o erro padrão.

Assim como no $\Psi_{w_{am}}$ o CRA de todas as plantas teve ampla variação do conteúdo de água da *H. courbaril* em todas as avaliações de déficit, variando de 82 a 38%, em que apesar da amenização do estresse, esta não conseguiu se recuperar significativamente em relação ao seu CRA inicial (Figura 1). Embora uma menor perda, 60% do conteúdo de água em relação a 82% da outra espécie, a *H. stigonocarpa* se comportou de forma similar. Vale ressaltar que a recuperação do conteúdo de água foi readquirida quando as plantas dessa espécie foram reidratadas, embora ela não seja significativa ($p \leq 0,05$) (Anexo II).

Outro efeito do déficit hídrico de grande evidência foi o g_s em que os tempos de estresses e de reidratação afetaram significativamente sem distinção das espécies. A variação da g_s ocorreu de $201 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a um valor extremamente baixo de $26 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no 26º dia de estresse na espécie *H. courbaril* (Figura 2), o que representa uma redução de 3-4 vezes maior quando comparada a *H. stigonocarpa*, apesar dela no início apresentar menor condutância (Anexo 2), permitindo maior g_s em *H. stigonocarpa* e uma maior eficiência na atividade fotossintética nas condições estudadas (Figura 5).

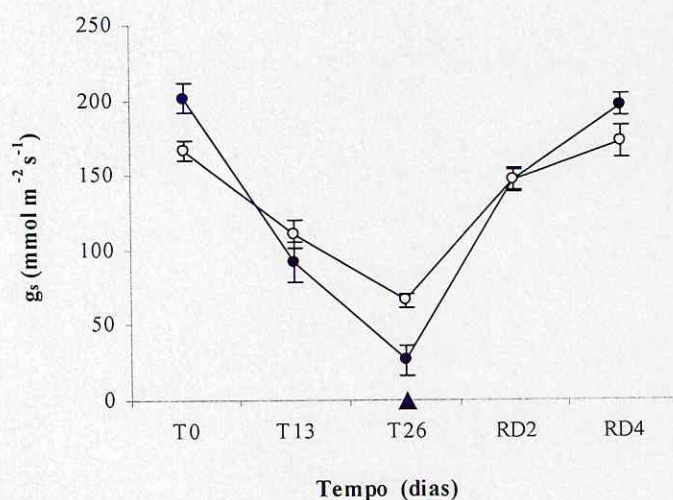


Figura 2. Condutância estomática (g_s) em *H. courbaril* (●) e *H. stigonocarpa* (○). Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Momento da reidratação (▲). As barras mostram o erro padrão.

Assim como o potencial hídrico influencia diretamente na condutância (Figura 4), esta também influencia o potencial hídrico, pois na tentativa de economizar água a espécie *H. courbaril*

em relação a *H. stigonocarpa* requereu um regulamento mais apertado do fechamento estomático (Figura 3), talvez por ser uma espécie, quase que exclusivamente, de cerrado. Por isso, Hacke et al. (2000) propôs que plantas de climas áridos manteriam margens de segurança maiores que plantas de habitat úmido, e que isto beneficia a sobrevivência durante períodos de seca. Por outro lado, Martínez-Vilalta et al. (2002) ao obterem resultados semelhantes com arbusto do Mediterrâneo, ligaram as largas ou estreitas margens de segurança na eficiência da condução de água a características históricas, como as filogenéticas e biogeográficas.

Resultados como esses também foram encontrados em mudas de *Eucalyptus citriodora* e *E. grandis* que, quando se encontravam em solos com apenas 20% de água tiveram sua g_s reduzida a valores de $21 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Silva, 1998). Para Racke et al. (2000) o fechamento estomático além de reduzir a perda de águas, através da transpiração, previne a cavitação do xilema, diminuindo a tensão no vaso.

O decréscimo na fotossíntese foi demonstrado após a supressão da irrigação no 13º dia chegando ao extremo no 26º em que quase não havia mais produção de fotoassimilados. Esse evento teve maior intensidade na espécie que teve menores valores de $\Psi_{w_{am}}$ (Figura 1) e condutância estomática (Figura 3) representada pela *H. courbaril*. Por outro lado, a *H. stigonocarpa* também apresentou mudanças no comportamento fotossintético, mas os resultados mostraram uma rápida recuperação após a reidratação. Os valores da fotossíntese da espécie *H. stigonocarpa*, em condições de deficiência hídrica, foi muito superior àqueles encontrados na espécie *H. courbaril* na mesma condição hídrica (Figura 3).

A espécie *H. courbaril* teve sua fotossíntese diminuída em até seis vezes a mais que a redução ocorrida em *H. stigonocarpa* (Anexo II). Este fato se deve a uma conservação maior do conteúdo relativo de água (Figura 1) pela espécie *H. stigonocarpa*, evidenciada pela maior abertura estomática (Figura 3), resultando na entrada de CO_2 que favorece a manutenção da concentração de CO_2 intercelular utilizado na fase bioquímica da fotossíntese (Lawlor, 2002). Plantas de *C. guianensis*, submetidas à deficiência hídrica durante 21 dias tiveram valores baixos de fotossíntese em até $0.4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, valor aproximado encontrado em *H. courbaril* (Gonçalves et al., 2009). Esses autores, assim como Costa & Marengo (2007) associaram esses resultados ao grau de modificação da condutância estomática, bem como nas mudanças do nível de água no solo.

Trabalhos similares a este com espécies de habitat diferentes também foram investigados por Ngugi (2004) que ao buscar as respostas fisiológicas ao estresse hídrico em mudas de *Eucalyptus argophloia*, procedentes de ambiente seco, *E. cloeziana*, provenientes de ambientes sub-úmidos e úmidos, comprovou que a *E. argophloia* manteve maior A e g_s , como a *H. stigonocarpa*, em todos os níveis de estresse que qualquer procedência de *E. cloeziana*, as quais não apresentaram diferenças significativas entre si. Para o autor o aumento da g_s em *E. argophloia* pode estar relacionada a sua maior média da densidade estomática e comprimento total das células guardas por unidade de área.

Conseqüentemente, diante da deficiência hídrica e fechamento estomático, a transpiração também foi afetada. As espécies em estudo sofreram reduções a partir do E13, atingindo posteriormente, no E26, valores extremamente baixos e significativamente

diferentes do tempo E0 e E13 (Figura 2). Com os valores observados pode-se afirmar que na *H. stigonocarpa* a redução da transpiração foi menor, contrastando com a *H. courbaril* cuja média no tempo de maior estresse foi de $0.3 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, que aliado ao baixo potencial hídrico não as tornou impossibilitadas de recuperar sua atividade de transpiração inicial quando reirrigadas (Figura 3).

Em plantas de *Khaya senegalensis*, com procedência de sanavas e *K. Ivorensis*, de floresta, Okali & Gladys Doodoo (1973) em seus estudos obtiveram dados que indicaram que em ambas as espécies a transpiração também diminuiu com a intensidade do estresse hídrico, e que embora a transpiração tenha sido superior na *K. senegalensis* do que em *K. ivorensis* quando o solo se encontrava na capacidade de campo, com o estresse a transpiração de *K. ivorensis* foi superior à de *K. Senegalensis*, demonstrando alta similaridade com os resultados encontrados nesse estudo (Figura 3). Esta relação foi observada também por Fu et al. (2010), quando estudava plantas de *P. euphratica* e *P. Russkii* na qual os resultados refletiram as condições de déficit de água ao fechamento estomático e a baixa transpiração foliar.

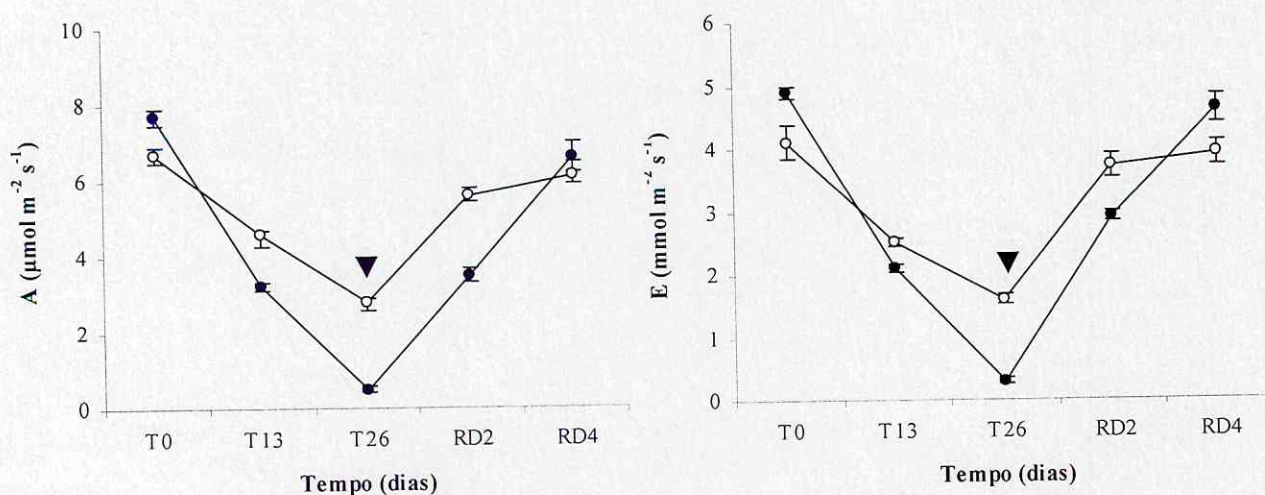


Figura 3. Fotossíntese (A) e transpiração (E) em *H. courbaril* (●) e *H. stigonocarpa* (○). Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Momento da reidratação (▲). As barras mostram o erro padrão.

A *H. courbaril* reduziu sua transpiração em até 93%, enquanto a *H. stigonocarpa* em 60% após 26 dias de estresse (Anexo II). Os resultados para *H. courbaril* corroboram com os resultados obtidos anteriormente pelos autores Gonçalves et al. (2009) em que após 21 dias de supressão hídrica as plantas de *Carapa guianensis* reduziram em 89% sua transpiração. Enquanto que as respostas da *H. stigonocarpa* são coerentes com os resultados encontrados

por Liberato et al. (2006) que ao estudarem plantas de *Mimiquartia guianensis* observou redução em apenas 50% da transpiração em 25 dias de estresse.

Como consequência da redução da taxa de transpiração, condutância estomática ocasionadas pela elevada diminuição do potencial hídrico (Figura 4) e conteúdo relativo de água nas folhas, as taxas da atividade fotossintética líquida (A) foi severamente afetada em ambas as espécies, com agravante para espécie *H. courbaril*, expressando valores próximos a zero quando se encontrava com deficiência hídrica de vinte e seis dias (Figura 1). A diminuição da fotossíntese em função do potencial hídrico (Figura 4) tem sido relatada por diversos autores (Keenan, 2010; Costa & Marengo, 2007; Bell, 2007; Gonçalves et al., 2009).

As análises de regressão mostraram que as variáveis de trocas gasosas diminuem com a diminuição do potencial hídrico (Figura 4). Isso se deve a influência do potencial hídrico sobre a A, g_s e E em que foi relativamente intensa para a *H. stigonocarpa* que, apesar do estresse, se manteve com valores superiores em relação à espécie *H. courbaril*, cujos valores extremamente negativos, observados no 26º dia, proporcionaram um elevado decréscimo na fotossíntese líquida condutância estomática e na transpiração demonstrados pela maior inclinação nas linhas de regressão (Figura 4).

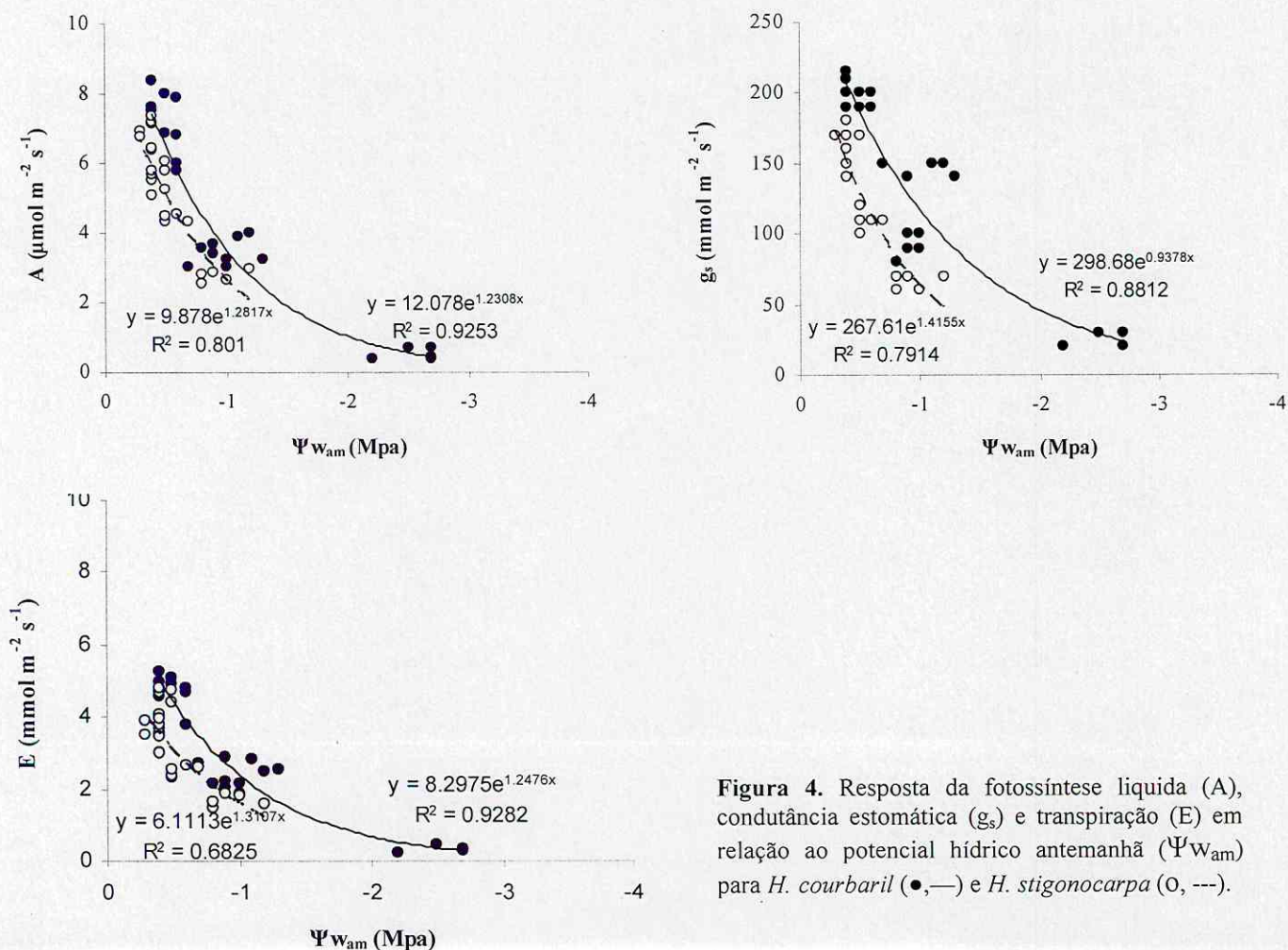


Figura 4. Resposta da fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) em relação ao potencial hídrico antemanhã (Ψ_{wam}) para *H. courbaril* (●, —) e *H. stigonocarpa* (○, ---).

