

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ASSIMILAÇÃO DO NITRATO EM *Campomanesia* sp.
SUBMETIDA A DIFERENTES CONDIÇÕES DE
DISPONIBILIDADE HÍDRICA

Lucielle Januário de Oliveira

Tecnólogo em produção de grãos

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL
Agosto de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ASSIMILAÇÃO DO NITRATO EM *Campomanesia* sp.
SUBMETIDA A DIFERENTES CONDIÇÕES DE
DISPONIBILIDADE HÍDRICA

Lucielle Januário de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Samuel Mariano Gislon da Silva
Co - Orientador: Prof. Dr. Antonio Paulino Costa Netto

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás – UFG, Câmpus Jataí, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL
Agosto de 2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
BSCAJ/UFV**

O482a

Oliveira, Lucielle Januário de.

Assimilação do nitrato em *Campomanesia sp.* submetida a diferentes condições de disponibilidade hídrica [manuscrito] / Lucielle Januário de Oliveira. - 2010.

53 f. : figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Samuel Mariano Gislon da Silva; Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Paulino Costa Netto. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, 2010.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e tabelas.

Anexos.

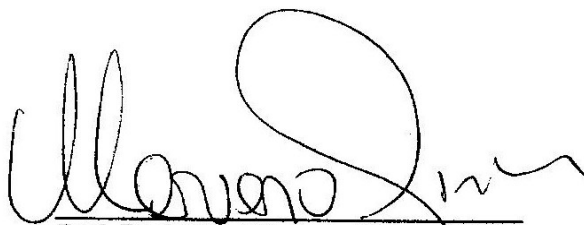
1. Gabiroba - *Campomanesia sp.* 2. Disponibilidade hídrica 3. Atividade enzimática 4. Enzima redutase 5. Nitrogênio I. Título.

CDU: 631.8

LUCIELLE JANUÁRIO DE OLIVEIRA

TÍTULO: “ASSIMILAÇÃO DO NITRATO EM *Campomanesia* sp SUBMETIDA A DIFERENTES CONDIÇÕES DE DISPONIBILIDADE HÍDRICA”

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 09 de agosto de 2010, pela Banca Examinadora constituída pelos membros:



Prof. Dr. Samuel Mariano Gislon da Silva
Presidente – CAJ/UFG



Prof. Dr. Antonio Paulino da Costa Neto
Membro – CAJ/UFG



Prof. Dr. Wendy Carmello Ferreira
Membro Externo – CAJ/UFG

Jataí - Goiás
Brasil

BIOGRAFIA

LUCIELLE JANUÁRIO DE OLIVEIRA – filha de Pedro Januário da Silva e Maria Lucia Oliveira de Siqueira, nascida em Ipameri (GO), em 14 de setembro de 1983. Concluiu o primeiro grau na Escola Estadual Polivalente “Dante Mosconi”, na cidade de Jataí (GO), em 1999 e o ensino médio no Colégio Estadual Nestório Ribeiro na cidade de Jataí (GO), em 2002. Em fevereiro de 2004, ingressou no Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde-GO, obtendo o título de tecnólogo em Produção de Grãos em fevereiro de 2007, tendo como título de monografia: Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem Rio Verde sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), sob orientação da Dra. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno e sob co-orientação do Dr. Adeney de Freitas Bueno.

Ingressou no Mestrado em Agronomia, área de concentração: Produção Vegetal, em Março de 2008, na Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí, obtendo o título de “Mestre” em Agosto de 2010, tendo como título de dissertação: Assimilação do nitrato em *campomanesia* sp. submetida a diferentes condições de disponibilidade hídrica, sob orientação do Professor Dr^o Samuel Mariano Gislon da Silva e sob co-orientação o Professor Dr^o Antonio Paulino Costa Netto.

A **Deus** pelo dom da vida, incomparável e infinita bondade, que plantou em mim um sonho que hoje se concretiza, por me carregar no colo e me dar forças para superar todos os obstáculos do meu caminho.

AGRADEÇO

Aos meus queridos irmãos **Luciene, Ueslei e Nathalia** pelo incentivo, força, paciência e principalmente pelo amor sincero que me ajudou a seguir em frente.

Ao **Diego** pela paciência, companheirismo e por estar sempre do meu lado me apoiando e em especial a nossa filha **Beatriz** que mesmo tão pequenina e capaz de nos mostrar o quanto o amor é grande e vale a pena.

OFEREÇO

Aos meus pais **Pedro e Maria Lucia**, que não mediram esforços para me guiar pelo melhor caminho possível, pelo constante exemplo de vida; por me ensinarem o valor do trabalho, da persistência e da honestidade; pelas tantas vezes que abriram mão de seus sonhos em favor dos meus; fica aqui a minha gratidão, o meu carinho, o amor que sinto por vocês

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Essa etapa que agora se encerra não teria se concretizado se não fosse o apoio e amizade de inúmeras pessoas.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal de Goiás-Campus Jataí, sua comissão de coordenação, seus professores, pelas oportunidades, ensinamentos e ajuda.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos para o curso de mestrado.

Aos professores Dr^o **Samuel Mariano Gislon da Silva** e Dr^o **Antonio Paulino Costa Netto**, pela orientação e paciência na elaboração deste trabalho, serei sempre agradecida por tudo.

A todos os meus familiares e em especial a minha amiga **Sueli** pela paciência, dedicação, amizade e principalmente pela ajuda na conclusão deste trabalho, espero ser merecedora de tanta confiança e amizade.

Aos meus amigos **Raquel, Jonathan, Joyce**, pelo amor, carinho, incentivo, amizade e pelas horas de descontração que me proporcionaram mais alegria durante toda a minha caminhada.

Aos amigos **Francys, Hellen, Kerley, Vânia e Betânia** pela amizade sincera, durante todas as minhas alegrias e pela força durante os momentos de dificuldade.

Aos amigos do Curso de Mestrado pelo companheirismo, carinho e convivência durante estes anos.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização desta etapa de minha vida.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1 – INTRODUÇÃO	07
2 – REVISÃO DE LITERATURA	09
2.1 – Aspectos relevantes da espécie <i>campomanesia sp</i>	09
2.2 – O nitrogênio no solo e na planta	10
2.3 – A assimilação do nitrogênio pelas plantas.....	11
2.4 – A Redutase do Nitrato	13
2.5 – Aspectos fisiológicos de tolerância a seca	15
2.6 – Anóxia e Hipóxia	17
3 – MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 – Localização do experimento.....	19
3.2 – Formação de mudas	19
3.3 – Obtenção do substrato	19
3.4 – Tratamento e condução do experimento.....	20
3.5 – Análises Morfológicas.....	21
3.5.1 – Altura de Planta.....	21
3.5.2 – Diâmetro médio do caule.....	21
3.5.3 – Número de folhas por planta	21
3.5.4 – Diâmetro da raiz principal	21
3.5.5 – Comprimento da Raiz	21
3.5.6 – Número de raízes secundárias.....	22
3.6 – Atividade da redutase do nitrato	22

3.7 – Delineamento estatístico	23
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 – Atividade de enzima redutase do nitrato no limbo foliar de plantas de gabiroba... ..	24
4.2 – Atividade de enzima redutase do nitrato nas raízes de plantas de gabiroba... ..	29
5 – CONCLUSÕES.....	32
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
7 – ANEXOS	40

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Modelo adaptado do dímero da redutase do nitrato indicando os três domínios de ligação, dos quais as seqüências de polipeptídeos são similares nos eucariontes: complexo molibdênio (CoMo), grupo heme e FAD. O nitrato é reduzido no complexo molibdênio próximo à região amino terminal. As seqüências dos polipeptídios nas regiões *hinge* são altamente variáveis entre as espécies.....

13

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Características químicas e físicas de um Latossolo Vermelho escuro distroférico utilizado no estudo.....	20
Tabela 2. Atividade da enzima redutase do nitrato ($\mu\text{moles NO}_2^- \text{ h}^{-1}\text{gmf}^{-1}$) em limbo foliar de <i>Campomanesia</i> sp. submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.....	27
Tabela 3. Características agronômicas de um sistema em hipóxia.....	28
Tabela 4. Características agronômicas de um sistema em capacidade de campo.....	28
Tabela 5. Características agronômicas de um sistema em déficit hídrico.....	28
Tabela 6. Atividade da enzima redutase do nitrato ($\mu\text{moles NO}_2^- \text{ h}^{-1}\text{gmf}^{-1}$) em raízes de plantas de <i>campomanesia</i> sp. submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.....	31

ASSIMILAÇÃO DO NITRATO EM CAMPOMANESIA SP. SUBMETIDO A DIFERENTES CONDIÇÕES DE DISPONIBILIDADE HÍDRICA.

RESUMO - A assimilação do nitrogênio em plantas é afetada pelo déficit hídrico e também pelo encharcamento do solo, sendo observadas reduções drásticas na atividade da enzima redutase do nitrato, a partir de pequenos decréscimos no potencial hídrico e na ausência de O₂ nos macro e microporos do solo. Neste contexto, objetivou – se neste trabalho avaliar a presença ou não da atividade redutase do nitrato em plantas de gabirola, assim como verificar os efeitos de diferentes disponibilidades hídricas no solo sobre a atividade desta enzima a fim de se verificar possíveis estratégias de sobrevivência. O experimento foi realizado em casa de vegetação. Constituído de três condições de disponibilidade hídrica: déficit hídrico, capacidade de campo e hipóxia e em sete tempos diferentes: tempo 0 (antes de submetidos os tratamento), 12 horas, 24 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas após a submissão dos tratamentos. A atividade da redutase do nitrato foi determinada na parte aérea e raízes de plantas utilizando o método *in vivo* que reflete a atividade potencial da redutase do nitrato *in situ*. Foram ainda avaliados características agrônômicas nos tratamentos estudados. As plantas de *Campomanesia sp.* apresentaram atividade da enzima redutase do nitrato em tecidos radiculares e foliares. A atividade da enzima redutase do nitrato é preponderantemente foliar. A disponibilidade de água afetou a atividade da enzima quando comparadas a condições normais de manejo. As plantas de *Campomanesia sp.* apresentaram maior tolerância de assimilação do nitrato em condições de seca quando comparadas a condições de alagamento.

