

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**CAMPUS JATOBÁ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**EFEITO DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO DE  
GABIROBEIRA**

**Emiliane dos Santos Belo**  
Bacharel em Ciências Biológicas

JATAÍ – GO – BRASIL  
2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
CAMPUS JATOBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**EFEITO DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO DE  
GABIROBEIRA**

**Emiliane dos Santos Belo**

Orientador: Prof. Dr. Antônio Paulino da Costa Neto

Co-orientador: Prof. Dr. Samuel Mariano da Silva

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 – GO – BRASIL

Março de 2011

Belo, Emiliane dos Santos.

Efeito do Estresse Hídrico no Metabolismo de Gabirobeira  
[manuscrito] / Emiliane dos Santos Belo. - 2011.

131 f. : il.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Antônio Paulino da Costa Netto; Co-  
orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Samuel Mariano da Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2011.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

Apêndices.



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

ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE **Emiliane dos Santos Belo** - Aos **vinte e um** dias do mês de **março** de dois mil e doze (21/03/2012), às **08:300** horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Prof. Dr. Antônio Paulino da Costa Netto – Orientador, Prof. Dr. Hildeu Ferreira da Assunção e Prof. Dr. Renato Paiva, para, sob a presidência do primeiro, e em sessão pública realizada no auditório do Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Campus Jataí da UFG, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“EFEITO DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO DE GABIROBEIRA”** em nível de Mestrado, área de concentração em Produção Vegetal, de autoria de Emiliane dos Santos Belo, discente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Goiás do Campus de Jataí. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora, Prof. Dr. Antônio Paulino da Costa Netto, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra a seguir, foi concedida à autora da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu a examinanda, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 759/2005 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Campus Jataí e procedidas às correções recomendadas, a dissertação foi **APROVADA** por unanimidade, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, na área de concentração em PRODUÇÃO VEGETAL pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGA da versão definitiva da dissertação, com as devidas correções. A Banca Examinadora recomenda a publicação de artigo científico, oriundo dessa dissertação em periódicos de circulação nacional e, ou, internacional, depois de procedidas às modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades de pauta, às 11h30min a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação e para constar foi lavrada a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora em quatro vias de igual teor.

Prof. Dr. Antônio Paulino da Costa Netto  
Presidente – CAJ/UFG

Prof. Dr. Hildeu Ferreira da Assunção  
Membro – CAJ/UFG

Prof. Dr. Renato Paiva  
Membro Externo – UFLA

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**EMILIANE DOS SANTOS BELO** - nascida aos 13 dias do mês de fevereiro do ano de 1988, na cidade de São Luis de Montes Belos, Estado de Goiás, Brasil. Iniciou o ensino pré-escolar na Escola Estadual São Sebastião no ano de 1993, na mesma cidade de nascimento, estudou o ensino fundamental (primário e ginásio) durante 1994 e 2002 na Escola Estadual Filhinho Portilho e o ensino médio no Colégio Estadual Martins Borges entre 2003 e 2005, ambos na cidade de Rio Verde – GO. Graduou-se no curso de Ciências Biológicas – Bacharelado (integral) da Universidade Federal de Goiás, Campus Jatobá, na cidade de Jataí – GO, entre 2006 e 2010. Neste mesmo período atuou em projetos de pesquisa e extensão na área de ensino de química, bioquímica e fisiologia de plantas e microrganismos, microbiologia industrial e fermentação. Logo no início do ano de 2011 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Campus Jatobá, vindo concluir o curso no mês de março de 2012, por meio da apresentação desta dissertação. Durante o curso de mestrado, atuou como bolsista do programa REUNI (Reestruturação Universitária) do Governo Federal, no nível de aluno de mestrado, ministrando monitorias para os cursos de Agronomia, Ciências Biológicas – licenciatura e bacharelado, Biomedicina, Engenharia Florestal, Zootecnia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Jatobá. Atuou também em projetos na área de bioquímica de plantas, com ênfase na absorção e incorporação do nitrogênio pelas plantas com ênfase em plantas cultivadas e nativas do Cerrado.



**DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho em memória de LARISSA ASSIS VILELA, pela sua lealdade, amor, companheirismo, atenção, importante colaboração e em nome de nossa eterna amizade.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço os meus orientadores: Prof. Dr. Samuel Mariano da Silva e Antônio Paulino da Costa Netto. O Prof. Edésio Fialho dos Reis pela oportunidade de participar do projeto Casadinho, os técnicos de laboratório: Jeferson Pinto, Marcos Humberto Aparecido, Sueli Maria Silva e Lucielle Januário. À Karina Testa, aluna de iniciação científica (PIBIC). O Prof. Dr. Vilmar Ragagnim pelo empréstimo do clorofilômetro, aos colaboradores do laboratório de bromatologia coordenado pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Dias. O Sr. Clarito e Sr. Edimar que nos ajudaram no preparo dos vasos em casa de vegetação. Todos os funcionários da Empresa Guardiã pelo pronto atendimento quando solicitados e atenção durante os horários noturnos e dias de feriado. Agradeço o incentivo, esperança e fé transferidos pela minha família: Neudimar Maria dos Santos Silva, Erlan da Silva Belo, Aline da Silva Belo e Luís Arthur Moraes Belo, e; agradeço principalmente a colaboração da Larissa Assis Vilela, que participou em todas as etapas deste trabalho, também àqueles que contribuíram direta e indiretamente no desenvolvimento deste trabalho.

Muito Obrigada!

<b>SUMÁRIO</b>	<b>Pg</b>
1. Introdução .....	19
2. Revisão de Literatura .....	21
2.1 Estresse Vegetal .....	21
2.2 Estresse Hídrico e Tolerância à Seca .....	22
2.3 Mecanismos de Resposta Ao Estresse Hipóxico .....	28
2.4 Aspectos Morfológicos e Etnobotânicos da Gabirobeira.....	31
3. Materiais e Métodos.....	33
3.1.1 Localização Do Experimento.....	33
3.1.2 Tratamentos Utilizados e Condução das Plantas.....	33
3.1.3 Variáveis Analisadas.....	34
3.1.4 Determinação da Atividade da Redutase do Nitrato.....	34
3.1.5 Preparo dos Extratos para Análises Bioquímicas.....	35
3.1.6 Determinação de Carboidratos Solúveis (AST) .....	36
3.1.7 Determinação de Sacarose .....	36
3.1.8 Determinação de Amido .....	37
3.1.9 Determinação de Aminoácidos Livres Totais.....	38
3.2.1 Determinação de Proteína Solúvel .....	38
3.2.2 Determinação de Proteína Bruta .....	39
3.2.3 Crescimento Vegetativo.....	39
3.2.4 Análise de Crescimento .....	40
3.2.5 Conteúdo de Matéria Freca,	

Seca e Água .....	41
3.2.6 Análise Estatística .....	42
4.    Resultados e Discussão.....	42
4.1    Conteúdo de Matéria Fresca	
de Folhas e Raízes.....	42
4.2    Modificações na Taxa de	
Crescimento .....	58
4.3    Atividade da Enzima Redutase	
do Nitrato .....	68
4.4    Conteúdo de Açúcares Solúveis	
Totais (AST), Sacarose e Amido.....	73
4.5    Conteúdo de Proteína Bruta Insolúvel e	
Solúvel.....	86
4.6    Conteúdo de Aminoácidos.....	95
5.    Conclusões.....	99
6.    Referências Bibliográficas.....	99
7.    Anexo I.....	120
7.1    Fotos das Gabirobeiras Submetidas	
aos Tratamentos Estresse Hídrico,	
Controle e Hipoxia .....	120
7.2    Retas Padrão.....	129

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Conteúdo de matéria fresca de folhas de gabirobeiras. ....	43
Figura 2: Conteúdo de matéria fresca de raízes de gabirobeiras. ....	44
Figura 3: Conteúdo de matéria fresca total de gabirobeiras. ....	44
Figura 4: Conteúdo de matéria seca de folhas de gabirobeiras. ....	46
Figura 5: Conteúdo de matéria seca de raízes de gabirobeiras. ....	46
Figura 6: Conteúdo de matéria seca total de gabirobeiras. ....	47
Figura 7: Razão entre conteúdo de matéria seca de raízes e parte aérea de gabirobeiras. ....	47
Figura 8: Conteúdo de água na matéria fresca de folhas de gabirobeiras. ....	56
Figura 9: Conteúdo de água na matéria seca de folhas de gabirobeiras. ....	56
Figura 10: Conteúdo de água na matéria fresca de raízes de gabirobeiras. ....	57
Figura 11: Conteúdo de água na matéria seca de raízes de gabirobeiras. ....	57
Figura 12: Área foliar específica (AFE) de gabirobeiras. ....	59