A análise de regressão entre as variáveis A, g_s e E tiveram relação linear positiva. Foi observado que quanto maior a condutância estomática maior a transpiração e fotossíntese, relação similar observada pelas outras duas, em que à medida que a planta aumentava sua transpiração à taxa de fotossíntese se elevava (Figura 5).

A complexidade da estrutura dos tecidos para uma lenta perda de água controlada parcialmente por vários dias, é caracterizada através de grandes mudanças na expressão de genes (Bartels et al., 1990, 1992) e pela acumulação de SUC (proteínas transportadora de sacarose) e outros solutos (Bianchi et al., 1991, 1992), com finalidade de proteger as

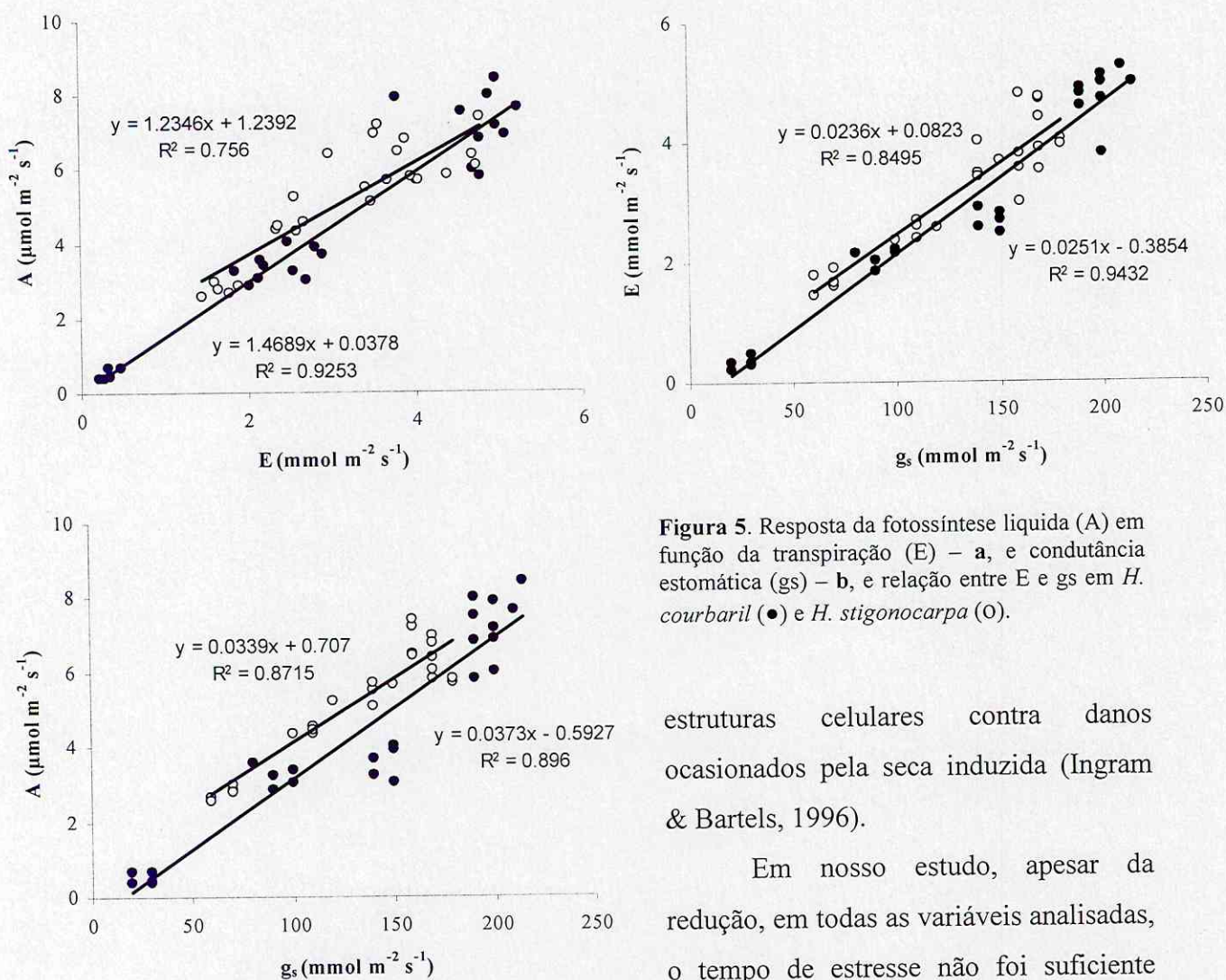


Figura 5. Resposta da fotossíntese líquida (A) em função da transpiração (E) – a, e condutância estomática (g_s) – b, e relação entre E e g_s em *H. courbaril* (●) e *H. stigonocarpa* (○).

estruturas celulares contra danos ocasionados pela seca induzida (Ingram & Bartels, 1996).

Em nosso estudo, apesar da redução, em todas as variáveis analisadas, o tempo de estresse não foi suficiente para a irreversibilidade fisiológica, embora a espécie *H. courbaril* tenha sido profundamente afetada, demonstrando uma alta plasticidade. As mudas dessa espécie conseguiram recuperar de forma significativa a E, g_s e

$\Psi_{w_{am}}$ somente após decorrido quatro dias de reidratação. A fotossíntese e o CRA não foram recuperados significativamente, mas apresentaram valores próximos ao inicial (Anexo II). Plantas jovens de *C. guianensis* recuperam as trocas gasosas em quatro dias, com exceção para a taxa de A e potencial hídrico que foram recuperados somente após oito dias de reidratação (Gonçalves, 2009). Período de recuperação ainda maior foi encontrado por Ngugi (2004) em mudas de *E. argophloia* que no prazo de dez dias recuperou seu $\Psi_{w_{am}}$ e trocas gasosas, enquanto que a *E. cloeziana* teve um prazo maior que duas semanas, devido a maioria das folhas apresentar necroses durante a recuperação, favorecendo a queda de folhas.

Por outro lado, *H. stigonocarpa*, dentro de dois dias de reidratação, conseguiu recuperar seu potencial hídrico e sua transpiração (Figura 1 e 3), e com quatro dias retomou sua gs e A (Figura 2 e 3). Resultados semelhantes a essa rápida recuperação foram evidenciados em plantas de *Stryphnodendron adstringens*, que obteve após 48h total recuperação (Rocha & Moraes, 1997).

CONCLUSÕES

A *H. courbaril* é mais suscetível ao estresse hídrico quando comparada a *H. stigonocarpa* no período de 26 dias.

Ambas as espécies recuperam a maioria dos parâmetros fisiológicos analisados após a reidratação, apesar da *H. stigonocarpa* apresentar maior rapidez em sua recuperação.

Esses resultados evidenciam uma maior resistência da *H. stigonocarpa* a ambientes sujeitos ao estresse hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, L. A.; GUIMARÃES, R. J.; PEREIRA, F. J.; CARVALHO, G. R.; CASTRO, E. M. de. **Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico**. Revista Ciencia Agronomica, v. 41, n. 3, p. 475-481, 2010
- BARTELS D, HANKE C, SCHNEIDER K, MICHEL D, SALAMINI F. **A desiccation-related Elip-like gene from the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* is regulated by light and ABA**. EMBOJ 11: 2771-2778. 1992.

- BARTELS D, SCHNEIDER K, TERSTAPPEN G, PIATKOWSKI D, SALAMINI F. **Molecular cloning and abscisic acid modulated genes which are induced during desiccation of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum***. Tree 187: 27-34, 1990
- BELL, L. W., WILLIAMS, A. H., RYAN, M. H., EWING, M. A. **Water relations and adaptations to increasing water deficit in three perennial legumes, *Medicago sativa*, *Dorycnium hirsutum* and *Dorycnium rectum***. Plant Soil. 290:231-243, 2007.
- BERGAMASCHI H. **Desenvolvimento de déficit hídrico em culturas. Agrometeorologia aplicada à irrigação**. Porto Alegre: UFRGS, Ed. Universidade. p.25-32. Botany, v.69, p.1-109, 1992.
- BIANCHI G, GAMBA A, MURELLI C, SALAMINI F, BARTELS D. **Low molecular weight solutes in desiccated and ABA-treated calli and leaves of *Craterostigma plantagineum***. Phytochemistry 31: 1917-1922, 1992.
- BIANCHI G, GAMBA A, MURELLI C, SALAMINI F, BARTELS D. **Nove carbohydrate metabolism in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum***. Journal Plant 1: 355-359, 1991.
- CARVALHO FILHO, J. L. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK, A. F.; RANGEL, M. S. A. **Produção de mudas de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composição de substratos**. Cerne, v. 9, n. 1, p. 109-118, 2003.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa-CNPq, Brasília: EMBRAPA SPI. 640p., 1994.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: Estrutura e Função de Órgãos Vegetativos**. Lavras: UFLA, 234p., 2009.
- CHAVES, M.M., PEREIRA, J.S.; MAROCO, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSORIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. **How plants cope with water stress in the Field. Photosynthesis and growth**. Annals of Botanic, London, v. 89, p.907-916, 2002.

- COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. **Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*).** Acta Amazônica. v.37(2): 229 – 234, 2007
- FU A H, CHEN Y N, LI W H. **Analysis on the change of water potential of *Populus euphratica* Oliv. and *P. Russkii* Jabl under different irrigation volumes in temperate desert zone.** Chinese Sci Bull 55: 965–972, 2010
- FORT, C., FAUVEAU, M.L., MULLER, F., LABEL, P., GRANIER, A., DREYER, E. **Stomatal conductance, growth and root signalling in young oak seedlings subjected to partial soil drying.** Tree Physiol 17:281–289, 1997.
- GONÇALVES, J. F. DE C., SILVA, C. E. M. DA; GUIMARÃES, P. D. G. **Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.44, n.1, p.8-14, 2009.
- HACKE U.G., SPERRY J.S., PITTERMAN J. **Drought experience and cavitation resistance in six shrubs from the Great Basin, Utah.** Basic and Applied Ecology 1, p.31-41, 2000.
- INGRAM J, BARTELS D. **Molecular basis of dehydration tolerance in plants.** Annual Rev Plant Physiol Plant Mo1 Biol 47: 377-403, 1996.
- KEENAN, T., SABATE, S., GRACIA, C. **Soil water stress and coupled photosynthesis–conductance models: bridging the gap between conflicting reports on the relative roles of stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis.** Agricultural and forest meteorology 150. p. 443–453, 2010.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plant and soils.** Academic Press, New York. 495p., 1995
- LAWLOR, D.W. **Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP.** Annals of Botany, v.89, p.871-885, 2002.
- LEE, Y.T.; LANGENHEIM, J.H. **A systematic revision of the genus *Hymenaea* (Leguminosae; Caesalpinioideae; Detarieae).** University of California Publications in Botany, v.69, p.1-109, 1975.

- LIBERATO, M.A.R.; GONÇALVES, J.F.C.; CHEVREUIL, L.R.; NINA JUNIOR, A.R.; FERNANDES, A.V.; SANTOS JUNIOR, 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, p.315-323, 2006.
- MACHADO, C.E.; MEDINA, C.L.; GOMES, M.M.A. et. **Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranjeira Valência.** Scientia Agricola, v.59, n.1, p.53-58, 2002.
- MAROCO, J. P., PEREIRA, J. S., M. M. CHAVES. **Stomatal responses of leaf-to-air vapour pressure deficit in Sahelian species.** Aust. J. Plant Physiol., 24, 381–387, 1997.
- MARTIN, C.E.; LIN, K.C.; HSU, C.C.; CHIOU, W.C. **Causes and consequences of high osmotic potentials in epiphytic higher plants.** Journal of Plant Physiology, 161:1119-1124, 2004.
- MARTÍNEZ-VILALTA J, PRAT E, OLIVERAS I, PINÖL J. **Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species.** Oecologia 133, p.19-29, 2002
- NGUGI, M. R., Doley, D., Hunt, M. A., RYAN, P., Dart, P. **Physiological responses to water stress in *Eucalyptus cloeziana* and *E. argophloia* seedlings.** Trees (2004) 18:381–389, 2004.
- NILSEN, E.T., ORCUTT, D.M. **The physiology of plants under stress: abiotic factors.** Nova Odessa: Plantarum, 381p., 1998.
- OKALI, D. U. U., GLADYS DODOO. **Seedling growth and transpiration of two West African mahogany species in relation to water stress in the root medium.** Journal of Ecology, Vol. 61, n. 2, p. 421-438, 1973.
- ROCHA, A. M. DOS S., MORAES, J. A. P. V. **Influência do estresse hídrico sobre as Trocas gasosas em plantas jovens envasadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville.** Revista Brasileira de Fisiologia vegetal, 9(1), p.41-46, 1997
- SILVA, W.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A. S.; FERREIRA, F. A. **Condutância estomática de *Eucalyptus citriodora* e *E. grandis*, em resposta a diferentes níveis de água no solo e de convivência com *Brachiaria brizantha* stapf.** Bragantia vol. 57 n. 2. 12p., 1998.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas aromáticas e medicinais: Pós colheita e óleos essenciais**. Arte e livros: Minas Gerais. 135p., 2000.