Palavras-chave: Gabirola, Disponibilidade hídrica; atividade enzimática.

ASSIMILATION OF NITRATE IN CAMPOMANESIA SP. UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF WATER AVAILABILITY.

ABSTRACT - The assimilation of nitrogen in plants is affected by the drought and also by the waterlogged soil, and observed dramatic reductions in the activity of nitrate reductase, from small decreases in water potential and in the absence of oxygen in the soil macro and micropores. In this context, the objective of this work was to assess the presence or not of nitrate reductase activity in Gabiroba plant and to verify the effects of different water availability in the soil on the activity of this enzyme in order to verify the possible strategies for survival. The experiment was carried out under natural vegetation. Established and three conditions of water availability: water budget deficit, field capacity and hypoxia in seven different times (before undergoing treatments) 12 hours, 24 hours, 1 week, 3 weeks and 4 weeks after submission of the treatments. The activity of nitrate reductase was determined in shoots and roots of plants, using the *in vivo* that reflects and potential activity of nitrate reductase *in situ*. Plants were also evaluated agronomic traits in the studied treatments. Plants *Campomanesia* sp. present activity of nitrate reductase in leaf and root tissue. The activity of nitrate reductase is predominantly foliar. A availability of water affected the enzyme activity when compared to normal handling. Plants *Campomanesia* sp. showed greater tolerance of nitrate assimilation in drought conditions compared to conditions of flooding.

Keywords: Gabiroba, Water availability, enzyme activity.

1. INTRODUÇÃO

Apesar da escassa informação técnica disponível atualmente, o interesse no aproveitamento econômico das gabiobas é grande. Alguns fatores limitantes estão ligados à germinação de sementes, ao desenvolvimento das plântulas, à variabilidade de genótipos encontrados e à predação intensa de frutos (Carmona, 1994). Por isso, torna-se de grande importância estudos que visem o aumento da produtividade das chamadas “plantas nativas do cerrado”, em relação à disponibilidade de água no ambiente e conseqüentemente no aproveitamento dos elementos minerais essenciais disponíveis no solo.

O suprimento desses elementos minerais essenciais para as plantas e a adequada proporção entre eles são de fundamental importância na qualidade de frutos e órgãos assim como na produtividade. Dentre os elementos minerais essenciais, a disponibilidade do nitrogênio é um dos fatores mais importantes nos processos de crescimento e de desenvolvimento de plantas, se apresentando como o elemento mineral essencial de maior impacto para diversas características agronômicas de interesse.

O nitrogênio é o elemento mineral essencial exigido em maior quantidade referindo-se as exigências das culturas, o que se deve ao fato de estar envolvido nas principais reações bioquímicas em plantas e microrganismos, além de ser constituinte de vários compostos em plantas, destacando-se os aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos e clorofilas (Novais *et al.*, 2007).

As plantas de um modo geral são capazes de utilizar diversas formas de nitrogênio. A principal forma nitrogenada absorvida pelas plantas, independentemente da natureza química do nitrogênio aplicado no solo, é o nitrato. Mas, para que este possa ser utilizado, é necessário que seja reduzido a amônio, e então incorporado em compostos orgânicos.

A conversão do nitrato a amônio é constituída por duas etapas, sendo a primeira delas a redução do nitrato a nitrito, que é dependente da atividade da enzima redutase do nitrato, e a segunda etapa na conversão de nitrito a amônio, pela redutase do nitrito (Meguro & Magalhães, 1982). A redutase do nitrato é primeira enzima atuante na rota de assimilação e incorporação de nitrogênio

inorgânico em moléculas orgânicas complexas, assumindo função de extrema importância no metabolismo vegetal, sendo esta uma etapa limitante nesse processo (Donato *et al.*, 2004).

A assimilação do nitrogênio em plantas é afetada pelo déficit hídrico e também pelo encharcamento do solo, sendo observadas reduções drásticas na atividade da enzima redutase do nitrato, a partir de pequenos decréscimos no potencial hídrico e na ausência de O₂ nos macro e microporos do solo (Sinha & Nicholas, 1981 e Botrel *et al.*, 2000). É neste contexto que as enzimas envolvidas na incorporação de amônio a compostos orgânicos, os quais podem agir como precursores para diferentes metabólitos, podem ter importante papel na sobrevivência de plantas durante esse tipo de estresse (Ferreira *et al.*, 2002).

Neste contexto, este trabalho objetivou avaliar a presença ou não da atividade redutase do nitrato em plantas de gabioba, assim como verificar os efeitos de diferentes disponibilidades hídricas no solo sobre a atividade desta enzima a fim de se verificar possíveis estratégias de sobrevivência.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos relevantes da espécie *Campomanesia* sp.

O gênero *Campomanesia* sp é popularmente conhecida como gabiroba, guabiroba, guabiroba-do-campo, guariroba ou guavira. Pertence à família Myrtaceae, a qual inclui cerca de 130 gêneros e 4000 espécies que se distribuem nas regiões pantropicais e subtropicais (Souza e Lorenzzi, 2005).

A planta é um arbusto de 0,3 até 2 metros de altura e ramos amarelados. As folhas são opostas, simples, inteiras com pontuações translúcidas, ápice agudo, base obtusa, membranáceas, levemente avermelhadas quando novas; coriáceas, oblongas com face ventral pruinosa e dorsal amarelada, quando adultas. As Flores são axilares isoladas, pedicelos glabros; brancas; pentâmeras; dialipétalas; sépalas triangulares, agudas, ciliadas; pétalas ovais, conchiformes; androceu com muitos estames, anteras pequenas, rimosas; ovário ínfero, placentação axial, estigma captado. Os frutos são globosos, bacáceos de 2,0 a 2,5 cm de diâmetro com 6 lóculos; polpa amarelada quando madura. Sementes pequenas, discóides, reniformes e pardas (Ferreira, 1972).

Tem ocorrência no cerrado, cerradão e campo sujo (Silva et al., 2001). É uma planta de ampla distribuição, podendo ser encontrada nos estados de São Paulo, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito Federal, Bahia, Minas Gerais e Santa Catarina, chegando às regiões adjacentes da Argentina e do Paraguai (Legrand e Klein, 1977).

É uma planta caducifólia sendo que o florescimento ocorre de modo bem intenso, por um curto período de tempo (Almeida *et al.*, 1998), de agosto a novembro, com pico em setembro. Frutifica de setembro a novembro (Silva *et al.*, 2001).

As espécies de *Campomanesia* têm importância econômica bastante diversificada. Seus frutos podem ser consumidos “in natura” e na forma de doces, sorvetes, refrescos e, muitas vezes, como flavorizantes em destilados alcoólicos

devido aos seus atributos de qualidade como: elevada acidez, ácido ascórbico (vitamina C), minerais, fibras alimentares e hidrocarbonetos monoterpênicos (α -pineno, limoneno e β -(z) ocimeno), presentes em maior quantidade no óleo volátil dos frutos, e que lhes conferem o aroma cítrico (Vallilo *et al.*, 2006).

O conhecimento a respeito da planta é importante para sua inserção no mercado consumidor, preservação em seu estado natural e implantação de futuras lavouras comerciais. Sua presença marcante nas áreas de cerrado faz com que sejam extremamente importantes para o reflorestamento e recuperação de áreas devastadas nessa região.

2.2 O nitrogênio no solo e na planta

O nitrogênio é considerado um dos elementos minerais essenciais que causam maior impacto no desenvolvimento e produtividade, das plantas e, conseqüentemente, aumenta os índices de qualidade dos produtos agrícolas (Viana, 2007).

A adição do nitrogênio ao solo pode ocorrer na forma de fertilizantes minerais e orgânicos, por meio da água da chuva e pela fixação biológica (Malavolta, 2006). Esse nutriente está sujeito a um grande número de processos, principalmente as transformações de formas orgânicas em inorgânicas e vice-versa, podendo resultar em ganhos ou perdas do sistema como um todo (Havlin *et al.*, 2005).

A maioria dos solos, cerca de 5% do nitrogênio total, está na forma mineral, sendo essa a principal forma absorvida pelas plantas. A reserva de nitrogênio no solo é principalmente orgânica, estando sujeita às transformações que determinarão as relações de equilíbrio entre nitrogênio orgânico e mineral, em função do comportamento do NO_3^- e NH_4^+ como íons no solo e das necessidades de plantas e microorganismos (Ceretta & Fries, 1998).

As plantas absorvem nitrogênio do solo na forma de nitrato, amônio, uréia e aminoácidos, prevalecendo o nitrato em grande parte dos solos por ser o produto final da utilização microbiológica do nitrogênio amoniacal, onde bactérias quimiossintetizantes dos gêneros *Nitrossomonas* e *Nitrobacter* que oxidam a amônia e utilizam os elétrons removidos no seu metabolismo (Willians & Miller, 2001).