Figura 13: Razão de peso foliar (RPF) de gabirobeiras.	59
Figura 14: Razão de área foliar (RAF) de gabirobeiras.	60
Figura 15: Diâmetro do colo de gabirobeiras.	64
Figura 16: Área de raízes de gabirobeiras.	64
Figura 17: Comprimento da raiz principal de gabirobeiras.	65
Figura 18: Taxa de crescimento absoluto (TAL) de gabirobeiras.	66
Figura 19: Taxa de crescimento relativo (TCR) de gabirobeiras.	66
Figura 20: Índice de área foliar (IAF) de gabirobeiras.	67
Figura 21: Taxa assimilatória líquida (TAL) de gabirobeiras.	67
Figura 22: Índice de clorofila total (ICT) de gabirobeiras.	68
Figura 23: Atividade da enzima redutase do nitrato em folhas de gabirobeiras.	69
Figura 24: Atividade da enzima redutase do nitrato em raízes de gabirobeiras.	70
Figura 25: Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em folhas de gabirobeiras.	74
Figura 26: Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em raízes de gabirobeiras.	74

Figura 27: Razão no conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	75
Figura 28: Conteúdo de sacarose em folhas de gabirobeiras. ....	76
Figura 29: Conteúdo de sacarose em raízes de gabirobeiras. ....	77
Figura 30: Razão no conteúdo de sacarose em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	77
Figura 31: Conteúdo de amido em folhas de gabirobeiras. ....	78
Figura 32: Conteúdo de amido em raízes de gabirobeiras. ....	79
Figura 33: Razão no conteúdo de amido em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	79
Figura 34: Conteúdo de proteína bruta em folhas de gabirobeiras. ....	87
Figura 35: Conteúdo de proteína bruta em raízes de gabirobeiras. ....	87
Figura 36: Razão no conteúdo de proteína bruta em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	88
Figura 37: Conteúdo de proteína insolúvel em folhas de gabirobeiras. ....	89
Figura 38: Conteúdo de proteína insolúvel em raízes de gabirobeiras. ....	89
Figura 39: Razão no conteúdo de proteína insolúvel em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	90

Figura 40: Conteúdo de proteína solúvel em folhas de gabirobeiras. ....	90
Figura 41: Conteúdo de proteína solúvel em raízes de gabirobeiras. ....	91
Figura 42: Razão no conteúdo de proteína solúvel em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	91
Figura 43: Conteúdo de aminoácidos solúveis em folhas de gabirobeiras. ....	96
Figura 44: Conteúdo de proteína solúvel em raízes de gabirobeiras. ....	97
Figura 45: Razão no conteúdo de aminoácidos solúveis em raízes e folhas de gabirobeiras. ....	97
Figura 46: Reta-padrão utilizada na determinação de açúcares solúveis totais (AST) nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras. ....	129
Figura 47: Reta-padrão utilizada na determinação de açúcares sacarose nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras. ....	129
Figura 48: Reta-padrão utilizada na determinação de proteína solúvel nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras. ....	130
Figura 49: Reta-padrão utilizada na determinação de alfa-aminoácidos nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras. ....	130
Figura 50: Reta-padrão utilizada na determinação de proteína bruta nas amostras de folhas e raízes de	

gabiobeiras.

..... 131

## LISTA DE FOTOS

Foto 1: Gabirobeira submetida ao tratamento controle no período inicial (0 dia).	120
Foto 2: Gabirobeira submetida ao tratamento controle no período inicial (0 dia).	120
Foto 3: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 6 dias.	121
Foto 4: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 6 dias.	121
Foto 5: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 6 dias.	122
Foto 6: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 9 dias.	122
Foto 7: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 9 dias.	123
Foto 8: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 9 dias.	123
Foto 9: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 12 dias.	124
Foto 10: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 12 dias.	124
Foto 11: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 12 dias.	125
Foto 12: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 15 dias.	125
Foto 13: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 15 dias.	126

Foto 14: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 15 dias.	.....	126
Foto 15: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 18 dias.	.....	127
Foto 16: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 18 dias.	.....	127
Foto 17: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 18 dias.	.....	128