SILVA, M. R. **Efeitos do manejo hídrico e da aplicação de potássio na qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis* W. (Hill ex. Maiden)**. Tese (Doutorado em Agronomia - Irrigação e Drenagem) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Biblioteca Athena. 100p., 2003.

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

TAIZ, L.; ZEIGER E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Artemed. 719p., 2004.

TIGRE, C. B. **Estudos de silvicultura especializada do nordeste**. ESAM. 180p., 1976.

TURNER, N.C. **Further progress in crop water relations**. In *Advances in agronomy*. Academic Press. p.293-337. 1997.

TURNER, N.C. **Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status**. *Plant and Soil*, v.58, p.339-366, 1981.

ANEXOS

Anexo I. Propriedades química e físicas do solo na profundidade de 0-20 cm.

ANÁLISE QUÍMICA							
pH	N	MO	P	K	Na	Ca	
H ₂ O	%	g/kg		mg/dm ³			
5,0	0.17	11.08	1	33	14	0.8	
Ca+Mg	Al	Cu	Mn	Fe	Zn		
cmolC/dm ³		mg/kg					
1.2	0.8	1.4	2.5	171.5	2.5		
ANÁLISE GRANULOMÉTRICA							
Aréia grossa		Areia fina		Silte	Argila total		
		g/kg					
392		380		108	120		

Anexo II. Potencial hídrico antemanhã ($\Psi_{w_{am}}$), conteúdo relativo de água (CRA), condutância estomática (g_s), fotossíntese líquida (A) e transpiração (E) para as espécies *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. Plantas com 100% de capacidade de campo (E0), plantas estressadas com 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas com 2 dias (RD2) e 4 dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($P \leq 0.05$). Letras minúsculas comparam valores entre as linhas, enquanto que as maiúsculas comparam entre as colunas.

Genótipo	Variável	E0	E13	E26	RD2	RD4
<i>H. courbaril</i>	$\Psi_{w_{am}}$ (Mpa)	-0.4 ± 0.02 aA	-0.90 ± 0.03 bB	-2.50 ± 0.09 bC	-1.04 ± 0.10 bB	-0.60 ± 0.02 bA
<i>H. stigonocarpa</i>		-0.4 ± 0.03 aA	-0.56 ± 0.04 aA	-0.94 ± 0.07 aB	-0.40 ± 0.01 aA	-0.40 ± 0.03 aA
<i>H. courbaril</i>	CRA (%)	82.0 ± 0.20 bA	63.20 ± 0.44 bC	38.70 ± 0.51 bE	57.40 ± 0.42 bD	73.90 ± 0.50 bB
<i>H. stigonocarpa</i>		84.3 ± 0.30 aA	78.30 ± 0.31 aC	63.20 ± 0.78 aD	81.20 ± 0.43 aB	82.50 ± 0.20 aB
<i>H. courbaril</i>	g_s (mmol m ⁻² s ⁻¹)	201.0 ± 5.10 aA	92.00 ± 3.70 bC	26.00 ± 2.40 bD	146.00 ± 2.30 aB	196.00 ± 2.40 aA
<i>H. stigonocarpa</i>		166.0 ± 2.40 bA	110.00 ± 3.20 aC	66.00 ± 2.40 aD	146.00 ± 4.00 aB	172.00 ± 3.70 bA
<i>H. courbaril</i>	A (μmol m ⁻² s ⁻¹)	7.7 ± 0.20 aA	3.20 ± 0.10 bC	0.50 ± 0.10 bD	3.50 ± 0.20 bC	6.60 ± 0.40 aB
<i>H. stigonocarpa</i>		6.7 ± 0.20 aA	4.60 ± 0.20 aC	2.80 ± 0.10 aD	5.60 ± 0.20 aB	6.10 ± 0.20 aAB
<i>H. courbaril</i>	E (mmol m ⁻² s ⁻¹)	4.9 ± 0.10 aA	2.10 ± 0.06 aB	0.30 ± 0.04 bC	2.60 ± 0.07 bB	4.60 ± 0.22 bA
<i>H. stigonocarpa</i>		4.1 ± 0.27 bA	2.50 ± 0.06 aB	1.60 ± 0.07 aC	3.70 ± 0.10 aA	3.90 ± 0.27 bA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Letras minúsculas comparam valores entre as linhas, enquanto que as maiúsculas comparam entre as colunas. As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ($P \leq 0.05$).

CAPÍTULO II

RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE *Hymenaea courbaril* L. E *Hymenaea stigonocarpa* Mart. SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

Resumo – O objetivo do estudo foi investigar as respostas bioquímicas ocasionadas pelo déficit hídrico em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* e *H. stigonocarpa*. As medições bioquímicas foram realizadas no início do experimento, aos 13 e 26 dias decorrido o estresse hídrico, no qual as plantas foram reidratadas se repetindo as análises após dois e quatro dias. A redutase do nitrato teve sua atividade reduzida em 56% para a *H. courbaril* e 30% em *H. stigonocarpa*, decorrido 26 dias de estresse. No mesmo período, ambas as espécies aumentaram a concentração de sacarose em 18%, com uma diminuição de 52 e 29% do conteúdo de amido e proteínas solúveis totais, respectivamente. As taxas de carboidratos solúveis totais, aminoácidos livres totais, prolina e glicina-betaína tiveram aumento significativo a partir do décimo terceiro dia nas duas espécies alcançando valores, respectivos, de 1.8, 1.7, 2.6 e 2.0; 2.6, 1.5, 2.6 e 1.5 vezes maior que o status hídrico inicial. Somente as concentrações dos carboidratos e prolina foram readquiridas para *H. courbaril*. Todavia, a *H. stigonocarpa*, com exceção da redutase do nitrato, conseguiu recuperar as variáveis bioquímicas após quatro dias de reidratação. Portanto, a *H. stigonocarpa*, devido à recuperação da maioria de suas características bioquímicas, exerce maior adaptabilidade em relação ao estresse hídrico.

Termos para indexação: *Hymenaea courbaril*, *H. stigonocarpa*, estresse hídrico, ajustamento osmótico, espécie arbórea.

CHAPTER II

ANSWERS BIOCHEMISTRY OF SEEDLINGS OF *Hymenaea courbaril* L. AND *Hymenaea stigonocarpa* Mart. SUBMITTED WATER STRESS AND REHYDRATION.

Abstract – The purpose of this study was to investigate the biochemical responses caused by drought in seedlings of *Hymenaea courbaril* and *H. stigonocarpa*. The biochemical measurements were performed at baseline, at 13 and 26 days elapsed drought stress, thereafter the plants were rehydrated repeating the analysis after two and four days. The nitrate reductase activity was reduced by 56% for *H. courbaril* and 30% in *H. stigonocarpa*, after 26 days of stress. In the same period, both species increased the concentration of sucrose in 18%, with a decrease of 52 and 29% of starch content and total soluble proteins, respectively. The rates of total soluble carbohydrates, total free amino acids, proline and glycine-betaine had a significant increase from the thirteenth day reaching values in the two species, respectively, 1.8, 1.7, 2.6 and 2.0, 2.6, 1.5, 2.6 and 1.5 times greater than the initial water status. Only the concentrations of carbohydrates and proline were repurchased for *H. courbaril*. However, *H. stigonocarpa*, with the exception of nitrate reductase, biochemical variables was able to recover after four days of rehydration. Therefore, *H. stigonocarpa* due to the recovery of most of its biochemical characteristics, has greater adaptability in relation to water stress.

Index terms: *Hymenaea courbaril*, *H. stigonocarpa*, water stress, osmotic adjustment, tree species.

INTRODUÇÃO

Os fatores que mais interferem no crescimento vegetal é luz, temperatura, água e nutrientes. Geralmente, qualquer tipo de estresse é medido em relação à sobrevivência das plantas, ao crescimento, à produtividade (Ferreira & Milani, 2002; Taiz & Zeiger, 2004) ou processos assimilatórios primários como a absorção de CO₂ e nutrientes (Taiz & Zeiger, 2004). Dentre os fatores, a água exerce uma indispensável função no metabolismo vegetal.

A necessidade em resistir à deficiência hídrica leva a planta a desenvolver mecanismos morfofisiológicos, que as conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores (McCree & Fernández, 1989) levando assim as plantas a atingirem a produção de sementes.

De acordo com Ludlow & Muchow (1990) a redução no conteúdo de água no solo causa significativa variação na distribuição e desenvolvimento radicular, podendo mudar o período de disponibilidade e a quantidade de água disponível para as plantas. Desta forma, nem toda a água que o solo armazena é disponível a elas (Carlesso, 1995).

Apesar de muitas plantas possuírem um sistema de sobrevivência à desidratação, o que define sua permanência no campo é o grau de deficiência hídrica (Hoekstra et al., 2001) e, dependendo dos mecanismos desenvolvidos para resistirem à seca, as plantas são classificadas em espécies que escapam da seca (rápido desenvolvimento fenológico); espécies que toleram a seca com alto potencial hídrico (adiam a desidratação, como se estivessem economizando para períodos posteriores); e espécies que toleram a seca com baixo potencial hídrico (toleram a desidratação) (Turner, 1997). Sendo assim, algumas espécies de plantas são mais tolerantes ao estresse, outras bem menos. À medida que a planta tolera, ela se torna aclimatada, porém não adaptada, segundo Taiz e Zeiger (2004) a adaptação se refere a um nível de resistência geneticamente determinado, adquirido por processos de seleção durante muitas gerações.

A manutenção de potencial de água durante o déficit hídrico pode ser alcançada por ajuste osmótico (Niu et al., 1993). O acúmulo de solutos osmoticamente ativos nas células faz com que o potencial osmótico e o potencial hídrico da planta abaxiem mais rapidamente que o do solo, aumentando o gradiente de potencial hídrico (Turner & Jones, 1980).

Assim, o ajustamento osmótico permite que o crescimento celular ocorra sob um potencial hídrico que geralmente seria inibidor de tal condição. Ele também auxilia a manutenção da abertura estomática e o funcionamento do aparelho fotossintético, permitindo que este opere mesmo em condições de baixo potencial hídrico (Turner, 1997).

Os metabolitos que aumentam a tolerância à deficiência hídrica incluem os açúcares solúveis, aminoácidos, ácidos orgânicos e lipídeos (Guy, 1990). Entre os solutos, osmoticamente compatíveis e mais conhecidos, destacam-se: a prolina, glicina-betaína, proteínas solúveis, açúcares e outros compostos nitrogenados (Koyoro, 2005).

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 fornecendo açúcares redutores para o processo de ajustamento osmótico. (Kingston-Smith et al., 1999).

Inicialmente, atribuiu-se aos solutos compatíveis o papel principal no ajuste osmótico, porém alguns estudos têm sido relacionados com outras possíveis funções (SERRAJ e 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).

Dentre os solutos envolvidos no processo de ajustamento osmótico, a prolina tem aparecido na literatura como sendo um aminoácido particularmente sensível ao estresse (Martinez & Moreno, 1992; Larcher, 2000). O acúmulo pode representar um mecanismo de sobrevivência ao período de estresse, em função de um melhor ajustamento osmótico induzido por esse aminoácido. Além de ajuste osmótico outros papéis são exercidos pela prolina como a proteção da integridade da membrana do protoplasma (Mansour et al., 1998) e é utilizada como uma fonte de carbono e nitrogênio (Peng et al., 1996).

Assim como a prolina, a glicina-betaína é distribuída amplamente nas plantas, se constitui de uma combinação de amônio quaternário, que em condições ambientais de estresse hídrico aumenta sua síntese. A indução de acúmulo desta substância pode ser correlacionado com o nível de tolerância do vegetal (Rhodes & Hanson 1993; Chen & Murata, 2008).

O estresse hídrico também afeta intensamente o metabolismo do nitrogênio nas plantas, o que acarreta diminuição na síntese de proteínas e acumulação de aminoácidos, amônia e poliaminas livres (Rabe, 1993). Junto às proteínas, os lipídeos são os componentes mais abundantes nas membranas e realizam um papel na resistência das células vegetais aos estresses ambientais (Kuiper, 1980; Suss & Yordanov, 1986). Para Sahseh et al. (1998) a estimulação de atividades lipolíticas é maior em plantas sensíveis à seca que em plantas tolerantes. Caldwell & whitman (1987) constataram que a deficiência hídrica quando extrema, causa alterações na associação entre lipídios e proteínas de membrana como também na

diminuição na atividade de enzimas e capacidade de transporte de substâncias (Caldwell e Whitman, 1987).

Logo, as respostas das plantas quando submetidas à deficiência hídrica é o que vão determinar o seu nível de tolerância à seca (Mitra, 2001). A tolerância ou sensibilidade de espécies de planta para condições hídricas extremas é de importância decisiva para sua utilização em plantios de recuperação florestal (Auble et al., 1994; Wassen et al., 2002). Assim, o objetivo desse trabalho foi investigar as respostas bioquímicas em duas espécies florestais sob condições de estresse hídrico e reidratação.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e condução experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém/PA, entre os meses de março a setembro de 2011. Cento e cinquenta mudas das espécies *Hymenaea courbaril* L. e *H. stigonocarpa* Mart foram adquiridas, no viveiro da Associação das Indústrias Madeireiras do Estado do Pará (AIMEX), localizada no município de Benevides/PA, quando apresentavam um mês de idade. As mudas foram transplantadas para vasos de polietileno contendo 18 kg de Latossolo Amarelo de textura média, previamente peneirada para retirada das impurezas. A correção do solo foi realizada dois meses antes do transplante com 1,8 g de calcário dolomítico por vaso e o teor de macronutrientes e micronutrientes foram corrigido pela aplicação de 5:7,5:10 g de NPK e 0,135 g de FTE BR12 por vaso de acordo com a necessidade da planta a partir dos teores apresentados pela análise química e granulométrica do solo realizado pela EMBRAPA Amazônia Oriental.