O solo possui carga elétrica líquida negativa. Desta forma, o nitrato não se liga eletrostaticamente a esta matriz, sendo facilmente lixiviado quando não absorvido pelos vegetais. Em condições especiais de solo que inibem a atividade metabólica destas bactérias quimiossintetizantes, tais como anóxia (ausência de oxigênio), alta concentração de compostos fenólicos e alta acidez. O nitrogênio fixado disponível preponderante é a amônia que em ambientes básicos volatiliza-se, sendo perdida para a atmosfera. Inversamente, em ambientes ácidos, mantém-se na forma protonada, podendo interagir com os colóides do solo (Camargos, 2007).

Na planta, quase todo o nitrogênio se encontra em formas orgânicas representadas em maior proporção por aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos. Em condições de alta assimilação desse elemento mineral essencial, se observa um aumento de área foliar que conseqüentemente altera a curvatura das folhas e interfere na interceptação da luz (Marschner, 1995). Esse elemento mineral essencial é ainda responsável pela taxa de crescimento vegetal, refletindo no índice de área foliar, na produção de gemas vegetativas, no perfilhamento e no teor de proteína dos grãos (Malavolta, 2006).

No manejo do nitrogênio em sistemas agrícolas, devem-se considerar também os riscos ao ambiente, uma vez que este nutriente está sujeito a elevadas perdas por erosão, lixiviação, desnitrificação e volatilização. Desta forma, o manejo ideal da adubação nitrogenada deve ser definido como sendo aquele que permite satisfazer a necessidade da cultura, mas com o mínimo de risco ao ambiente (Fernandes, 2006).

2.3 A assimilação do nitrogênio pelas plantas

O nitrogênio é considerado um elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas e inúmeras enzimas (Miflin & Lea, 1976).

A maior parte do nitrogênio é absorvida pelas plantas na forma de nitrato. Após a sua absorção, para que ele possa ser utilizado pelas plantas é necessário que este seja reduzido a amônio, e então incorporado em compostos orgânicos (Batista, 2002).

De forma geral, o nitrato absorvido pelas raízes pode ser assimilado nesses órgãos ou nos órgãos aéreos, dependendo da sua disponibilidade e da espécie vegetal. No processo de assimilação, o nitrato é reduzido a nitrito no citosol pela enzima redutase do nitrato; posteriormente, o nitrito é reduzido a amônio nos plastídeos da raiz ou nos cloroplastos das folhas pela enzima redutase do nitrito (Tischner, 2000). O amônio absorvido pela raiz ou produzido por assimilação do nitrato, ou ainda originário da fotorrespiração, é convertido nos aminoácidos glutamina e glutamato pela ação seqüencial das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintase, localizadas no citosol e nos plastídeos das raízes ou nos cloroplastídeos (Becker *et al.*, 1993). Os aminoácidos gerados pela ação dessas enzimas por sua vez servem de substrato para reações de transaminação, para a produção de todos os outros aminoácidos necessários à síntese de proteínas (Taiz e Zeiger, 2004).

O transporte e a assimilação do nitrato são diretamente regulados por variações na concentração de glutamina (Gojon *et al.*, 1998) ou, ainda, pelo incremento na concentração total de aminoácidos solúveis que não o acúmulo de um aminoácido específico (Barneix & Causin, 1996). O incremento na concentração de CO₂ atmosférico também afeta o metabolismo de nitrato, assim como, a temperatura radicular afeta a absorção e o transporte.

A taxa e a quantidade de nitrogênio assimilado pelas plantas durante o seu ciclo dependem da atividade das enzimas envolvidas no ciclo do nitrogênio e da disponibilidade de energia necessária para os processos de assimilação (Bredemeier & Mundstock, 2000).

A assimilação do nitrogênio é considerada um processo dispendioso energeticamente às plantas, razão porque ocorre predominantemente nas folhas, centro de síntese de ATP e agentes redutores. O processo de incorporação do nitrogênio compete com a fotossíntese por massa e energia, consumindo 12 ATPs para cada nitrogênio assimilado pela planta (Blomm *et al.*, 1992).

A via de assimilação do nitrato é um processo biológico essencial, por ser a principal rota pela qual o nitrogênio inorgânico é incorporado em compostos orgânicos. Assim a atuação da redutase do nitrato é de suma relevância na incorporação de nitrogênio inorgânico em moléculas orgânicas complexas como

aminoácidos e nucleotídeos, sendo a etapa limitante nesse processo (Beevers *et al.*, 1965).

2.4 A Redutase do Nitrato

A transformação de nitrato em aminoácidos é controlada pela atividade da redutase do nitrato pelo fato de ser a primeira enzima no caminho metabólico.

A redutase do nitrato é uma enzima chave no processo de assimilação de nitrato pelas plantas (Campbell, 2001). Essa enzima é uma flavoproteína formada por duas subunidades idênticas, com três grupos: FAD (flavina adenina dinucleotídeo); grupo heme e um complexo constituído entre o molibdênio (Mo) e uma molécula orgânica, a pterina, razão porque é, também, denominada uma molibdopterina (Taiz & Zeiger, 2004).

O NADH liga-se ao FAD de cada subunidade e inicia a transferência de dois elétrons a partir do grupo carboxil terminal (C terminal) até o grupo amino terminal (N terminal). Os elétrons atravessam o grupo heme e chegam ao complexo molibdênio, onde ocorre a redução do nitrato à nitrito, como pode ser observado na figura abaixo.

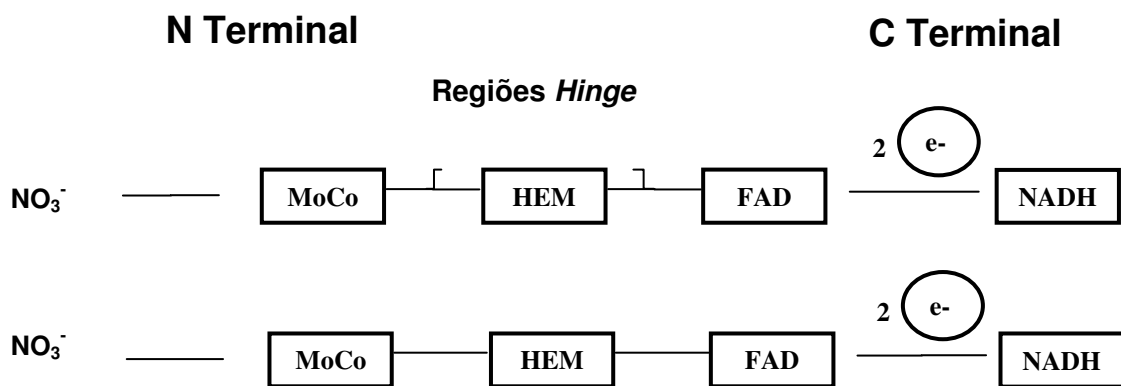


Figura 1: Modelo adaptado do dîmero da redutase do nitrato indicando os três domínios de ligação, dos quais as seqüências de polipeptídeos são similares nos eucariontes: complexo molibdênio (CoMo), grupo heme e FAD. O nitrato é reduzido no complexo molibdênio próximo à região amino terminal. As seqüências dos polipeptídios nas regiões *hinge* são altamente variáveis entre as espécies.

A enzima redutase do nitrato é relativamente instável tanto “in vitro” como “in vivo”, e especialmente sensível quando submetidas a condições extremas de disponibilidade de água e temperatura (Batista, 2002).

O nitrito produzido pela atividade da redutase do nitrato é tóxico para a célula e para evitar seu acúmulo, a expressão e a atividade da redutase do nitrato são fortemente reguladas por diversos fatores. Entre eles estão o nitrato, a luz, os carboidratos, que atuam em nível de transcrição e tradução (Taiz & Zeiger, 2004).

A capacidade total de redução do nitrato pelas plantas depende da disponibilidade do substrato no citoplasma do nível de redutase do nitrato funcional e da intensidade da redutase do nitrato funcional (Andrade Netto, 2005). Cada processo é regulado direta ou indiretamente e a capacidade de redução do nitrato é controlada em relação ao nível metabólico total da planta, por mensageiros secundários e rotas de transdução de sinais (Campbell, 1999).

A quantidade de glutamina livre e sua incorporação em relação ao glutamato disponível, assim como os teores de nitrato, são provavelmente os metabólitos chaves que governam a capacidade de redução do nitrato na planta como descrito por Crawford (1995).

Em condições de baixo teor de glutamina e disponibilidade de nitrato, a intensidade da redutase do nitrato e a capacidade de redução de nitrogênio aumentam, enquanto que quantidades elevadas de glutamina diminuem a redução do nitrato e decrescem a atividade da redutase do nitrato. O teor de equilíbrio da enzima é determinado pela taxa de sua degradação, assim como, pela taxa de síntese da mesma (Andrade Netto, 2005). A meia vida de uma proteína recém sintetizada é de poucas horas na célula e quando a quantidade de nitrato diminui o teor da enzima é rapidamente reduzido (Taiz & Zeiger, 1998).

A relação próxima entre regulação da redutase do nitrato e a fotossíntese pode ser importante para evitar o acúmulo de nitrito. A redução de nitrito a amônio utiliza a ferredoxina reduzida, um produto da fotossíntese. Uma abrupta parada ou diminuição da fotossíntese poderia gerar acúmulo de nitrito se a atividade da redutase do nitrato não fosse regulada (Lillo *et al.*, 2003). Provavelmente os fotoassimilados exportados para fora dos cloroplastídeos funcionam como sinalizadores capazes de ativar a redutase do nitrato.