As plantas foram mantidas em ambiente com iluminação natural em que a média de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foi de $1130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ atingindo temperaturas diurnas de 23 a 37 °C com umidade relativa do ar entre 60,5 a 80%. Decorridos cinco meses da aclimação, cinquenta mudas de cada espécie foram selecionadas para compor os cinco grupos experimentais: E0) zero dia, início do experimento (plantas sem estresse hídrico); E13) 13 dias (plantas com 13 dias de estresse); E26) 26 dias (plantas com 26 dias de estresse), em que a partir desse momento outros dois grupos que estavam em estresse sofreram reidratação por dois (RD2 – plantas com 26 dias de estresse e 2 de reidratação) e quatro dias (RD4 – plantas com 26 dias de estresse e 4 de reidratação). Cada grupo teve dois tratamentos: plantas

submetidas ao déficit hídrico e; plantas periodicamente irrigadas. Todas foram dispostas em bancadas através de um delineamento inteiramente casualizado, no qual cada tratamento foi composto pelas duas espécies com cinco repetições.

A cada dois dias os vasos com as plantas foram pesados em uma balança digital para verificação da quantidade de água perdida por evapotranspiração e, posteriormente, adicionados os volumes a fim de manter a capacidade hídrica de todos os grupos.

As respostas ao déficit hídrico foram avaliadas nos dias 0, 13 e 26, e as respostas a reidratação foram medidas no 2º e 4º dia depois do dia 26 correspondendo ao 28º e 30º dia após a diferenciação dos tratamentos. As coletas destrutivas foram realizadas entre 9:00 e 10:00 h da manhã. Com o material ainda fresco foi realizada a determinação da atividade da redutase do nitrato. Após a coleta, as folhas foram levadas para secagem em estufa de circulação de ar a 65 °C. Após 72 h na estufa, o material seco foi moído e acondicionado em frascos hermeticamente fechados até o momento das análises. As respostas do comportamento das mudas foram avaliadas por meio das seguintes determinações:

Determinação da atividade da redutase do nitrato (RN)

Foram pesados, aproximadamente, 200 mg de discos 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 submetidos a vácuo com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 min. Em seguida, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos, na ausência de luz. Em tubos de ensaio tipo pirex, foram adicionados alíquotas de 1 mL de tampão fosfato + 2 mL do extrato diluído + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de N-1- naftiletlenodiamina dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5mL. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso por 15 min. A leitura foi feita no espectrofotômetro à 540 nm tendo como branco (3,0 mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO₂⁻ no meio de reação, sendo expressa em mmoles de NO₂⁻.g.MF⁻¹. 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).

Determinação das concentrações de amido

Foi feita uma extração etanólica de 50 mg da massa seca 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 min a 25 °C. Após serem juntados os extratos, foram levadas para centrifuga (2000 rpm por 10 min) e coletados os sobrenadantes. Estes de cada extração foram juntados e aferidos ao volume para 10 mL com água destilada para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram colocados 100 mL do sobrenadante + 400 mL 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 expressos em mmol de GLU/g de resíduo. O método utilizado foi segundo (Dubois et al., 1956).

Determinação das concentrações de carboidratos solúveis totais (C_{ST})

Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) 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 min, em que, dos sobrenadantes coletados, retirou-se uma alíquota de 100 mL (realizando o teste de diluição) junto com 400 mL de H₂O em tubos de ensaio e sob agitação vigorosa e homogeneização através do vortex. Depois disso foram adicionados 0,5 mL de fenol 5% agitando novamente no vortex e adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado. Assim, foram agitados os tubos colocados na bancada para repouso por 20 min sendo feita sua leitura no espectrofotômetro a 490nm, tendo como o branco a utilização de água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes, que foram colocados na proporção de 0,5 mL de água destilada + 0,5 mL de fenol 5% + 2,5 mL de H₂SO₄. Para o cálculo das concentrações de carboidratos solúveis totais utilizou-se uma curva-padrão de glicose e os resultados foram expressos em mmol de glicose/g MS. Para isso, utilizou-se o método descrito por (Dubois et al., 1956).

Determinação das concentrações de proteínas solúveis totais (P_{ST})

Foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL, 100mg de pó da matéria seca (MS) das folhas em 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25mM pH 7,6). Em seguida os tubos, devidamente lacrados, ficaram sobre o processo de agitação durante 2 h no “shacker”. Após esse processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 min). Em seguida, foram colocados nos tubos de ensaios 100 mL do sobrenadante após a centrifugação + 2,5 mL do reagente de Bradford. Após esse processo, os tubos manualmente foram agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Com 15 min de repouso as leituras foram realizadas no espectrofotômetro a 590 nm, contra o branco que encerra 100 mL 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).

Determinação das concentrações de aminoácidos livres totais (AA_{LT})

Foram pesados 50 mg das folhas, e colocados em tubos de ensaio com 5 mL de água destilada, fechados hermeticamente e incubados em banho-maria a 100 °C, durante 30 min. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 6.000 rpm, por 10 min. Após a extração o sobrenadante foi coletado e desenvolvido a reação para dosagem dos aminoácidos. Aliquotas de 0,1mL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio e acrescidas de 0,4 mL de água destilada. Em seguida 0,250 mL 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 min à temperatura de 100 °C. Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo, momento em que foram adicionados 1,5mL de uma solução de etanol 50% (v/v). Após os tubos permanecerem por 20 min em temperatura ambiente foram efetivadas leituras em espectrofotômetro, a 570 nm, sendo os teores de aminoácidos livres totais, determinados com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de uma mistura padronizada de L – glutamina Aminoácidos e os resultados foram expressos em µmol de mfVAA/g MS. A concentração de aminoácidos livres totais (AA_{LT}) foi determinada segundo método descrito por Peoples et al.,1989.

Determinação das concentrações de sacarose

Foram pesados 30 mg de massa seca 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 min a temperatura ambiente. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 min 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 mL de água destilada, seguindo-se sob agitação e centrifugação (2.000 rpm, por 10 min) 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, os quais foram levados ao banho-maria e aquecidos a 35 °C por um período de 30 a 45 min para evaporação do clorofórmio residual e então foi determinado o volume restante. A quantificação da amostra foi realizada tomando-se alíquotas de 100 mL da fase aquosa adequadamente diluída adicionando 100 mL de KOH 30%. Após vigorosa agitação a mistura foi aquecida a 100 °C por 10 min e, após resfriamento, foi adicionada 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 min. 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).

Determinação das concentrações de prolina

Foram pesados 50 mg de massa seca das folhas (MS) em pó e, em seguida, levados para tubos de ensaio de 15 mL e adicionados 5mL 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) agitados em vortex e colocados novamente em “banho-maria” a 100 °C por 1 h. Depois de então, a reação com banho de gelo e adicionado 2,0 mL de tolueno e agitado vigorosamente em vortex por 20 s (o tolueno extraiu a substância cromófora formando um complexo colorido (róseo para

vermelho). Assim que atingiu a temperatura ambiente, realizou-se o processo de aspiração com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de plástico a fase não-aquosa (cromóforo + tolueno = parte superior). 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) sendo os resultados expressos em mmol prolina/g MS. Para isso, utilizou-se o método descrito por (Bates; Waldren; Teare, 1973).

Determinação das concentrações de glicina-betaína (GB)

Foram transferidos 25 mg de massa seca das folhas para tubos eppendorf de 2 mL, sendo adicionados 2 mL de água destilada e agitados por 4 h no “shacker” a 25 °C (extração a frio), e centrifugados a 10.000 rpm por 10 min a 25 °C, após a centrifugação, foi coletado o sobrenadante para obtenção do extrato aquoso e descartado o precipitado. No eppendorf de 2 mL adicionou-se 250 mL do extrato aquoso + 250 mL de H₂SO₄ 2 N (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 mL de KI-I₂ gelado, mantido durante 16 h a 0 °C (banho de gelo na geladeira - 0 a 4 °C). O processo de centrifugação foi de 15 min, 10.000 rpm a 0 °C. Eliminou-se o sobrenadante. Foi lavado o precipitado 2 vezes com 2 mL de H₂SO₄ 1 N gelado com centrifugações por 5 min, 10.000 rpm, 0°C para cada lavagem. Após as lavagens, foi dissolvido o precipitado em 3 mL de 1,2-dicloroetano, agitado vigorosamente e, realizadas diluições 1:6 (diluição para a curva) ou testadas outras maiores (1:12, 1:24 ou 1:48 para as amostras - a diluição vai depender da quantidade de glicina-betaína precipitada). Assim, depois de 2 a 2,5 h de descanso, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 365 nm, usando-se água destilada + reagentes, como branco. Durante todo o ensaio as amostras foram mantidas entre as temperaturas de 0 a 4 °C. Para os cálculos, uma curva padrão de glicina-betaína foi preparada e os resultados foram expressos em µg de glicina-betaína.g⁻¹ MS. O método utilizado foi segundo (Grieve & Grattan, 1983).

Análise dos dados

A análise de variância entre os fatores foi realizada utilizando-se o GLM do Software estatístico MINITAB 14 (2004) e ASSISTAT 7.6 (2011), enquanto as diferenças entre as médias foram segregadas com testes múltiplos de Tukey. As análises de regressão nas variáveis analisadas foram realizadas por meio do programa estatístico MINITAB 14 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das variáveis bioquímicas tiveram alterações em função da disponibilidade hídrica. Após o fim do estresse (26 dias) houve a retomada da irrigação, na qual os valores das plantas estressadas começaram a assumir valores mais próximos ao status hídrico inicial, porém esses valores não expressaram uma recuperação significativa da maioria das variáveis no decorrer dos quatro dias de reidratação (Anexo I).

Dentre as variáveis analisadas a sacarose, amido e proteínas solúveis totais (P_{ST}), tiveram um diferencial que foi a ausência de integração significativa nas espécies vs. tempo (Anexo II), apesar de demonstrarem alterações de suas concentrações nas espécies ao longo do período experimental (Anexo III).

O declínio dos valores da Redutase do Nitrato (RN) para ambas as espécies, ocorreu, efetivamente, após os vinte e seis dias de estresse hídrico. Nesse período, a *H. courbaril* reduziu a RN a mais da metade da atividade inicial e após quatro dias de reidratação recuperou aproximadamente 74%. Enquanto que a *H. stigonocarpa* teve uma redução inferior a outra espécie de 0.85 a 0.59 $\mu\text{mol de NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ao vigésimo sexto dia de estresse, e uma recuperação de 85% com apenas dois dias de reidratação (Figura 1).

Assim, a redutase do nitrato, principal enzima responsável pela assimilação de nitrogênio pelas plantas, pode ter sua atividade influenciada pela disponibilidade de água (Sharma & Dubey, 2005), podendo ser utilizada como parâmetro indicativo aos estresses ambientais (Carelli et al, 1991; Oliveira et al., 2005).

Em nosso estudo a menor atividade da RN foi observada para a espécie *H. courbaril* quando submetida à baixa condição hídrica, evidenciando após vinte e seis dias redução em mais de 50%, fato também observado na *H. stigonocarpa*, porém em menor intensidade (Anexo I). O déficit hídrico também afetou mudas de gergelim (*Sesamum indicum*) cultivadas em casa de vegetação, que após seis dias submetidas ao estresse teve redução da atividade da RN mais acentuada em comparação ao nosso estudo equivalente a 80,95%, apesar dela ser considerada resistente a seca (Souza et al., 2000).

Marur et al (2000) ao estudar duas cultivares de algodoeiro também observaram uma sensibilidade da atividade da RN ao estabelecimento do estresse hídrico, na qual em potenciais hídricos extremamente negativos reduziu a atividade da enzima. Por outro lado, em plantas de *Campomanesia* sp. submetidas ao estresse hídrico foi observado que a atividade enzimática nas duas primeiras semanas sob estresse foi similar aos resultados obtidos quando as plantas foram irrigadas diariamente. Esses resultados apontam para o fato de que pode ter

havido certa adaptação da atividade da enzima após determinado período de deficiência hídrica (Oliveira et al, 2011). Estes resultados também foram constatados em plantas de milho por Ferreira et al. (2002), que ao estudar o metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica demonstrou que a atividade da enzima redutase do nitrato em milho não diferiu entre o tratamento de stress hídrico e o controle.

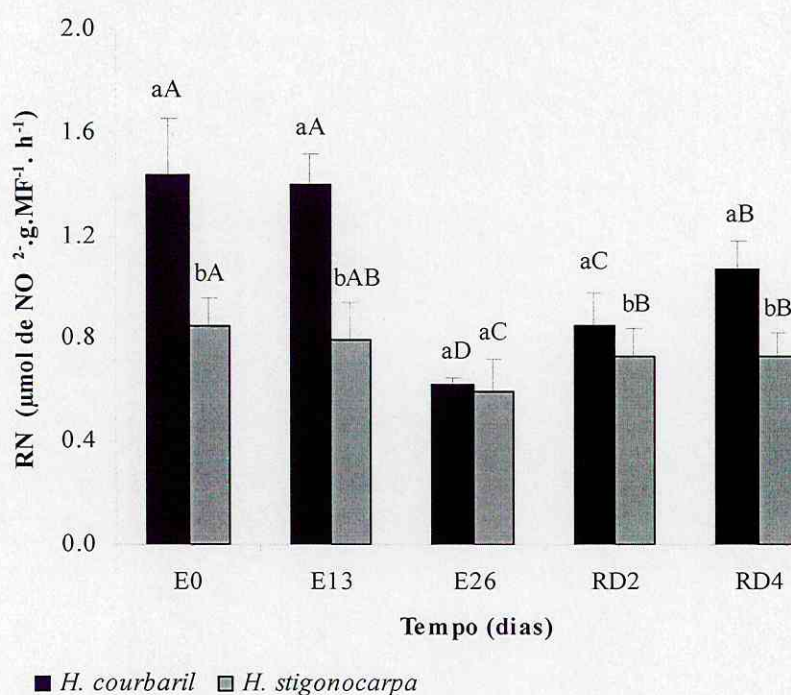


Figura 1. Atividade da redutase do nitrato (RN) em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por 2 dias (RD2) e 4 dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

No entanto, na maioria dos trabalhos com espécies vegetais, como soja (Chen & Sung, 1983), girassol (Tankha & Gupta, 1992), trigo (Singh & Usha, 2003) e feijão (Costa, 1999) a atividade da RN é reduzida quando submetidas à deficiência hídrica. Por esse motivo, se sugere que o déficit hídrico diminui a atividade dessa enzima em virtude da diminuição do fluxo de água pela corrente transpiratória e com isso também o fluxo de nitrato para as folhas, uma vez que essa enzima é altamente dependente de seu substrato (Taiz & Zeiger, 2004).

As concentrações de amido tiveram uma diminuição quando submetidas ao estresse hídrico em ambas as espécies (Figura 2). A queda dos valores ocorreu a partir dos treze dias e se tornou mais acentuada no E26 (Figura 3). A *H. stigonocarpa* durante os quatro dias de reidratação quase retomou sua concentração inicial, enquanto a outra espécie se manteve distante da recuperação com valor inferior de até 42% (Anexo III).

Estudos realizados por Grisi (2006) também evidenciaram variações nos teores de amido o qual se mostraram responsivas ao déficit, uma vez que decréscimos na sua concentração ocorreram aos quatro e seis dias após a supressão da água para as mudas de café Siriema e Catuaí, respectivamente.

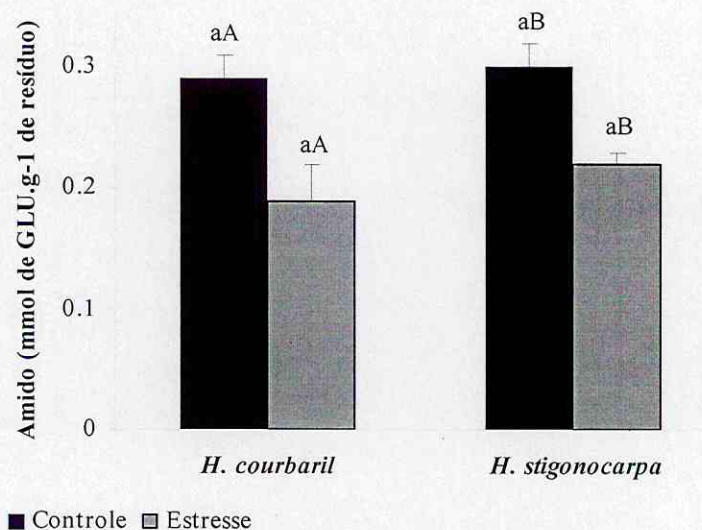


Figura 2. Concentração de amido em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

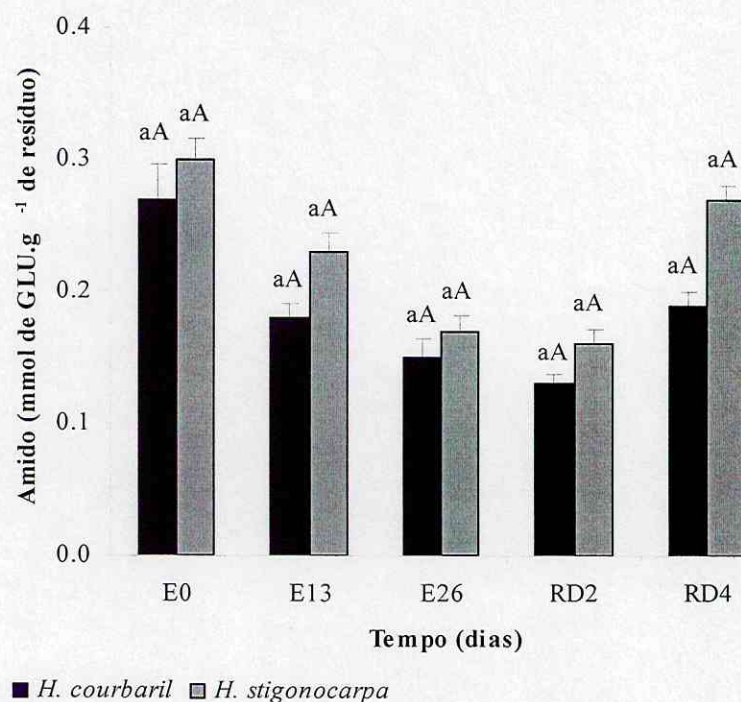


Figura 3. Concentração de amido em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

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, freqüentemente, é a sacarose, principal açúcar de transporte em plantas. Para que órgãos em crescimento (drenos) possam metabolizar essa sacarose, se torna necessária sua degradação (Martim, 2003).

A contínua redução hídrica aumentou as concentrações de C_{ST} (Figura 4). Os valores de C_{ST} para *H. courbaril* obtidos entre o primeiro e o vigésimo sexto dia de medida estiveram entre 1,21 e 2,24 mmol de glicose.g⁻¹ MS (Anexo I). Após a reidratação, os valores extremos alcançados no momento máximo do estresse, declinaram atingindo 1,45 mmol de glicose.g⁻¹ MS, demonstrando uma retomada da concentração inicial (E0). O aumento da taxa de C_{ST} da *H. stigonocarpa* foi mais acentuado ($p \geq 0.05$) que a *H. courbaril* aos vinte e seis dias de estresse registrando valores de 2,78 mmol de glicose.g⁻¹ MS, aproximadamente 3 vezes do valor das plantas com 100% da disponibilidade hídrica. Apesar da elevada variação conseguiu recuperar significativamente seus valores iniciais em quatro dias de reidratação (Figura 4).

Resultado semelhante a este foi encontrado por Chaves Filho (2001), no qual a dosagem dos teores de carboidratos solúveis em folhas de *S. lycocarpum*, demonstrou que os níveis desses compostos aumentaram significativamente em resposta ao estresse hídrico.

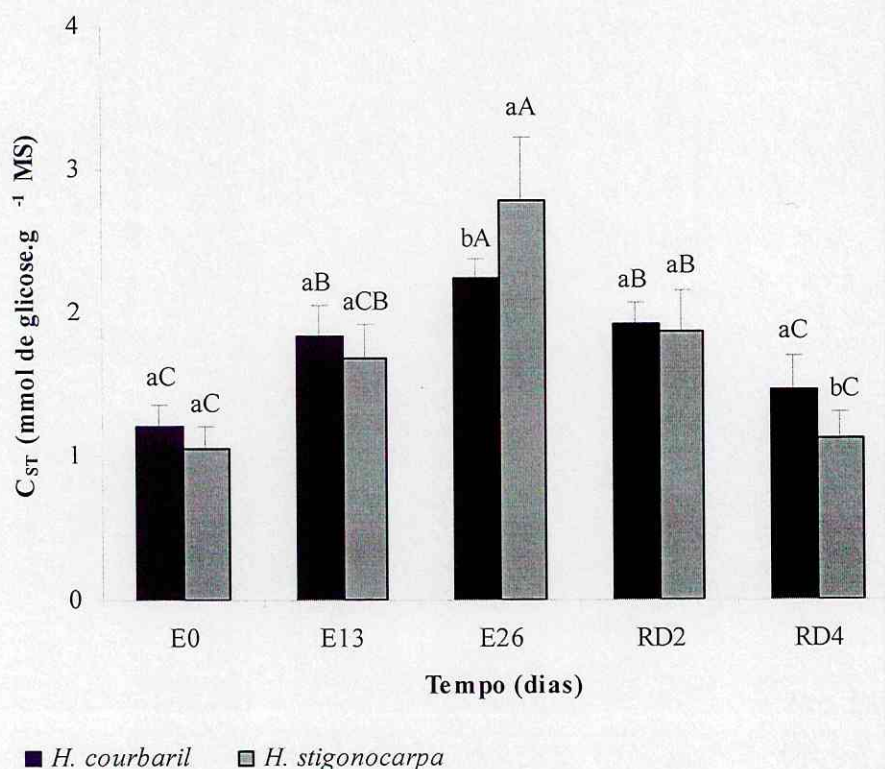


Figura 4. Concentrações de carboidratos solúveis totais (C_{ST}) em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

Pimentel (1999) em estudo realizado com dois híbridos de milho, também observou aumento gradativo no teor de carboidratos com trinta dias de deficiência.

Esses resultados são explicados pelo fato do estresse hídrico afetar a utilização de carboidratos, por alterar, basicamente, a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o desenvolvimento de partes novas na planta. Essa condição ocasiona mudanças na divisão dos carboidratos no interior da planta, condicionando-as a desenvolverem mecanismos de adaptação e resistência (Jordan, 1983). Certos carboidratos que podem servir como solutos compatíveis, mantendo o potencial hídrico pelo ajuste osmótico (Nepomuceno et al. 2001).

O teor de carboidratos solúveis totais também foi modificado em diversas espécies de plantas sob deficiência hídrica, que em virtude do estresse o amido é degradado a açúcares solúveis redutores (Pimentel & Rossiello, Kramer, 1995).

As P_{ST} também tiveram reduções significativas em suas concentrações quando as plantas de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* foram submetidas à deficiência hídrica (Figura 5), com redução mais acentuada na espécie *H. courbaril* (Figura 6). Após 26 dias de suspensão da irrigação as plantas de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* apresentavam 73 e 70% de suas proteínas com recuperação após quatro dias de 93 e 85%, respectivamente, através da reidratação (Anexo III). Foi observado também diminuição quantitativa em algumas proteínas após cinco dias para o genótipo CM-2000 e sete dias para os genótipo CM-94/99 de grão-de-bico sob tensão hídrica (Bibi et al, 2009), os demais genótipos avaliados não sofreram alterações.

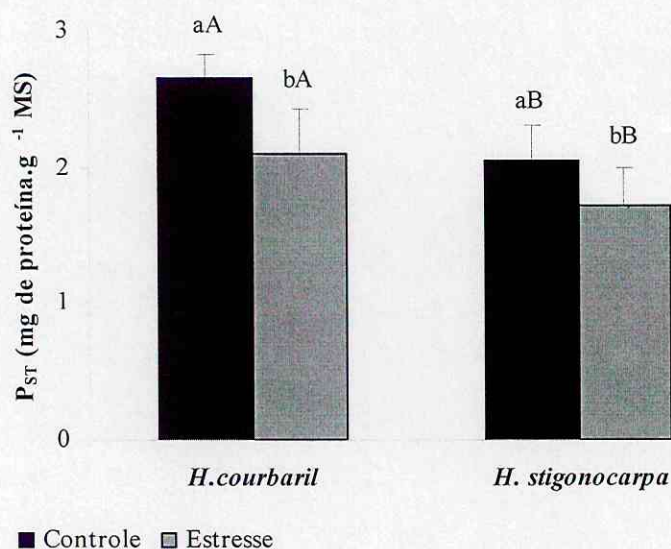


Figura 5. Concentração de proteínas solúveis totais (P_{ST})-c em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

Segundo Parida (2007) ao avaliar o mecanismo de tolerância à seca em dois genótipos de algodoeiro no decorrer de sete dias observou aumento no teor de proteínas em ambos os genótipos, mas a concentração desta substância foi mais alta no genótipo sensível quando comparado ao genótipo moderadamente tolerante.

O estresse hídrico induzido com diminuição do teor de proteína solúveis totais, também tem sido encontrada em plantas de *Carthamus mareoticus* por Abdel-Nasser e Abdel (2002) e em folhas de duas variedades de milho, na qual a diminuição na concentração de proteínas foi maior na cv. 704 que na cv. 301 (Mohammadkhani & Heidari, 2008).

Esse resultado deve-se provavelmente ao aumento das enzimas proteolíticas que degradam proteínas em aminoácidos, envolvidos no ajustamento osmótico. A proteólise é uma atividade celular importante para manter a homeostase das proteínas. A proteólise aumentada em resposta ao estresse é observada freqüentemente (Ramanjul e Sudhakar, 1997; De Wald et al., 2001) e interpretada como uma forma de eliminar proteínas danificadas provocadas pelo estresse (Davis & Vierstra, 1996).

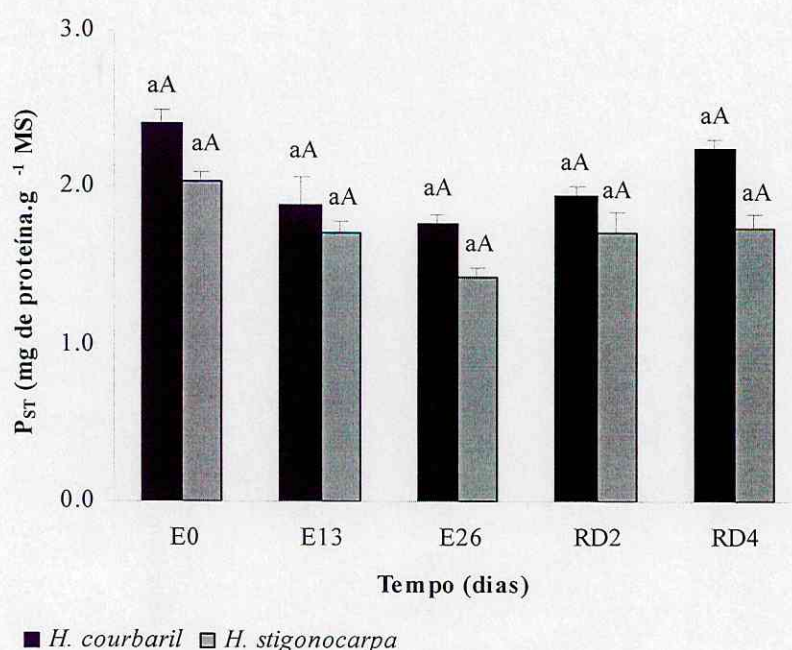


Figura 6. Concentração de proteínas solúveis totais em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

A variação dos AA_{LT} de *H. courbaril* ocorreu de 49,16 a 84,17 $\mu\text{mol de AA.g}^{-1}$ MS até o último dia de estresse (E26), com oscilações significativas dentro desse intervalo (Figura 7). A partir daí apresentou, com a reidratação, valores decrescentes, mas não atingiu uma concentração relevante em relação às plantas em E0. Mudanças semelhantes ocorreram em *H.*

stigonocarpa, na qual, teve um aumento de 20,51 μmol de $\text{AA}\cdot\text{g}^{-1}$ MS do E0 ao E26, resultado inferior ao encontrado em *H. courbaril* de 35,01 μmol de $\text{AA}\cdot\text{g}^{-1}$ MS (Anexo I). A menor redução conferiu a *H. stigonocarpa* uma recuperação superior a *H. courbaril* que, ao contrário, não restabeleceu seus valores iniciais com a reidratação (Figura 7).