A quantidade de nitrogênio assimilada varia durante o ciclo de desenvolvimento da planta. Normalmente, essa quantidade aumenta durante o período de crescimento vegetativo, atingindo o máximo nos estádios reprodutivos e reduzindo na fase de enchimento dos grãos (Cregan & Berkum, 1984).

O mecanismo segundo o qual o nível de aminoácidos no floema da raiz regula a absorção e a assimilação de nitrogênio pela planta foi sugerido por Imsande & Touraine (1994), embasado na constatação de que, durante o rápido crescimento vegetativo, são altas as taxas de redução de nitrato e síntese de aminoácidos nas folhas. Ali mesmo é utilizada a maioria dos aminoácidos para a síntese de clorofila, rubisco e outras proteínas e, com isso, é baixo o nível de aminoácidos no floema que entra nas raízes.

Por outro lado, durante a fase reprodutiva se observa uma diminuição na taxa de redução de nitrato, em paralelo, em função da remobilização do nitrogênio foliar para o desenvolvimento das inflorescências, se observa um aumento da exportação de aminoácidos das folhas, enriquecendo, com esses compostos, o floema que entra nas raízes.

Este mecanismo sugere que esses aminoácidos provocam uma redução na taxa de absorção de nitrato. Provavelmente, os altos níveis de aminoácidos nas raízes inibem a ação dos transportadores de nitrato na membrana e síntese da reductase do nitrato (Bredemeier & Mundstock, 2000).

2.5 Aspectos fisiológicos de tolerância a seca

O estresse é considerado um fator externo, que exerce influência desvantajosa sobre a planta e induz respostas em todos os níveis funcionais do organismo. Em condições naturais e agricultáveis, as plantas estão freqüentemente expostas aos estresses ambientais, os quais limitam o desenvolvimento e as chances de sobrevivência (Alexieva *et al.*, 2003).

Dentre os diferentes tipos de estresses ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a deficiência hídrica constitui uma das mais importantes limitações à produtividade e à distribuição dos vegetais,

apresentando influência negativa em mais de 10% das áreas agrícolas do globo terrestre (Bartels & Sunkar, 2005).

Em condições de estresse hídrico, vários processos fisiológicos são alterados, tais como: fotossíntese, respiração, transpiração, abertura estomática, produção de ácido abscísico, abscisão foliar e ajuste osmótico (Marin *et al.*, 2006). Além disso, a deficiência hídrica provoca severos danos no crescimento vegetal, através, primordialmente, da diminuição da expansão celular. De fato, é indiscutível a importância da água para o crescimento, devido à turgidez celular ocasionada pelo influxo de água no vacúolo, quando os hormônios do crescimento vegetal (auxinas ou giberelinas) estão promovendo o alongamento celular (Taiz & Zeiger, 2004).

Como a água é limitante para o crescimento e fundamental para a fotossíntese, a produtividade das plantas depende da quantidade disponível deste recurso e da eficiência de seu uso pelo vegetal. A diminuição da disponibilidade hídrica do solo provoca redução do alongamento celular, e conseqüentemente, do consumo de carbono e energia, sendo uma maior proporção de fotoassimilados distribuída ao sistema radicular, diminuindo dessa forma a razão parte aérea/raiz das plantas, provavelmente, porque em condições de deficiência hídrica, o sistema radicular tende a se desenvolver até que sua necessidade em fotoassimilados seja igual à quantidade que é produzida na parte aérea (Taiz & Zeiger, 2004).

Em condições de estresse hídrico, o metabolismo de aminoácidos é amplamente alterado, sendo a síntese de proteínas diminuída e a proteólise aumentada (Sodek, 2004). Como conseqüência, ocorre à indução da biossíntese de prolina promovida pelo incremento de metabólitos como poliaminas, amônia, arginina, ornitina, glutamina e glutamato (Silveira *et al.*, 2002). O aumento dos teores de prolina pode ativar várias funções celulares: ajustamento osmótico reserva de carbono e nitrogênio utilizado no crescimento para restabelecimento após estresse, desintoxicação do excesso de amônio, estabilizador de proteínas e membranas e eliminadores de radicais livres (Kavi Kishor *et al.*, 2005).

Além disso, o estresse hídrico provoca ainda reduções drásticas na atividade de reductase de nitrato já a partir de pequenos decréscimos no potencial da água (Sinha & Nicholas, 1981). A tolerância ao déficit hídrico é uma característica muito

importante em qualquer cultivo principalmente de plantas nativas onde o processo de seleção natural ainda se encontra em andamento.

2.6 Anóxia e Hipóxia

Em condições normais, o sistema radicular está em contato com o oxigênio com uma pressão parcial equivalente à atmosfera gasosa. A redução desse gás no solo resulta em hipóxia (baixa concentração de oxigênio) ou anóxia (ausência de oxigênio) (Sairam *et al.*, 2008).

A pressão crítica de O₂ ocorre quando a concentração de O₂ está baixa e as taxas de ATP/ADP começaram a declinar (Waters *et al.*, 1991), que indica a restrição da fosforilação oxidativa. Isso caracteriza condições de hipóxia ou anóxia em torno das raízes, que é o principal determinante dos efeitos adversos do alagamento (Dennis *et al.*, 2000).

Na hipóxia, a pressão parcial de O₂ limita a produção de ATP pela mitocôndria e a anóxia acontece quando a produção de ATP pela fosforilação oxidativa é desprezível, em relação ao ATP gerado pela glicólise e fermentação (Drew, 1997).

O oxigênio é vital no fornecimento de energia para as vias celulares, e sua presença ou ausência determina a atividade metabólica e produção de energia. Ele serve como um aceptor de elétrons na fosforilação oxidativa que regenera o ATP, principal fonte de energia para o metabolismo celular, através da regeneração do NAD⁺ reduzindo o NADH, viabilizando o poder de sustentação das vias bioquímicas (Dennis *et al.*, 2000). Sem O₂, a respiração mitocondrial cessa por falta de um aceptor de elétron.

A diminuição na produção de ATP sob anóxia é refletida na falência da germinação ou crescimento, e um declínio na integridade do tecido em direção à morte (Fox *et al.*, 1994). Já a hipóxia acarreta uma série de modificações morfológicas como, por exemplo, a formação de aerênquima, lenticelas, raízes adventícias e pneumatóforos (Thomas, 2004) além de adaptações metabólicas nas plantas como a expressão gênica de genes da enzima LDH (Lactato Desidrogenase) e ADH (Álcool Desidrogenase) regulados por variações endógenas de pH entre outros (Sousa, 2001; Sousa & Sodek, 2002; Sousa & Sodek, 2003).

Portanto, uma pressão crítica de O₂ ocorre quando a concentração de O₂ está baixa e as taxas de ATP/ADP começaram a declinar (Waters *et al.*, 1991), o que indica uma restrição da fosforilação oxidativa caracterizando condições de hipóxia ou anóxia em torno das raízes, e determinando efeitos adversos no desenvolvimento vegetal (Dennis *et al.*, 2000).

Quando um tecido está sob condições de anóxia, a via de utilização do nitrato é parcialmente ou completamente interrompida no passo da nitrito redutase (Lee, 1978, 1979; Botrel *et al.*, 1996), pois, por algum motivo desconhecido, a redução de nitrito necessita de oxigênio (Aslam *et al.*, 1979). Isso resulta no aumento da concentração do nitrito intracelular associado também a uma liberação do mesmo no meio (Ferrari & Varmer, 1971; Lee, 1979; Glaab & Kaiser, 1993).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do experimento

A condução do experimento ocorreu entre os meses de Janeiro e Fevereiro de 2010, em casa de vegetação localizada no Campus Jataí da Universidade federal de Goiás (UFG), no município de Jataí, GO, a 17°52'53" de latitude Sul e 51°42'52" de longitude Oeste e 696 metros de altitude, com temperatura média anual entre 23 e 26°C.

3.2 Formação das mudas

Para a formação das mudas foram coletadas sementes de Gabiroba na região de cerrado do município de Jataí. Depois de germinadas, as mudas foram introduzidas em sacos plásticos e mantidas em viveiro. Após o estabelecimento das mudas, essas foram transplantadas para vasos de capacidade de 5,0L, sendo irrigadas periodicamente com a finalidade de mantê-las sem estresse hídrico durante o período de adaptação.

3.3 Obtenção do substrato

O solo utilizado no estudo foi um Latossolo Vermelho escuro distroférico, coletado em solo de horizonte B no próprio Campus, apresentando as seguintes características químicas e físicas: (Tabela 1). Depois de peneirado, o solo foi seco e homogeneizado, recebendo calagem com calcário filler na proporção de 615 mg kg⁻¹ de solo seco para correção e elevação da saturação de bases para 50%, conforme utilizado para as mudas de gabiroba. Após a calagem, este ficou incubado por 20 dias sendo umedecido constantemente.

Tabela 1: Características químicas e físicas de um Latossolo Vermelho escuro distroférico utilizado no estudo.

pH CaCl	M.O	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	S.B	CTC
	(g dm ⁻³)	----(mg dm ⁻³)----		-----c mol _c dm ⁻³ -----					
5,0	21,7	0,2	21	0,3	0,1	2,9	0,03	13,4	3,4

3.4 Tratamentos e condução do experimento

Após o transplante das mudas para os vasos, as mesmas foram mantidas em casa de vegetação, onde permaneceram por aproximadamente 30 dias em período de adaptação.

Com a morte de seis plântulas no período de adaptação, novas mudas de gabioba foram transplantadas para os vasos. Estas mudas tinham idade maior do que as mudas anteriormente utilizadas e foram distribuídas igualmente em cada bloco diminuindo a variabilidade do tratamento.