O aumento nos teores de aminoácidos também foi evidenciado entre híbridos de milho após seis dias de estresse (Pimentel, 1999) e nas espécies de paricá, ingá, clitória e tachi após doze dias de cultivo sob deficiência hídrica induzida. Foi observado em todas as quatro espécies no tratamento seco, um aumento nos teores desse soluto quando comparados com os teores dos tratamentos úmidos, mesmo nas espécies ingá e tachi, que não tiveram grandes reduções de seus potenciais de base, foi observado acúmulo de aminoácidos, sugerindo que essas espécies responderam a deficiência de água no solo acumulando fotoassimilados como consequência na redução do potencial hídrico interno (Oliveira, 2005).

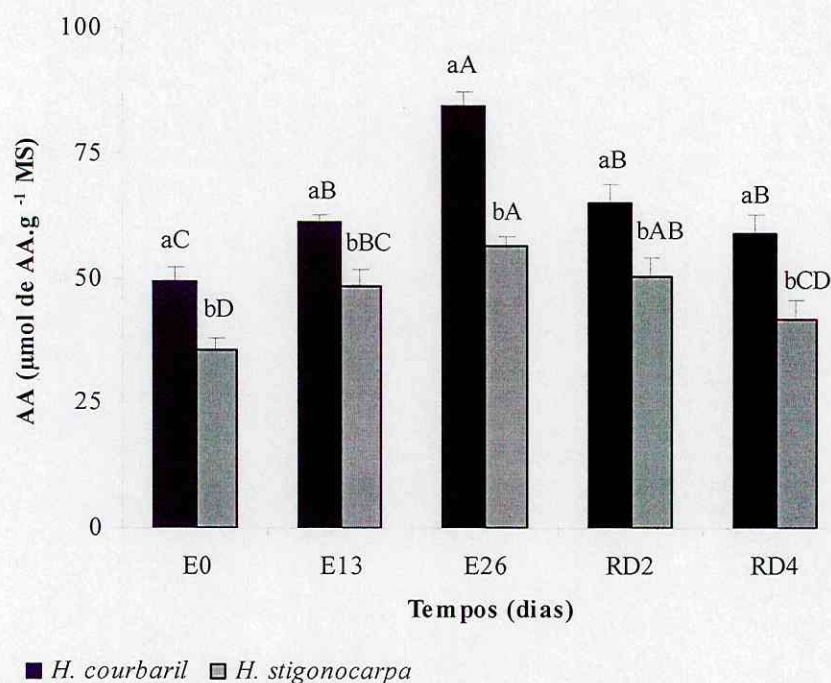


Figura 7. Concentrações aminoácidos solúveis totais (AA_{ST}) em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

O papel que os aminoácidos desempenham nas plantas sob estresse hídrico, seria o de atuar como fonte de nitrogênio e carbono prontamente utilizáveis após o término do estresse além de provavelmente ter função no ajuste osmótico (Turner, 1997).

O déficit hídrico afetou significativamente ($p \leq 0.05$) as concentrações de sacarose nas duas espécies (Figura 8). Os níveis dessa substância também sofreram alterações no decorrer do tempo experimental (Figura 9), evidenciados pelo aumento de 10 e 24% no E13, a partir daí atingiu valores ainda maiores 41 e 44% para *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*, respectivamente (Anexo III). Com RD2 os valores se mantiveram relativamente iguais ao do E26, se distinguindo somente com quatro dias de reidratação, mas ainda assim não obtiveram os valores das plantas inicialmente irrigadas (Anexo III).

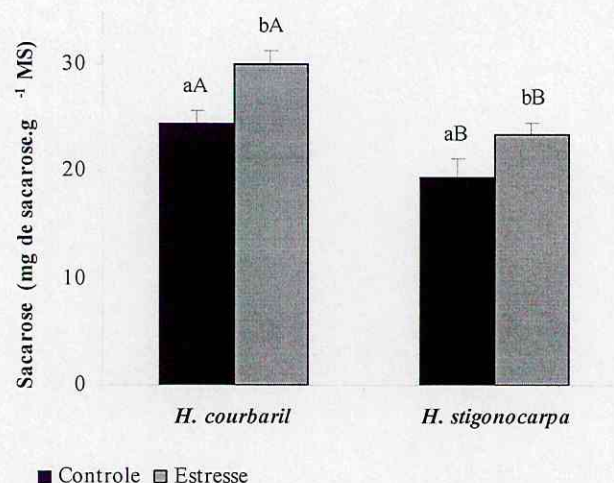


Figura 8. Concentração de sacarose em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

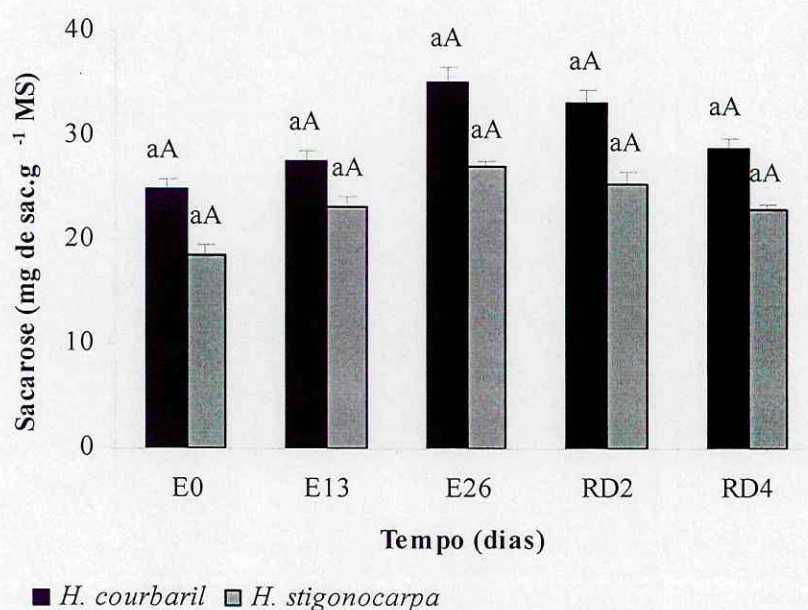


Figura 9. Concentração de sacarose em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

Diferença significativa no aumento desse açúcar também foi observada em mudas de café entre os tratamentos irrigados e não irrigados após quatro dias para mudas de Siriema e doze para as de Catuaí (Grisi, 2006). Esses resultados corroboram com os encontrados por Praxedes (2003), avaliando os efeitos do déficit hídrico no metabolismo fotossintético de quatro clones de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon observou que quando o potencial hídrico foliar na antemanhã ($\Psi_{w_{am}}$) decresceu para valores em torno de $-3,0$ MPa, estresse hídrico severo, houve redução na fotossíntese líquida, provocada, principalmente, pelo fechamento dos estômatos e um aumento na concentração foliar de sacarose nos clones tolerantes à seca.

Exemplos de outras espécies são as plantas, como *Craterostigma plantagineum* e *Spinacea oleracea*, que aumentam a síntese de sacarose durante o déficit hídrico (Ingram & Bartels, 1996).

Uma forte correlação entre o acúmulo de açúcares e a tolerância ao estresse osmótico foi relatada extensamente, incluindo experiências com plantas transgênicas como a soja (*Glycine max*) (Streeter et al., 2001) e *Arabidopsis thaliana* (Taji et al., 2002). Assim a sacarose, como principal açúcar exportador, aumentou seu teor para suprir regiões de consumo ou armazenamento, uma vez que a fotossíntese tende a diminuir com o déficit hídrico.

O aumento da taxa de prolina foi evidente desde os treze dias de estresse, se acentuando no vigésimo sexto dia em ambas as espécies (Figura 10). Apesar da *H. stigonocarpa* ter uma concentração de prolina significativamente menor, alterando de $1,32$ a $3,52$ μmol de prolina. g^{-1} MS, que a *H. courbaril*, alterando de $1,87$ a $4,88$ μmol de prolina. g^{-1} MS, o acréscimo nas concentrações de prolina nas duas espécies foi igual de, aproximadamente, 2,6 vezes maior que a inicial. Ambas as espécies recuperam suas concentrações após reidratação (Figura 10).

O acúmulo de prolina sob tensão em muitas espécies de planta foi correlatada com tolerância a deficiência hídrica, e sua concentração normalmente é mais alta em plantas tolerantes que em plantas sensíveis ao estresse (Ashraf e Foolad, 2007).

Oliveira Neto (2008) trabalhando com sorgo sob deficiência hídrica observou que nessa condição provocou um acréscimo significativo nas considerações de prolina após 15 dias de estresse hídrico. Resultados semelhantes ocorreram em plantas de feijão, na qual a redução de água no tecido foliar diminuiu os teores de prolina (Lobato et al, 2008). Corroborando com esses resultados Ronde et al. (2000) detectaram que a diminuição do índice de água provocou aumento progressivo nos níveis de prolina em seis diferentes

cultivares de algodoeiro. O acúmulo máximo de prolina em condições de seca ocorreu em 11 dias sem água.

Apesar de vários trabalhos indicarem uma alta correlação entre o acúmulo de prolina e o aumento da tolerância à seca, outros sugerem que o acúmulo é simplesmente um efeito do estresse (Delauney & Verma, 1993; Madan et al., 1995).

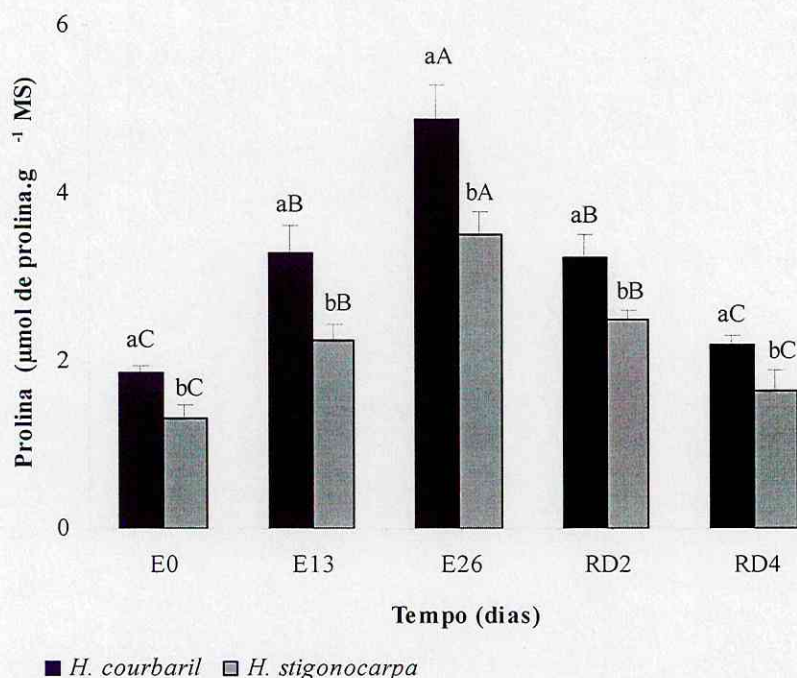


Figura 10. Concentração de prolina em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

A acumulação desse aminoácido é resultado do aumento no fluxo de glutamato, que é metabolizado pela Pirrolina-5-Carboxilato Sintetase (P5CS), enzima que regula a taxa de biossíntese de prolina (Hare & Cress, 1997), bem como de um decréscimo em seu catabolismo (Stewart et al., 1977). Ocorre amplamente em plantas mais altas e normalmente acumula grandes quantidades quando submetidas a tensões ambientais (Ozturk e Demir, 2002; Hsu et al., 2003; Kavi-Kishore et al., 2005).

Os resultados obtidos em relação à Glicina-Betaína apresentaram valores elevados com o aumento do nível de estresse (Figura 11). A espécie *H. courbaril* teve acréscimo de 4,14 e 8,63 µg de glicina-betaína.g⁻¹ MS, no seu valor inicial de 8,22 µg de glicina-betaína.g⁻¹ MS, com treze e vinte e seis dias de estresse, respectivamente. Enquanto que a *H. stigonocarpa* teve acréscimo de 1,95 e 3,24 µg de glicina-betaína.g⁻¹ MS, em seu valor inicial de 5,5µg de glicina-betaína.g⁻¹ MS, no E13 e E26, respectivamente (Anexo I). Com a

retomada da irrigação as concentrações começam a decrescer, registrando valores de até 10,46 μg de glicina-betaína. g^{-1} MS para *H. courbaril* e 6,25 μg de glicina-betaína. g^{-1} MS para *H. stigonocarpa*, no entanto apenas esta última espécie obteve significância a E0 (Figura 11).

Alterações na concentração de glicina-betaína também foram observadas por Sarwar et al. (2006) ao investigarem a variabilidade genotípica de seis cultivares de algodoeiro sob condições de déficit hídrico. A glicina-betaína também melhorou a tolerância ao déficit de água em todas as fases do ciclo de desenvolvimento de transgênicos de milho devido ao aumento do acúmulo de GB (Quan et al., 2004).

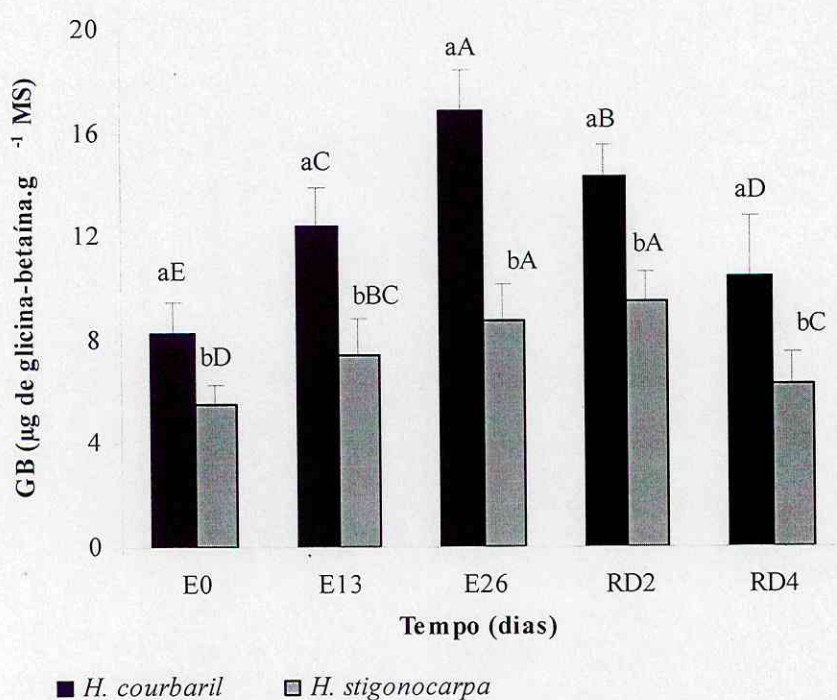


Figura 11. Glicina-betaína (GB) em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em função do tempo. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por dois dias (RD2) e quatro dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

Conhecida por se acumular em respostas a tensões hídricas na tentativa de desenvolver adaptações para evitar a perda de água (Ashraf & Foolad, 2007), a glicina-betaína teve suas concentrações também elevadas em plantas submetidas à deficiência hídrica tais como as espécies de sorgo (Oliveira neto, 2008), girassol (Iaqbal, 2008), cenoura (Fallon & Phillips, 1989) e Cevada (Ladyman, 1980).

As alterações nas concentrações de GB provavelmente são devidas, segundo Sakamoto & Murata (2002), não só por esta substância agir como um osmoregulador, mas também por estabilizar as estruturas e as atividades de enzimas do complexo de proteína, e manter a

integridade de membranas contra os efeitos prejudiciais de diferentes estresses abióticos, além de proteger segundo Larher et al. (1996) os processos fisiológicos como fotossíntese e síntese de proteína dos resultados de déficit de água e outras tensões.

Quando a irrigação foi retomada em todas as plantas estressadas, os parâmetros avaliados tiveram suas concentrações readquiridas em direção às concentrações de seu status hídrico inicial, porém nem todos os parâmetros foram recuperados significativamente (Anexo I e III).

Embora a deficiência hídrica tenha alterado as concentrações de todos os solutos estudados, após a reidratação eles voltaram ao estado normal, evidenciando que o período de deficiência hídrica (26 dias) não causou um estresse irreversível (plástico).

CONCLUSÕES

As concentrações da RN, amido e P_{ST} decrescem quando as plantas das duas espécies estudadas sofrem restrição hídrica durante vinte e seis dias.

As concentrações de AA_{ST} , C_{ST} , sacarose, prolina e GB aumentam quando as plantas são submetidas à deficiência hídrica durante vinte e seis dias, promovendo com isso, o ajustamento osmótico das espécies estudadas.

O período de reidratação estudado não é suficiente para a recuperação total das concentrações de todos os solutos estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-NASSER L.E, ABDEL-A.A.L. **Effect of elevated CO₂ and drought on proline metabolism and growth of safflower (*Carthamus mareoticus* L.) seedlings without improving water status.** *Pakist J Biol Sci* 5:523–528, 2002.

ANDRADE NETTO, J. F. **Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica.** 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

ASHRAF, M; FOOLAD, M. R. **Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance.** Environmental and Experimental Botany, v.59, p.206-216, 2007.

AUBLE, G.T., FRIEDMAN, J.M., SCOTT, M.L. **Relating riparian vegetation to present and future streamflows.** Ecological Applications 4, p.544-554,1994.

BARROS, D. P. de. **Regeneração de espécies florestais em São Simão através da talhadia. Silvicultura.** São Paulo, v. 4/5, n. 4, p. 171-179, 1965/1966.

BATES, L. S., WALDREN, R. P, TEARE, I. D. **Rapid determination of free proline for 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.

BIBI, N.; HAMEED, A.; ALI, H.; IQBAL, N.; HAQ, M. A.; ATTA, B.M.; SHAH, T.M.; ALAM, S.S. **Water stress induced variations in protein profiles of germinating cotyledons from seedlings of chickpea genotypes.** Pak. J. Bot., 41(2): 731-736, 2009.

CALDWELL, C.R., WHITMAN, C.E. **Temperature-induced protein conformational changes in barley root plasma membrane-enriched microsomes. I. Effect of temperature on membrane protein and lipid mobility.** Plant Physiol., 84, p.918-923, 1987.

CAMPOS, M.A.A: UCHIDA, T. **Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.37, n.3, p.281-288, 2002.

CARELLI, M.L.C.; FAHL, J.I. **Distribuição da assimilação do nitrato e da matéria seca em plantas jovens de café cultivadas em diferentes níveis de nitrogênio.** Bragantia, Campinas, v.50, p.29-37, 1991.

CARLESSO, R. **Absorção de água pelas plantas: água disponível versus extrível e a produtividade das culturas.** Revista Ciência Rural, v.25, n.1, p.183-188, 1995.

CARVALHO, P. E. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Colombo, PR, EMBRAPA/CNPQ. 640p., 1994.

CARVALHO, P.E.R. **Jatobá-do-serrado**. Taxonomia e nomenclatura. Circular técnico 133. Embrapa Florestas. 8p., 2007.

CASTRO, A. A. J. F. **Comparação florístico-geográfica (Brasil) e fitossociológica (Piauí-São Paulo) de amostras de Cerrado**. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 520p., 1994.

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

CHEN T.H.H. & MURATA N. **Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants**. Plant Science 13, p.499-505, 2008.

CHEN, C.-L. & SUNG, J.-M.. **Effect of water stress on the reduction of nitrate and nitrite by soybean nodules**. Plant Physiol. 73, p.1065-1066, 1983.

COSTA, A. A.; ARAÚJO, G. M. de. **Comparação da vegetação arbórea de cerradão e de cerrado na Reserva do Panga, Uberlândia, Minas Gerais**. Acta Botanica Brasilica, São Paulo, v. 15, n. 1, p.63-72, 2001.

COSTA, I. R. da; ARAÚJO, F. S. de; LIMA-VERDE, L. W. **Flora e aspectos autoecológicos de um enclave de cerrado na Chapada do Araripe, Nordeste do Brasil**. Acta Botanica Brasilica, São Paulo, v. 18, n. 4, p.759-770, 2004.

COSTA, R.C.L. **Assimilação de nitrogênio e ajustamento osmótico em plantas noduladas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) (Walp.)] submetidas ao estresse hídrico**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará. 225p., 1999.

DAVIS, S.J., & VIERSTRA, R.D. **Soluble derivatives of green fluorescent protein (GFP) for use in *Arabidopsis thaliana***. Weeds World 3: 43-48, 1996.

DE WALD, D.B.; TORABINEJAD, J.; JONES, C.A.; SHOPE, J.C.; CANGELOSI, A.R.; THOMPSON, J.E.; PRESTWICH, G.D.; HAMA, H. **Rapid accumulation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and inositol 1,4,5-trisphosphate correlates with calcium mobilization in salt-stressed *Arabidopsis***. Plant Physiology, v.126, p.759-769, 2001.

- DELAUNEY, A., VERMA, D. **Proline biosynthesis and osmoregulation in plants**. *Plant J.* 4:215-223, 1993.
- DUBOC, E.; VENTORIM, N.; VALE, F.R.; DAVIDE, A.C. **Nutrição do Jatobá**. *Revista Cerne*. V. 2, n. 1. p. 1-12, 1996.
- 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.
- DURIGAN, G.; BAITELLO, J. B.; FRANCO, G. A. D. C.; SIQUEIRA, M. F. de. **Plantas do Cerrado Paulista: imagens de uma paisagem ameaçada**. São Paulo: Instituto Florestal. 475p., 2004.
- DURIGAN, G.; RATTER, J.A.; BRIDGEWATER, S.; SIQUEIRA, M.F.; FRANCO, G.A.D.F. **Padrões fitogeográficos do cerrado paulista sob uma perspectiva regional**. *Hoehnea*, São Paulo, v.30, n.1, p.39-51, 2003.
- FALLON, KM, PHILLIPS, R, **Responses to water stress in adapted and unadapted carrot cell suspension cultures**. *Journal of Experimental Botany*, v. 40, p.681-687, 1989.
- FELFILI, J. M.; NOGUEIRA, P. E.; SILVA JÚNIOR, M. C. da; MARIMON, B. S.; DELITTI, W. B. C. **Composição florística e fitossociologia do Cerrado sentido restrito no Município de Água Boa - MT**. *Acta Botanica Brasilica*, São Paulo, v. 16, n. 1, p.103-112, 2002.
- FERREIRA, F. A.; MILANI, D. **Diagnose visual e controle das doenças abióticas e bióticas do eucalipto no Brasil**. *International Paper*, 98p., 2002.
- FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; OLIVEIRAS, L. E. M. DE; PURCINO, A. A. C. **Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho**. *Ciência Rural*, v. 32, n. 1, p.13-17, 2002.
- FONSECA, C. E. L. da, & RIBEIRO, J. F. **Produção de mudas e crescimento inicial de espécies arbóreas**. In: Ribeiro, J. F., *Cerrado: Matas de Galeria*, EMBRAPA-CPAC, Planaltina. 164p., 1998.

FOYER, C. H.; VALADIER, MARIE-HÉLÈNE.; MIGGE, A.; BECKER, T. W. **Drought-induced effects on nitrate reductase activity and m RNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolim in maize leaves.** Plant Physiology, Rockville, v. 117, n. 1, p. 283-292, 1998.

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

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

GUY C.L. **Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein synthesis.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 41. p.187-223, 1990.

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

HARE, P. D., CRESS, W. A. **Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants.** Plant Growth Regulation 21:79-102, 1997.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A., ZHU, J.K.; BOHNERT, H.J. **Plant cellular and molecular responses to high salinity.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, v.51, p.463-499, 2000.

HOEKSTRA, F., GOLOVINA, E., J. BUITINK. **Mechanisms of plant desiccation tolerance.** Trends in Plant Sciences, 8(9). p.431-438, 2001.

HSU, S.Y., Y.T. HSU, C.H. KAO. **The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves.** Biol. Plant, 46: 73-78, 2003.

INGRAM, J., BARTELS, D. **The molecular basis of dehydration tolerance in plants.** Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47:377-403, 1996.

IQBAL N. M; ASHRAF, M.Y. **Glycinebetaine, an osmolyte of interest to improve water stress tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.): water relations and yield.** South African Journal of Botany 74: 274-281, 2008.

JORDAN, W. R. **Whole plant response to water deficits: an overview.** In: TAYLOR, H. M., JORDAN, W. R., SINCLAIR, T. R. Limitations to efficient water use in crop production, Madison: ASA/CSSA/SSA. p.289-317, 1983.

KAVI-KISHOR, P.B., S. SANGAM, R.N. AMRUTHA, P. SRI LAXMI, K.R. NAIDU, K.R.S.S. RAO, S. RAO, K.J. REDDY, P. **Theriappan and N. Sreeniv. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance.** Curr. Sci., 88(3): 424-438, 2005.

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.

KOYORO, H.W. **Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.).** Environmental and Experimental Botany, v.56, p.136-146, 2005.

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

LADYMAN, J. A.R., HITZ, W. D., & MSU-DOE, A. D. H. **Translocation and Metabolism of Glycine Betaine by Barley Plants in Relation to Water Stress.** Planta 150, p.191-196, 1980.

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 physiology behavior of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. under water stress during the vegetative phase.** Asian Journal of plant sciences. 7 (1): p. 44-49, 2008.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.** V.2. Nova Odessa: Plantarum. 381p., 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 3 ed. Nova Odessa: Plantarum. 352p., 2000.

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.** Ann. Bot. 76:51-57. 1995.

MARTIM, S. A. **Pulverização do cafeeiro com Açúcar: potencial de uso em mudas submetidas à deficiência hídrica e na recuperação de plantas atingidas por Glyphosate.** Dissertação – Universidade Federal de Lavras, MG. 67p., 2003.

MARUR, C. J.; MAZZAFERA, P.; MAGALHÃES, A. C. **Atividade da enzima redutase do nitrato em algodoeiro submetido ao déficit hídrico e posterior recuperação da turgescência.** Scientia Agricola, v.57, n.2, p.277-281, 2000.

McCREE, K.J.; KALLESEN, C.E.; RICHARDSON S.G. **Carbon balance of *Sorghum* plants during osmotic adjustment to water stress.** Plant Physiology, Bethesda, v.76, p.898-902, 1984.

McCUE, K.F.; HANSON, A.D. **Drought and salt tolerance: towards understanding and application.** Trends Biotechnology, v.8, p. 358-362, 1990.

MELO, M.G.G.; MENDES, A.M.S. **Jatobá (*Hymenaea courbari*) L.** Informativo Técnico. Rede de Sementes da Amazônia, n.9. 2p., 2006.

MITRA, J. **Genetics and genetic improvement of drought resistance of crop plants.** Current Science, v.80, p.758-763, 2001.

MOHAMMADKHANI, N. & HEIDARI, R. **Effects of Drought Stress on Soluble Proteins in two Maize Varieties.** Turk J Biol, 32, p.23-30, 2008.

MORAES, M. L. T.; MORAES, S. M. B.; POLIZELI, M. L. T. M.; SÁ, M. E.; SÁ, A. A. B. **Composição química de sementes de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*).** Informativo ABRATES, Londrina, v. 11, n. 2. 264p., 2001.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. **Tolerância a seca em plantas - Mecanismos fisiológicos e moleculares.** Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. n. 23, p.12-18, 2001.

NIR, I.; POLJAXOFF, A. M.; KLEIN, S. **The effect of water stress on the polysome population and the ability to incorporate amino acids in maize root tips.** Israel J. Bot. 19: 451-462, 1970.

- OLIVEIRA-NETO, C.F. **Crescimento, produção e comportamento fisiológico e bioquímico em plantas de sorgo (*sorghum bicolor* [L.] moench) submetidas à deficiência hídrica.** Dissertação – Universidade Federal Rural da Amazônia, p.114, 2008.
- OLIVEIRA, D. M. T. **Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de leguminosae.** Acta Botanica Brasilica, São Paulo, v. 13, n. 3, p.263-269, 1999.
- OLIVEIRA, E. R. N. **Respostas ao déficit hídrico de quatro leguminosas arbóreas, com uso potencial em sistema de corte e trituração.** Dissertação. Universidade Federal Rural da Amazônia. 58p., 2005.
- OLIVEIRA, L. J.; SILVA, S. M.; COSTA NETTO, A. P.; SILVA, S. M.; SIQUEIRA, F. M.; SILVA, M. **Características agronômicas e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Campomanesia* sp. sob estresse hídrico.** Revista Agrarian, v.4, n.11, p.43-53, 2011.
- 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.
- OZTURK, L. & Y. DEMIR. **In vivo and In vitro protective role of proline.** Plant Growth Regul., 38: 259-264, 2002.
- PARIDA, A. K.; DAGAONKAR, V. S.; PHALAK, M. S.; UMALKAR, G. V.; AURANGABADKAR, L. P. **Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery.** Plant Biotechnol Rep. 1:37-48, 2007.
- PENG, Z., LU, Q., VERMA, D. P. **Reciprocal regulation of γ -1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after osmotic stress in plants.** Molecular and General Genetics MGG. 253: 334-341, 1996.
- 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. 76p., 1989.
- PIMENTEL, C. **Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica.** Pesq. agropec. bras., Brasília, v.34, n.11, p.2021-2027, 1999.