Os tratamentos foram constituídos de três condições de disponibilidade hídrica (déficit hídrico, capacidade de campo e hipóxia); em sete tempos diferentes: (tempo 0; 12 horas, 24 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas).

No tratamento de hipóxia as plantas foram colocadas dentro de vasos de maior capacidade contendo água, mantendo-se uma lamina d' água com 2 cm de forma que a água deste vaso era repostada diariamente.

No tratamento de déficit hídrico não houve rega nas plantas até o final do experimento.

No tratamento, capacidade de campo, as plantas foram irrigadas diariamente com de acordo com a evaporação de água diária do tanque classe A, da Estação Meteorológica da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Campus Jataí.

3.5 Análises morfológicas

O crescimento vegetativo das plantas foi analisado mediante a determinação das variáveis: altura de plantas, diâmetro de caule, número de folhas por planta, diâmetro da raiz principal, comprimento da raiz e número de raízes secundárias.

3.5.1 Altura de planta

A altura (cm) das plantas foi mensurada utilizando uma fita métrica milimetrada entre a superfície do solo a inserção do último par de folhas expandida.

3.5.2 Diâmetro médio do caule

Mensurado com o auxílio de um paquímetro, cada valor da escala correspondeu a um diâmetro (mm). A medição foi realizada na base dos ramos ortotrópicos (principal) na altura do terço médio.

3.5.3 Número de folhas por planta

O número de folhas foi avaliado por contagem manual das folhas de cada planta, desconsiderando-se as folhas senescentes da parte basal.

3.5.4 Diâmetro da raiz principal

O diâmetro da raiz (mm) foi mensurado utilizando paquímetro (mm), obtendo as medidas logo abaixo na região do colo.

3.5.5 Comprimento da Raiz

O comprimento (cm) da raiz foi medido utilizando uma fita métrica milimetrada entre a região do colo da planta até o último segmento de raiz.

3.5.6 Número de raízes secundárias

O número de raízes secundárias foi contado utilizando o método de contagem manual, na região da raiz primária.

3.6 Atividade da redutase do nitrato

A atividade da enzima redutase do nitrato em tecidos radiculares e foliares de gabioba, foi mensurada no Laboratório de Bioquímica de Plantas, na Universidade Federal de Goiás (UFG) Campus Jataí, nos meses de janeiro e fevereiro de 2010.

A atividade da enzima redutase do nitrato foi estimada, "*in vivo*", utilizando-se o método descrito por Klepper *et al.*, (1971), modificado por Meguro & Magalhães (1982), que baseia-se no princípio de que a quantidade de nitrito liberada por fragmentos de tecidos vivos num tampão na presença de uma agente permanente (propanol) e do substrato (nitrato) reflete a atividade potencial da enzima nitrato redutase (Hageman & Reed, 1980). A atividade da enzima é calculada pela quantidade de nitrito liberado pelos tecidos vegetais na solução de incubação, sendo expressa em $\mu\text{moles NO}_2^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gmf}^{-1}$ (micromoles de nitrito por hora por grama de matéria fresca).

O material vegetal foi coletado sempre entre 10 e 12 horas, período em que as plantas receberam pelo menos três horas de sol e a redutase do nitrato já tinha atingido sua máxima atividade (Hageman & Reed, 1980).

Após chegarem ao laboratório as folhas foram lavadas com água destilada, secas em papel toalha e em seguida cortadas rapidamente com uma tesoura cirúrgica de modo a obter 0,2 g de amostra de matéria fresca.

As amostras em duplicata dos fragmentos de tecidos foliares foram incubados em frasco de vidro contendo em 5 ml^{-1} de solução tampão fosfato de potássio ($\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,1M), nitrato de potássio (KNO_3 0,2 M) e n-propanol (1% v/v), pH 7,0 e submetidos a vácuo durante dois minutos por duas vezes consecutivas e posterior transferência para a incubadora a 33°C em ausência de luz. Após 60 minutos, foram retiradas alíquotas de $1,0 \text{ ml}^{-1}$ do meio de reação, as quais foram transferidas para tubos de ensaio contendo $1,0 \text{ ml}^{-1}$ de n-naftiletileno diamino

bicloridrato 0,01 % (m/v) e $1,0 \text{ ml}^{-1}$ de sulfanilamida 0,1% em ácido clorídrico 3,0 N, para a determinação colorimétrica do nitrito.

Os tubos foram agitados (agitador tipo vortex) e deixados em repouso por 15 minutos para desenvolvimento da cor. As leituras de densidade óptica foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm, sendo a quantidade de nitrito calculada utilizando reta padrão de nitrito de sódio (anexo 1).

A análise da enzima redutase do nitrato foi realizada nos dias 12/01, 13/01, 14/01, 21/01, 28/01, 04/02 e 11/02 do ano de 2010, onde as temperaturas médias foram respectivamente: 23,0; 24,4; 24,3; 24,1; 25,2; 26,0 e 23,6 °C.

Os padrões para confecção da reta padrão foram preparados com um dia de antecedência.

3.7 Delineamento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos inteiramente casualizados. Os resultados obtidos foram submetidos aos testes de médias pelo uso do software SAEG 9.1 (Saeg, 2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade da enzima redutase do nitrato no limbo foliar de plantas de gabioba

A atividade enzimática da redutase do nitrato em plantas de *Campomanesia* sp. variou de 19,20 a 1447,86 $\mu\text{moles NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ gm}^{-1}$ no limbo foliar no estudo realizado (Tabela 2). Sendo que foram observados diferentes comportamentos na atividade da enzima redutase do nitrato quanto aos tratamentos.

Em condições de hipóxia, onde as plantas ficaram com as raízes submersas durante todo o período, a atividade enzimática sofreu variação em decorrência da diminuição da disponibilidade de O_2 no meio, sendo constatado um ligeiro aumento após 12 horas, seguido de uma diminuição progressiva de 1,73 vezes em 24 horas e 1,4 em uma semana, respectivamente. Após esse período as plantas desse tratamento não toleraram a presença do estresse e morreram.

Esses resultados corroboram com descrições anteriores encontradas na literatura, pois quando um tecido se encontra sob condições de baixa disponibilidade de O_2 a via de utilização do nitrato é parcialmente ou completamente interrompida no passo da nitrito redutase (Lee, 1978, 1979; Botrel *et al.*, 1996), pois, por algum motivo desconhecido, a redução de nitrito necessita de oxigênio (Aslam *et al.*, 1979), resultando no aumento da concentração do nitrito intracelular, associado a uma liberação do mesmo no meio (Ferrari & Varmer, 1971; Lee, 1979; Glaab & Kaiser, 1993), que por ser tóxico pode levar os tecidos à morte celular.

Esse fato pode ser explicado devido à ação da hipóxia na limitação da produção de ATP pela mitocôndria, quando a biossíntese de ATP pela fosforilação oxidativa se torna desprezível em relação ao ATP gerado pela glicólise e fermentação (Drew, 1997). Com isso o consumo de glicose aumenta significativamente depletando às reservas de carboidratos dos tecidos vegetais.

Também foi possível observar que uma diminuição do número de folhas até a primeira semana (de 31,66 para 15,33), assim como a altura das plantas (de 35 cm para 22,33 cm), diâmetro da raiz principal (de 7,89 mm para 3,79 mm) e do

comprimento da raiz principal (de 3,66 cm para 1,00 cm). Já o número do diâmetro do caule (de 3,00 mm para 1,00 mm) e de raízes secundárias foi pouco alterado (de 69,66 para 56,33), como descrito na Tabela 3. Na segunda semana de avaliação, foi possível observar que a distribuição de fitomassa entre raiz e parte aérea foi ainda mais alterada, principalmente pelo aumento do número de raízes secundárias (de 56,33 para 77,33), sendo mantidos os demais parâmetros de estudo sem grandes alterações.

Assim, esses resultados também corroboram com descrições anteriores encontradas na literatura, pois houve diminuição da taxa de crescimento relativo da raiz e do caule das plantas de *Cecropia pachystachya* cultivadas em solo alagado (Batista *et al.*, 2008). A diminuição do crescimento de alguns órgãos, durante o alagamento, pode ser uma estratégia para economizar energia e manter um funcionamento mínimo do metabolismo nas regiões mais afetadas pela hipóxia (Wiedenroth, 1993 e Armstrong *et al.*, 1994).

No tratamento da capacidade de campo onde as plantas foram irrigadas diariamente, observou-se que as plantas apresentaram de maneira geral, no limbo foliar um aumento progressivo na atividade enzimática no limbo foliar, sendo que estas plantas permaneceram vigorosas até o final do experimento.

Esse aumento pode ser caracterizado em três momentos, o primeiro durante as 24 horas iniciais na condução do ensaio, quando foi observado um aumento de 1,66 vezes na atividade enzimática e após esse período, quando foi observado um decréscimo na atividade enzimática durante a primeira e segunda semana (Tabela 2). Interessantemente, neste exato período foram observados incrementos significativos de fitomassa pelo aumento do número de folhas (de 17,33 para 43,66), da altura das plantas (de 14 cm para 23,33 cm), do número de raízes secundárias (de 72,33 para 99), do diâmetro do caule (de 2,27 mm para 3,49 mm), do diâmetro da raiz principal (de 4,71 mm para 5,65 mm) e do comprimento de raiz (de 1,33 cm para 2,66 cm), como descrito na Tabela 4.

Um novo e último ciclo de crescimento também foi observado nas duas últimas avaliações da atividade enzimática, respectivamente na terceira e quarta semanas de avaliação, onde encontramos um grande aumento na atividade enzimática da ordem de 6,9 vezes da segunda para a terceira semana e de 4,2

vezes da terceira para a quarta semana de avaliação (Tabela 2). No entanto, esse novo ciclo de crescimento demonstrou uma menor taxa de crescimento (Tabela 4) quando comparado ao primeiro ciclo descrito anteriormente. Foi observado ainda um decréscimo no número de raízes secundárias (de 236,33 para 110,33) e do diâmetro do caule (de 6,66 mm para 4,77 mm), sendo que este último pode ser explicado devido ao incremento em altura de plantas (de 23,33 para 40 cm).

Esses resultados corroboram com dados descritos pela literatura, onde foi constatada uma relação próxima entre regulação da redutase do nitrato e a fotossíntese. A redução de nitrito a amônio utiliza a ferredoxina reduzida, um produto da fotossíntese e uma abrupta parada ou diminuição da fotossíntese poderia gerar acúmulo de nitrito se a atividade da redutase do nitrato não fosse regulada (Lillo *et al.*, 2003). Provavelmente, nesse caso os fotoassimilados exportados para fora dos cloroplastídeos funcionam como sinalizadores capazes de ativar a redutase do nitrato.

Outra característica interessante é que enzima redutase do nitrato utiliza energia advinda da fotossíntese e é fortemente regulada pelo fornecimento de esqueletos carbônicos para incorporação de nitrogênio em aminoácidos. Segundo Epstein & Bloom (2005), um quarto do gasto energético dos vegetais está relacionado com as várias reações na redução do nitrato e incorporação do nitrogênio às formas orgânicas, o que explicaria os ciclos de crescimento demonstrado pelas plantas neste experimento.

No tratamento déficit hídrico, as plantas tiveram um aumento progressivo com pequenas variações durante o período até a segunda semana, onde foi observado um aumento de 4,55 vezes na atividade enzimática no limbo foliar. No entanto, logo após esse aumento na terceira semana do tratamento, as plantas morreram (Tabela 2).

Esses resultados corroboram em parte com os apresentados por Sinha & Nicholas (1981), onde foi observado que, o estresse hídrico provoca reduções drásticas na atividade de redutase de nitrato já a partir de pequenos decréscimos no potencial da água.

Na distribuição de fitomassa, apresentada na Tabela 5, observamos um decréscimo contínuo de todos os parâmetros estudados à medida que a duração do

estresse aumentou, exceto para o diâmetro do caule, onde foram constatadas oscilações do mesmo. Ou seja, não houve mudanças significativas na razão parte aérea/raiz, uma vez que o número de folhas das plantas caiu de 57 para 13,50; a altura da planta diminuiu de 45,33 cm para 21,00 cm; o número de raízes secundárias caiu de 325,66 para 86,50, o diâmetro da raiz principal diminuiu de 5,20 mm para 2,47 mm e o comprimento da raiz principal também diminuiu de 3,66 cm para 1,00 cm.

Esses resultados discordam de outros encontrados na literatura, onde foram constatadas que uma diminuição da disponibilidade hídrica do solo provoca redução do alongamento celular, e conseqüentemente, do consumo de carbono e energia. Uma maior proporção de fotoassimilados foi distribuída ao sistema radicular, diminuindo, dessa forma a razão parte aérea/raiz das plantas. Provavelmente, isso se deve ao fato de que, em condições de deficiência hídrica, o sistema radicular tende a desenvolver-se até que sua necessidade em fotoassimilados seja igual à quantidade que é produzida na parte aérea (Taiz & Zeiger, 2004).

Ainda foi observado que a atividade enzimática nas duas primeiras semanas sob estresse hídrico foi similar aos resultados obtidos quando as plantas foram irrigadas diariamente. Esses resultados apontam para o fato que pode ter havido certa adaptação da atividade da enzima após determinado período de deficiência hídrica. Corroborando com os resultados obtidos Ferreira *et al.*, (2002), que estudou o metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho, demonstrando que a atividade da enzima redutase do nitrato em milho não diferiu entre o tratamento de stress hídrico e o controle.

Tabela 2: Atividade da enzima redutase do nitrato ($\mu\text{moles NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ gmf}^{-1}$) em limbo foliar de *Campomanesia* sp. submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

Tempo	Hipóxia	Capacidade de campo	Seca
0	64,68	64,68	64,68
12 horas	71,06	57,60	61,52
24 horas	41,17	107,45	59,25
1 semana	19,20	61,70	79,15
2 semanas	-----	49,73	71,26
3 semanas	-----	344,61	324,48
4 semanas	-----	1447,86	-----

Tabela 3: Características agronômicas de um sistema em hipóxia.

Tratamento	Nº folhas	Altura (cm)	Nº raiz secundaria	Ø Caule (mm)	Ø Raiz (mm)	Comp raiz (ml)
12 horas	31,66±0,02	35,00±0,19	69,66±0,00	3,00±0,07	7,89±1,24	3,66±0,00
24 horas	21,33±0,09	21,33±0,11	76,66±0,06	3,00±0,15	6,41±0,44	2,33±0,00
1 semana	15,33±0,02	22,33±0,06	56,33±0,10	2,00±0,16	3,79±0,00	1,00±0,01
2 semana	20,66±0,20	37,33±0,03	77,33±0,05	1,00±0,30	4,00±0,00	1,00±0,00

Tabela 4: Características agronômicas de um sistema em capacidade de campo.

Tratamento	Nº folhas	Altura (cm)	Nº raiz secundaria	Ø Caule (mm)	Ø Raiz (mm)	Comp raiz (ml)
12 horas	22,33±0,02	25,00±0,06	43,33±0,07	1,98±0,00	5,13±0,00	1,66±0,00
24 horas	40,66±0,09	32,00±0,03	66,33±0,15	3,42±0,00	5,43±0,00	2,33±0,00
1 semana	17,33±0,02	13,66±0,00	72,33±0,16	2,27±0,00	4,71±0,00	1,33±0,00
2 semana	43,66±0,20	25,33±0,06	99,00±0,30	3,49±0,00	5,65±0,00	2,66±0,01
3 semana	39,33±0,19	23,33±0,10	236,33±1,24	6,66±0,01	4,42±0,01	2,33±0,01
4 semana	38,33±0,11	40,00±0,05	110,33±0,44	4,77±0,00	5,95±0,03	2,66±0,01

Tabela 5: Características agronômicas de um sistema em déficit hídrico

Tratamento	Nº folhas	Altura (cm)	Nº raiz secundaria	Ø Caule (mm)	Ø Raiz (mm)	Comp raiz (ml)
12 horas	57,66±0,23	45,33±0,01	325,66±1,43	3,98±0,00	5,20±0,00	3,66±0,00
24 hora	25,66±0,07	28,66±0,07	63,33±0,26	2,40±0,00	5,23±0,00	3,33±0,01
1 semana	23,33±0,01	14,00±0,04	217,33±0,31	2,23±0,00	4,60±0,00	2,33±0,00
2 semanas	26,00±0,07	29,33±0,04	51,00±0,09	2,16±0,09	3,89±0,00	1,33±0,00
3 semanas	13,50±0,01	21,00±0,04	86,50±0,34	2,43±0,00	2,47±0,00	1,00±0,00

4.2 Atividade da enzima redutase do nitrato nas raízes de plantas de gabioba.

A atividade enzimática da redutase do nitrato em raízes de plantas de *Campomanesia sp.* variou de 1,86 a 295,62 $\mu\text{moles NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ gmf}^{-1}$ nos estudos realizados, como pode ser observado na Tabela 6.

Comparando-se os resultados obtidos entre raízes e folhas, observa-se que atividade da enzima redutase do nitrato é muito maior nas folhas do que nas raízes. Segundo Carelli e Fahl (1991), as raízes são consideradas como sítios de consumo de assimilados bem menos eficientes do que a parte aérea para assimilar nitrato.

Dessa forma é interessante enfatizar que uma característica dessa enzima é que ela utiliza energia advinda da fotossíntese e é fortemente regulada pelo fornecimento de esqueletos carbônicos para incorporação de nitrogênio em aminoácidos. Segundo Epstein & Bloom (2005), um quarto do gasto energético dos vegetais está relacionado com as várias reações na redução do nitrato e incorporação do nitrogênio às formas orgânica.

No tratamento onde se manteve a irrigação d'água, na terceira e quarta semana do experimento foram observados os melhores resultados de atividade enzimática nas raízes, sendo constatado um aumento de 16,10 vezes na atividade enzimática entre a segunda e a terceira semana e de 4,05 vezes entre a terceira e a quarta semana (Tabela 6).

Novamente, tanto nas plantas irrigadas regularmente, como nas plantas que sofreram estresse hídrico até a terceira semana, os resultados observados tiveram o mesmo comportamento nas folhas, indicando que este fato pode ser realmente um indicio de que pode ter havido certa adaptação da atividade da enzima após determinado período de deficiência hídrica. Esses dados estão de acordo com aqueles obtidos por Ferreira *et al.*, (2002), que estudou o metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho, demonstrando que a atividade da enzima redutase do nitrato em milho não diferiu entre o tratamento de stress hídrico e o controle.

Esses resultados evidenciam que, de forma geral, o nitrato absorvido pelas raízes pode ser assimilado nesses órgãos ou nos órgãos aéreos, dependendo da sua disponibilidade e da espécie vegetal, e que no caso da gabioba a assimilação é

preponderantemente foliar. A assimilação do nitrogênio é considerada um processo dispendioso energeticamente às plantas, razão porque ocorre predominantemente nas folhas, centro de síntese de ATP e agentes redutores já que esse processo de incorporação do nitrogênio compete com a fotossíntese por massa e energia, consumindo 12 ATPs para cada nitrogênio assimilado pela planta (Blomm *et al.*, 1992).