PIMENTEL, C.; ROSSIELLO, R.O.P. **Entendimentos sobre relações hídricas na cultura do milho**. In: International symposium on environmental stress, 1992, Belo Horizonte. Maize in perspective: proceedings. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS. p.131-146, 1995.

PRAXEDES, S. C. **Efeito do déficit hídrico no metabolismo fotossintético de clones de *Coffea canephora* cv. Conilon com tolerância diferencial à seca**. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, MG, 2003.

PROENÇA, C. E. B.; MUNHOZ, C. B. R.; JORGE, C. L.; NÓBREGA, M. G. G. **Listagem e nível de proteção das espécies de fanerógamas do Distrito Federal, Brasil**. In: CAVALCANTI, T. B.; RAMOS, A. E. (Org.). Flora do Distrito Federal, Brasil. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. v. 1, p.89-359, 2001.

RABE, E. **Altered nitrogen metabolism under environmental stress conditions**. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). Handbook of plant and crop stress. New York: CRC. p.349-364, 1993.

RAMANJULU, S.; SUDHAKAR, C. **Drought tolerance is partly related to amino acid accumulation and ammonia assimilation: A comparative study in two mulberry genotypes differing in drought sensitivity**. Journal Plant Physiology, v.150, p.345-350, 1997.

RHODES, D.; HANSON, A.D. **Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants**. Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology, v.44, p.357-384, 1993.

RODRIGUES, B. M.; SOUZA, B. D.; NOGUEIRA, R. M.; SANTOS, M. G. **Tolerance to water deficit in young trees of jackfruit and sugar apple**. Revista Ciência Agronômica, v. 41, n. 2, p. 245-252, 2010.

RONDE, J.A., M.H. SPREETH, W.A. CRESS AND J.A. DE-RONDE, 2000. **Effect of antisense L- Δ 1-pyrroline-5-carboxylate reductase transgenic soybean plants subjected to osmotic and drought stresses**. Plant Growth Regulation, 2:13-26, 2000.

RONTEIN, D.; BASSET, G. HANSON, A.D. **Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants**. Metabolic Engineering. v.4, p.49-56, 2002.

ROSSIELLO, R.P.; FERNANDES, M.S.; MAZUR, N. **Effectos del dessecamento del suelo sobre el metabolismo de nitrogenio em tres cultivares de maiz (*Zea mays* L.)**. Turrialba, San José, v.31, p.227-235, 1981.

SAHSAH, Y.; CAMPOS, P.; GAREIL, M.; ZUILY-FODIL, A. T.; PHAM, T. **Enzymatic degradation of polar lipids in *Vigna unguiculata* leaves and influence of drought stress**. *Physiologia Plantarum*, v.104, p.577-586, 1998.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. **The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants**. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v.25, p.163-171, 2002.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. **The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants**. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v.25, p.163-171, 2002.

SARWAR, M. K. S., IHSAN ULLAH¹, MEHBOOB-URRAHMAN¹, M.YASIN ASHRAF² AND YUSUF ZAFAR¹. **Glycinebetaine accumulation and ts relation to yield and yield components in cotton genotypes grown under water deficit condition**. *Pak. J. Bot.*, 38(5): 1449-1456, 2006.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. **Osmolyte accumulation: Can it really help increase in crop yield under drought conditions?** *Plant Cell Environmental*. v.25, p.333-341, 2002.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. **Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant**. *Journal of Plant Physiology*, v. 162, n. 8, p.854-864, 2005.

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

SINGH, B. S. & USHA, K., **Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress**. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141, 2003.

SOUZA, J. G. DE, BELTRÃO, N. E. M.; SANTOS, J. W. **Fisiologia e produtividade do gergelim em solo com deficiência hídrica**. *Rev. ol. fibros.*, Campina Grande, v.4, n.3, p.163-168, 2000.

SOUZA, J. G.; BARREIRO NETO, M; SILVA, J. B. V.; GILES, J. A. **Velocidade de crescimento da raiz como parâmetro de resistência à seca no algodoeiro.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.18, n.2, p.169-172, 1983.

STEWART, C. R., S. F. BOGGESS, D. ASPINALL, L. G. **Inhibition of proline oxidation by water stress.** Plant Physiol. 59:930-932, 1977.

STREETER, J.G.; LOHNES, D.G.; FIORITTO, R.J. **Pattern of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance.** Plant Cell Environmental, v.24, p. 429-438, 2001.

SUSS, K.-H., YORDANOV, I. **Biosynthetic cause of in vivo acquired thermotolerance of photosynthetic light reactions and metabolic responses of chloroplasts to heat stress.** Plant Physiology 81, p.192-199, 1986.

TAIZ, L.; ZEIGER E. **Fisiologia vegetal.** 3ª ed. Artemed. 719p., 2004.

TAJI, T.; OHSUMI, C.; IUCHI, S.; SEKI, M.; KASUGA, M.; KOBAYASHI, M.; YAMAGUCHISHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. **Important roles of drought and cold inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in Arabidopsis thaliana.** Plant Journal, v.29, p.417-426, 2002.

TANKHA, K. & GUPTA, R.K. **Effect of water deficit and sulphur dioxide on total soluble proteins, nitrate reductase activity and free proline content in sunflower leaves.** Biologia Plantarum 34 (3-4):305-310, 1992.

TURNER, N.C. & JONES, M.M. 1980. **Turgor maintenance by osmotic adjustment: A review and evaluation.** In Adaptation on plants to water and high temperature stress (N.C. Turner & J.P. Kramer, eds.). Wiley Interscience, New York, p.87-103, 1980.

TURNER, N.C. **Further progress in crop water relations.** In Advances in agronomy (D.L. Sparks, ed.). Academic Press, New York, p.293-337, 1997.

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

WASSEN, M.J., PEETERS, W.H.M., VENTERINK, H.O. **Patterns in vegetation, hydrology, and nutrient availability in an undisturbed river floodplain in Poland.** *Plant Ecology*. 165, p.27–43, 2002.

ZAPPI, D. C.; LUCAS, E.; STANNARD, B. L.; LUGHADHA, E. N.; PIRANI, J. R.; QUEIROZ, L. P. de; ATKINS, S.; HIND, D. J. N.; GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; CARVALHO, A. M. de. **Lista das plantas vasculares de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.** *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, São Paulo*, v. 21, n. 2, p. 345- 398, 2003.

CONCLUSÕES GERAIS

Esses resultados parecem fornecer evidências da adaptação das plantas no desenvolvimento de processos contra condições ambientais desfavoráveis, sugerindo que o potencial hídrico, as trocas gasosas e o conteúdo dos solutos podem ser aumentados ou diminuídos em um processo maior de adaptação, principalmente para a espécie *H. stigonocarpa*.

Os resultados observados nesse estudo poderão ser utilizados como um dos critérios na seleção dessas espécies vegetais para a tolerância à seca. No entanto, há a necessidade de se estabelecer para a *H. stigonocarpa*, o nível de estresse a ser aplicado para que o comportamento fisiológico e bioquímico dessa espécie possa expressar um nível mais crítico.

ANEXOS

Anexo I. Respostas da atividade da redutase do nitrato (RN), carboidratos solúveis totais (C_{ST}), aminoácidos livres totais (AA_{LT}), prolina e glicina-betaína (GB) nas espécies *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. Plantas não estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas estressadas por 2 dias (RD2) e 4 dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Letras minúsculas comparam valores entre as linhas, enquanto que as maiúsculas comparam entre as colunas. As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ($P \leq 0.05$).

Espécie	Variável	E0	E13	E26	RD2	RD4
<i>H. courbaril</i>	RN ($\mu\text{mol de NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	1.43 ± 0.22 aA	1.40 ± 0.12 aA	0.62 ± 0.03 aD	0.85 ± 0.13 aC	1.07 ± 0.11 aB
<i>H. stigonocarpa</i>	RN ($\mu\text{mol de NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	0.85 ± 0.11 bA	0.79 ± 0.15 bAB	0.59 ± 0.13 aC	0.73 ± 0.11 bB	0.73 ± 0.09 bB
<i>H. courbaril</i>	AA _{LT} ($\mu\text{mol de AA} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	49.16 ± 2.8 aC	61.20 ± 1.4 aB	84.17 ± 3.12 aA	64.79 ± 4.15 aB	58.93 ± 3.77 aB
<i>H. stigonocarpa</i>	AA _{LT} ($\mu\text{mol de AA} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	35.70 ± 2.43 bD	48.19 ± 3.65 bBC	56.21 ± 2.27 bA	50.39 ± 3.65 bAB	41.70 ± 3.90 bCD
<i>H. courbaril</i>	GB ($\mu\text{g de glicina-betaína} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	8.22 ± 1.22 aE	12.36 ± 1.56 aC	16.85 ± 1.54 aA	14.25 ± 1.25 aB	10.46 ± 2.28 aD
<i>H. stigonocarpa</i>	GB ($\mu\text{g de glicina-betaína} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	5.50 ± 0.82 bD	7.45 ± 1.33 bBC	8.74 ± 1.38 bAB	9.50 ± 1.15 bA	6.25 ± 1.26 bCD
<i>H. courbaril</i>	C _{ST} (mmol de glicose $\cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	1.21 ± 0.14 aC	1.83 ± 0.22 aB	2.24 ± 0.13 bA	1.92 ± 0.15 aB	1.45 ± 0.25 aC
<i>H. stigonocarpa</i>	C _{ST} (mmol de glicose $\cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	1.05 ± 0.15 aC	1.67 ± 0.24 aB	2.78 ± 0.44 aA	1.86 ± 0.29 aB	1.12 ± 0.18 bC
<i>H. courbaril</i>	Prolina ($\mu\text{mol de prolina} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	1.87 ± 0.07 aC	3.29 ± 0.34 aB	4.88 ± 0.42 aA	3.24 ± 0.27 aB	2.19 ± 0.12 aC
<i>H. stigonocarpa</i>	Prolina ($\mu\text{mol de prolina} \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$)	1.32 ± 0.15 bC	2.25 ± 0.19 bB	3.52 ± 0.25 bA	2.48 ± 0.12 bB	1.65 ± 0.23 bC

Anexo II. Teste F da variável sacarose, amido e proteínas solúveis totais (P_{ST}) nos cinco tempos experimentais *courbaril* e *H. stigonocarpa* (F1).

Variável	F.V	F
sacarose	Espécie (F1)	151.77**
	Tempo (F2)	37.19**
	Int. F1xF2	1.69 ^{ns}
Amido	Espécie (F1)	18.71**
	Tempo (F2)	30.02**
	Int. F1xF2	1.23 ^{ns}
Proteína	Espécie (F1)	33.77**
	Tempo (F2)	14.10**
	Int. F1xF2	1.06 ^{ns}

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). ^{ns} não significativo ($p \geq 0.05$)

Anexo III. Teores de sacarose, amido e proteínas solúveis totais (P_{ST}) nos cinco tempos experimentais nas espécies de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa*. Plantas não estressadas (E0), plantas estressadas por 13 dias (E13), 26 dias (E26) e plantas reidratadas por 2 dias (RD2) e 4 dias (RD4). Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições.

Espécie	Variável	E0	E13	E26	RD2	RD4
<i>H. courbaril</i>	Sacarose (mg de sacarose.g ⁻¹ MS)	24.93 ± 0.97	27.65 ± 0.84	35.21 ± 1.31	33.13 ± 1.16	28.75 ± 0.99
<i>H. stigonocarpa</i>		18.65 ± 0.80	23.23 ± 0.92	27.01 ± 0.65	25.26 ± 1.25	22.88 ± 0.60
<i>H. courbaril</i>	Amido (mmol de GLU.g ⁻¹ de residuo)	0.27 ± 0.09	0.18 ± 0.19	0.15 ± 0.07	0.13 ± 0.06	0.19 ± 0.06
<i>H. stigonocarpa</i>		0.30 ± 0.06	0.23 ± 0.08	0.17 ± 0.06	0.16 ± 0.14	0.27 ± 0.09
<i>H. courbaril</i>	P_{st} (mg de proteína.g ⁻¹ MS)	2.40 ± 0.026	1.88 ± 0.011	1.76 ± 0.015	1.95 ± 0.007	2.24 ± 0.011
<i>H. stigonocarpa</i>		2.04 ± 0.016	1.71 ± 0.014	1.43 ± 0.012	1.71 ± 0.012	1.74 ± 0.010

Anexo IV. Concentração de sacarose, amido e proteínas solúveis totais (P_{ST}) em *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* em plantas estressadas e irrigadas. Os valores apresentados são as médias e erro padrão de todas as medições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Espécie	Variável	Irrigada	Estressada
<i>H. courbaril</i>	Sacarose (mg de sacarose.g ⁻¹ MS)	24.46 ± 1.10 aA	29.93 ± 1.30 aB
<i>H. stigonocarpa</i>		19.54 ± 1.59 bA	23.41 ± 1.12 bB
<i>H. courbaril</i>	Amido (mmol de GLU.g ⁻¹ de residuo)	0.29 ± 0.02 aA	0.19 ± 0.03 aB
<i>H. stigonocarpa</i>		0.30 ± 0.02 aA	0.22 ± 0.01 aB
<i>H. courbaril</i>	P_{st} (mg de proteína.g ⁻¹ MS)	2.65 ± 0.17 aA	2.05 ± 0.33 aB
<i>H. stigonocarpa</i>		2.10 ± 0.25 bA	1.72 ± 0.28 bB