O comportamento enzimático da redutase do nitrato em relação ao déficit hídrico se manteve também quando comparamos as atividades de raízes e limbo foliar. Em ambos foi notado um aumento progressivo com pequenas variações durante o período até a segunda semana, quando foi observado um aumento de 14,47 vezes na atividade enzimática radicular. No entanto logo após esse aumento na terceira semana do tratamento as plantas morreram (Tabela 6).

Esses resultados corroboram em parte com os apresentados por Sinha & Nicholas (1981), onde foi observado que o estresse hídrico provoca reduções drásticas na atividade de redutase de nitrato já a partir de pequenos decréscimos no potencial da água.

Finalizando, no tratamento em condições de hipóxia, onde as plantas ficaram com as raízes submersas durante todo o período, a atividade enzimática radicular ao contrário da atividade enzimática foliar não sofreu variações em decorrência da diminuição da disponibilidade de O_2 no meio durante o período de submissão das plantas ao estresse.

Esse fato pode ser explicado devido à ação da hipóxia principalmente nos tecidos radiculares devido à baixa difusão do O_2 em solos alagados, limitando a produção de ATP pela mitocôndria, e conseqüentemente tornando a biossíntese de ATP pela fosforilação oxidativa desprezível em relação ao ATP gerado pela glicólise e fermentação (Drew, 1997). Com isso o consumo de glicose aumenta significativamente depletando às reservas de carboidratos dos tecidos vegetais e aumentando ainda mais a dependência do sistema radicular pela translocação de assimilados oriundo da parte aérea das plantas.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Armstrong *et al.*, (1994) que constataram uma menor eficiência na assimilação de nitrogênio em ambiente hipóxico devido ao alagamento das raízes. Outros autores citam ainda que a hipóxia

provoca variações na respiração aeróbia (Joly, 1994; Rogge *et al.*, 1998; Matsui & Tsuchiya, 2006) no nível nutricional (Drew, 1991; Medri *et al.*, 2002; Alaoui-Sossé *et al.*, 2005) e na fotossíntese (Liao & Lin, 1996; Olivella *et al.*, 2000; Pryor *et al.*, 2006; Fernandez, 2006), que afeta substancialmente o crescimento e desenvolvimento das diferentes partes da planta em um ambiente alagado (Medri *et al.*, 1998; Medri *et al.*, 2002; Davanso *et al.*, 2002; Pryor *et al.*, 2006), o que pode explicar a morte das plantas nas primeiras semanas do experimento.

Tabela 6: Atividade da enzima redutase do nitrato ($\mu\text{moles NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ gmf}^{-1}$) em raízes de plantas de *campomanesia* sp. submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

Tempo	Hipóxia	Capacidade de campo	Seca
0	1,858	1,858	1,858
12 horas	3,703	3,354	2,779
24 horas	3,209	2,543	2,738
1 semana	3,165	2,571	2,885
2 semanas	-----	4,531	5,148
3 semanas	-----	72,983	74,417
4 semanas	-----	295,616	-----

5. CONCLUSÕES

As plantas de *Campomanesia sp.* apresentaram atividade da enzima redutase do nitrato em tecidos radiculares e foliares;

A atividade da enzima redutase do nitrato é preponderantemente foliar;

A disponibilidade de água afetou a atividade da enzima quando comparada a condições normais de manejo;

As plantas de *Campomanesia sp.* apresentaram maior tolerância de assimilação do nitrato em condições de seca quando comparadas a condições de alagamento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAOUI-SOSSÉ, B.; GÉRARD, B.; TOUSSAINT, M. & BADOT, P. Influence of flooding on growth, nitrogen availability in soil, and nitrate reduction of young oak seedlings (*Quercus robur* L.). **Annals of Forest Science**, v. 62, n. 6, p. 593-600, 2005.
- ALEXIEVA, V.; IVANOV, S.; SERGIEV, I.; KARANOV, E. Interaction between stresses. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, p.1-17, 2003.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado- espécies vegetais úteis**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, p. 464, 1998.
- ANDRADE NETTO, J. F. **Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica**. 2005. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ARMSTRONG, W.; BRAENDLE, R. & JACKSON, M.B. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 43, p. 307-358, 1994.
- ASLAM, M.; HUFFAKER, R.C.; RAINS, D.W. & RAO, K.P. Influence of light and ambient carbon dioxide concentration on nitrate assimilation by intact barley seedlings. **Plant Physiology**. v. 63, p.1205-1209, 1979.
- BARNEIX, A.J., CAUSIN, H. F. The central role of amino acids on nitrogen utilization and plant growth. **Journal of Plant Physiology**, v.149, n. 3-4, p.358-362, 1996.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.
- BATISTA, K. **Resposta do Capim – Marandu a combinações de doses de nitrogênio e enxofre**. 2002. 18 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; MEDRI, C.; PIMENTA, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.1, p.91-98, 2008.
- BEEVERS, L., SCHRADER, L. E., FLESHER, D. & HAGEMAN, R.H. The role of light in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. **Plant Physiology**, Lancaster, V. 40, p.691-698, 1965.

BECKER, L., AMINPIROOZ, S. HILLERT, B. PEDIO, M. & HAASE, J. Treefold-coordinated hollow adsorption site for Ni (111)-c(4 X 2)- CO: A surface-extended x-ray-absorption fine-structure study. *Physical Review*, v. 47, n.15, p 9710-9714, 1993

BLOOM, A. J.; SUKRAPANNA, S.S.; WARNER, R.L Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. **Plant Physiology**. v. 99, p. 1294 -1301, 1992.

BOTREL, A.; MAGNÉ, C. & KAISER, W. M. Nitrate reduction, nitrite reduction and ammonium assimilation in barley roots in response to anoxia. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 34, n. 5, p. 645-652. 1996.

BOTREL, M. A., PEREIRA, A. V., FREITAS, V. P., XAVIER, D. F. Potencial forrageiro de nove clones de capim Elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 334-340, 2000.

BREDEMEIER, C., MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

CAMARGOS, L. S. de. **Alterações no metabolismo de compostos nitrogenados em *Calopogonium mucunoides* em resposta a diferentes fontes de nitrogênio: efeitos na nodulação e na fixação**. 2007. 128 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap Between biochemistry and physiology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.50, p.277-303, 1999.

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

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.

CARMONA, R.; REZENDE, L. de P.; PARENTE, T. V. **Extração química de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* CAMB.)**. Revista Brasileira de Sementes, **Brasília-DF**, vol. 16, n. 1, p. 31-33, 1994.

CERETTA, C.A. & FRIES, M.R. Adubação nitrogenada no sistema plantio direto. In: NUERNBERG, N. J., (Ed). **Conceitos fundamentais do sistema plantio direto**. Lages, SC: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – Núcleo Regional Sul, p.111-20, 1998.

CRAWFORD, N.M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. **The Plant Cell**, v.7, p. 859-868, julho, 1995.

CREGAN, P. B.; BERKUM, P. Genetics of nitrogen metabolism and physiological/biochemical selection for increased grain crop productivity. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 67, n. 2-3, p. 97-111, 1984.

DAVANSO, V.M.; SOUZA, L.A.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A. & BIANCHINI, E. 2002. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 45, p. 375-384, 2002.

DENNIS, E.S.; DOLFERUS, R.; ELLIS, M.; RAHMAN, M.; WU, Y.; HOEREN, F.U.; GROVER, A.; ISMOND, K.P.; GOOD, A.G. & PEACOCK, W.J. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. **Journal of Experimental Botany**. v. 51, n. 342, p.89-97, January. 2000.

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G. de.; SOUZA, E. de S.; FRANÇA, J. G. E. de.; e MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, Novembro. 2004.

DREW, M. C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimatation under hypoxia and anoxia. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 223-250, June. 1997.

DREW, M.C. 1991. Oxygen deficiency in the root environment and plant mineral nutrition. p. 303-316. In: M.B. Jackson & D.D. Lambers (eds.). **Plant life under deprivation**. Netherlands, SPB Academic Publishing, The Hague.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 400p.

FERNANDEZ, M.D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. **Photosynthetica**. Heidelberg, v. 44, n. 1^o, p. 32-38, 2006.

FERRARI, T. E. & VARNER, J. E. Intact tissue assay for nitrite reductase in barley aleurone layer. **Plant Physiology**. v. 47, p. 790-794, 1971.

FERREIRA, M. B. Frutos comestíveis nativos do D.F.: gabiobas, pitangas e araçás. **Cerrado**, Brasília, v. 4, n. 18, p. 11-16, 1972.

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

- FOX, T. C.; KENNEDY, R. A. & RUMPHO, M. E. Energetics of plant growth under anoxia: metabolic adaptations of *Oryza sativa* and *Echinochloa phyllopogon*. **Annals of Botany**. v. 74, p. 445-455, 1994.
- GLAAB, J. & KAISER, W.M. Rapid modulation of nitrate reduction in pea roots. **Planta**. v. 191, n. 2, p. 173-179, 1993.
- GOJON, A.; DAPOIGNY, L.; LEJAY, L.; TILLARD, P. & RUFTY, T. W. Effects of genetic modification of nitrate reductase expression on $^{15}\text{NO}_3^-$ uptake and reduction in *Nicotiana* plants. **Plant Cell and Environment**, v.21, p.43-53, 1998.
- HAVLIN, J. L.; BEATON, J. D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W. L. Soil fertility and fertilizers an introduction to nutrient management. 7 edição. Nem Jersey: **Pearson Prentice Hall**, p. 515. 2005.
- HAGEMAN, R.H.; REED, A.J. Nitrate reductase from higher plants San Diego: Academic Press, *Methods in Enzymology*, v.69, p. 270-280, 1980.
- IMSANDE, J., TOURAINE, B. N Demand and the regulation of nitrate uptake. **Plant Physiology**, Lancaster, v.105, p.3-7, 1994.
- JOLY, C.A. Flooding tolerance: a re-interpretation of Crawford's metabolic theory. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh 102B**: 343-354. 1994.
- KAVI KISHOR P. B; SANGAM S; AMRUTHA R. N; SRI LAXMI P; NAIDU K. R; RAO K. R. S. S; RAO S; REDDY K. J; THERIAPPAN P; SREENIVASULU N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v.88, n.3, p.424-438. 2005.
- KLEPPER, L., FLESHER, D. E., HAGEMAN, E. H. Generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide for nitrate reduction in green leaves. *Plant. Physiol*, v.48, p.580-90, 1971.
- LEE, R. B. Inorganic nitrogen metabolism in barley root under poorly aerated conditions. *Journal of Experimental Botany*. v. 29, n. 3, p. 693-708, 1978.
- LEE, R. B. The release of nitrite from barley roots in response to metabolic inhibitors, uncoupling agents, and anoxia. **Journal of Experimental Botany**. v. 30, n. 1, p. 119-133, 1979.
- LEGRAND, C. D & KLEIN. R. M. **Flora ilustrada catarinense - Mirtáceas**. CNPq, IBDF, Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí-SC, Brasil. p. 219-330. 1977.
- LIAO, C.T. & LIN, C.H. Photosynthetic responses of grafted bitter melon seedlings to flood stress. **Environmental and Experimental Botany**. v. 36, p. 167-172, 1996.

LILLO, C.; LEA, U. S.; LEYDECKER, M. T.; MEYER, C. Mutation of the regulatory phosphorylation site of tobacco nitrate reductase results in constitutive activation of the enzyme in vivo and nitrite accumulation. **The Plant Journal**, v. 35, p. 566-573, 2003.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**, São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

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

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MATSUI, T. & TSUCHIYA, T. Root aerobic respiration and growth characteristics of three *Typha* species in response to hypoxia. **Ecological Research**. v.21, p. 470-475, 2006.

MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; COLLI, S. & MULLER, C. 2002. Estudos sobre a tolerância ao alagamento em espécies arbóreas nativas da bacia do rio Tibagi. p. 133-172. In: M.E. Medri; E. Bianchini; O.A. Shibatta & J.A. Pimenta (eds.). **A Bacia do Rio Tibagi**. Londrina, edição dos Editores.

MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; DELGADO, M.T. & CORREA, G.T. Aspectos morfo-anatômicos e fisiológicos de *Peltophorum dubium* (Spr.) Taub. Submetida ao alagamento e aplicação de ethrel. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 21, p. 261-267. 1998.

MEGURO, N. E., MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, p.1725-31, 1982.

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

NOVAIS, R.F., ALVAREZ, V. H. V., BARROS, N.F., FONTES, R.L.F., CANTARUTTI, R.B., NEVES, J.C.L. **Fertilidade do Solo**. Sociedade brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG. p.375-470. 2007.

OLIVELLA, C.; BIEL, C.; VENDRELL, M. & SAVE, R. Hormonal and physiological responses of *Gerbera jamesonii* to flooding stress. **HortScience** v. 35, p 222-225, 2000.

PRYOR, R.J.; DAVISON, N.J. & CLOSE, D.C. Waterlogging duration; Interspecific comparison of *Leptospermum scoparium* (Forst et Forst.f.), *Acacia melanoxylon* (R. Br.), *Nothofagus cunninghamii* (Hook.) and *Eucalyptus abliqua* (L'Herit). **Austral Ecology**. v.31, p 408-416, 2006.

ROOGE, G.D.; PIMENTA, J.A.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M.E.; COLLI, S. & ALVES, L.M.T. Metabolismo respiratório de raízes de espécies arbóreas tropicais submetidas à inundação. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, p. 153-158. 1998.

SAEG: Sistema para análises estatísticas. Versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

SAIRAM, R. K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P. S.; SRIVASTAVA, G. C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 52, n. 3, p. 401-412, 2008.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do Cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 178, 2001.

SILVEIRA, J. A. G.; ROCHA, I. M. A.; VIÉGAS, R. A. **Metabolic responses of cowpea and cashew plants exposed to salt and water stress: new aspects on proline accumulation**. 2002. Disponível em: <sbbq.iq.usp.br/arquivos/regional/2002/cdresumo/Palestras/016.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2007.

SINHA, S. K.; NICHOLAS, D. J. D. Nitrate Reductase. In: PALEG, L.G.; ASPINALL, D. (Ed.) **The physiology and biochemistry of drought resistance in plants**. New York: Academic Press. p.145-168. 1981.

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

SOUSA, C. A. F de. & SODEK, L. The metabolic response of plants to oxygen deficiency. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 14, n. 2, p. 83-94. 2002.

SOUSA, C. A. F. de & SODEK, L. Alanine metabolism and alanine aminotransferase activity in soybean (*Glycine max*) during hypoxia of the root system and subsequent return to normoxia. **Environmental and Experimental Botany**. v. 50, p. 1-8, August, 2003.

SOUSA, C. A. F. de, **Metabolismo de nitrogênio em plantas de soja [*Glycine Max(L.) Merr. Cv. IAC-17*] submetidas à deficiência de O₂ no sistema radicular**. 2001. 102 p. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa, Brasil, p. 640. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 792p.

THOMAS, A. L. **Modificações morfológicas e assimilação de nitrogênio em plantas de soja (*Glycine Max*) com sistemas radiculares sob deficiência de O₂**. 2004. 76 p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

TISCHNER, R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. **Plant, Cell and Environment**, v.23, p. 1005-1024, 2000.

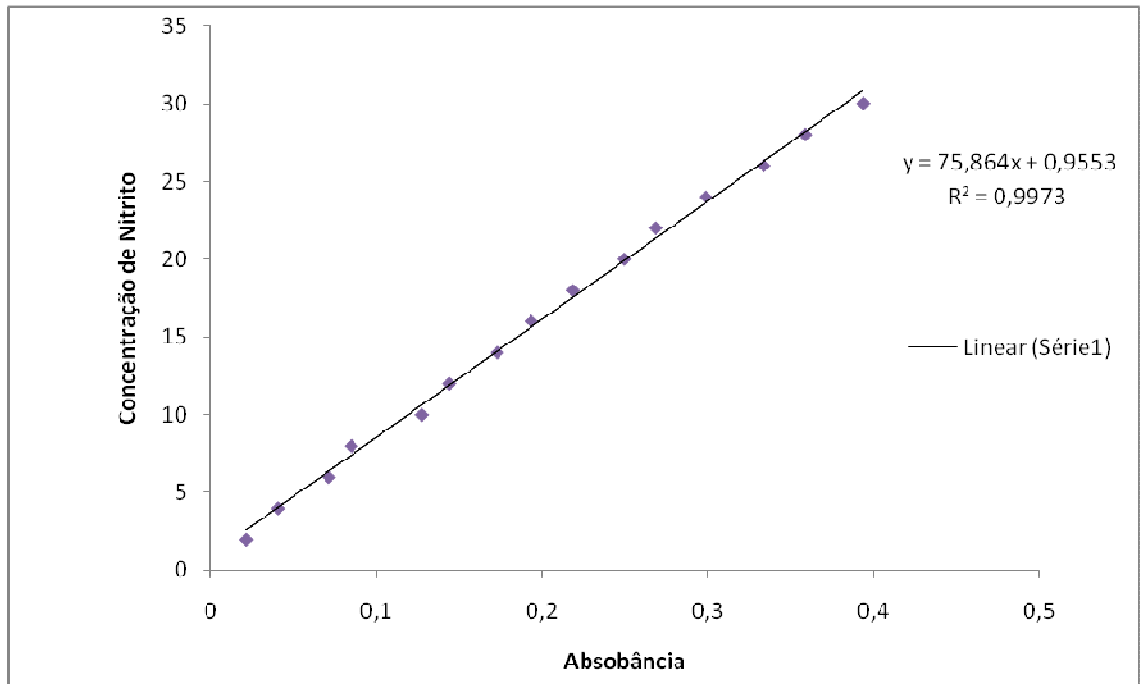
VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E. de.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg **Ciência Tecnologia Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 4, p. 805-810, 2006.

VIANA, E. M. **Interação de nitrogênio e potássio na nutrição, no teor de clorofila e na atividade da enzima redutase do nitrato em plantas de trigo**. 2007. 95 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

WATERS, I.; KUIPER, P.J.C.; WATKIN, E. & GREENWAY, H. Effects of anóxia on wheat seedlings I. Interaction between anóxia and other environmental factors. **Journal of Experimental Botany**. V. 42, n. 11, p. 1427-1435. 1991.

WILLIAMS, L.E.; MILLER, A.J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review of Plant Molecular Biology**. V. 52, p. 659-688, 2001.

WIENDENROTH, E.M. Responses of roots to hypoxia: their structural and energy relations with the whole plant. **Environmental and Experimental Botany**, v. 33, p. 41-51, 1993.

7. ANEXO**Gráfico da Concentração de Nitrito**