## RESUMO

As respostas das plantas ao déficit hídrico são complexas, envolvendo mudanças adaptativas e/ou efeitos deletérios. Os danos causados por estresses às plantas podem ser reversíveis ou irreversíveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância da gabirobeira (*Campomanesia* spp) ao estresse hídrico e hipoxia de raízes durante 18 dias. Avaliou-se o conteúdo de matéria fresca, seca, água, AST, sacarose, amido, proteínas bruta, insolúvel, solúvel e aminoácidos de folhas e raízes, além dos parâmetros de crescimento como TCR, TCA, TAL, diâmetro do colo, comprimento e área de raízes. As gabirobeiras sob estresse hídrico apresentaram redução no conteúdo de água, prejuízos na produção de biomassa de folhas e raízes, redução no conteúdo de AST, amido e no conteúdo de aminoácidos. Sob hipoxia, exibiram prejuízos na alocação de fotossintatos da parte aérea para as raízes, e por isso armazenam grandes quantidades de amido, os maiores prejuízos ocorreram em raízes. As estratégias de sobrevivência ao estresse hídrico incluem a remobilização de carboidratos solúveis e de reserva da parte aérea para as raízes permitindo assim que as gabirobeiras escapassem da seca. Sob hipoxia o potencial hídrico das folhas foi sustentado com carboidratos solúveis oriundos da remobilização do amido, provavelmente também houve síntese e degradação de polipeptídeos e enzimas em raízes devido a mudança do metabolismo aeróbio para anaeróbio.

Palavras-chave: Estresses Abióticos, Água, Oxigênio, Tolerância.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os vários fatores limitantes da produção vegetal, o estresse hídrico ocupa posição de destaque, pois além de afetar as relações hídricas nas plantas, alterando-lhes o metabolismo, é fenômeno que ocorre em grandes extensões de áreas cultiváveis (Nogueira et al., 2001). Muitos estudos assumem uma real importância, em vista de que, nos vários tipos de vegetação encontrados na natureza, a produtividade é considerada mais intimamente relacionada com a água disponível para as plantas do que com qualquer outro fator ambiental (Salisbury & Ross, 1991).

A capacidade das plantas se manterem túrgidas é tida como uma característica necessária para a garantia da produção em locais onde ocorre o estresse hídrico. Dependendo dos mecanismos desenvolvidos para resistirem à seca, as plantas são classificadas em três categorias principais: a) espécies que escapam da seca (rápido desenvolvimento fenológico); b) espécies que toleram a seca com alto potencial hídrico (adiam a desidratação); c) espécies que toleram a seca com baixo potencial hídrico (toleram a desidratação) (Turner 1986, 1997).

O encharcamento do solo pode afetar o crescimento e sobrevivência das plantas na agricultura e nos ecossistemas (Dubois et al., 2010). Padrões hidrológicos podem ser intensificados por fatores antropogênicos, como gerenciamento de uso da terra e obras de construção (ou seja, barragens, estradas, etc) e podem levar à mudanças nas propriedades do solo (Ferner, 2009). Nas últimas décadas consideráveis progressos têm sido realizados no entendimento dos mecanismos que capacitam espécies e cultivares resistirem períodos de excesso de água no solo ou completa submersão (Gibbs & Greenway, 2003). O entendimento das respostas dos ecossistemas ao alagamento é fundamental no entendimento de como os indivíduos percebem e devem responder às mudanças resultantes de alterações no ambiente (Horchani & Aschi-Smiti, 2011).

Várias plantas cultivadas exibem pobre crescimento da raiz, injúria e morte quando expostas ao solo saturado por água. Por outro lado, plantas de terras encharcadas são bem adaptadas e podem sobreviver em encharcamento prolongado. Espaços intercelulares chamados aerênquimas estão presentes na maioria das espécies de plantas de terras encharcadas (Shimamura et al., 2010).

Segundo Vartapetian et al., (1978), as espécies podem se adaptar metabolicamente para tolerarem a anoxia (espécies verdadeiramente tolerantes a anoxia), adaptarem-se morfológicamente e fisiologicamente para evitarem a anoxia (aparentemente tolerantes) ou podem não se adaptar e sucumbirem rapidamente (intolerantes à anoxia).

Visando a preservação, implantação de lavouras comerciais de vegetais importantes economicamente e ecologicamente e em busca de mecanismos que confirmem aos vegetais com maior flexibilidade às adversidades ambientais, o objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância da gabirobeira (*Campomanesia* spp) ao estresse hídrico e hipoxia de raízes durante 18 dias, contanto que não existem descrições sobre seu comportamento em condições de deficiência hídrica.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ESTRESSE VEGETAL

Como principal definição para os vegetais, estresse pode ser considerado como desvio das condições ótimas de vida. O estresse provoca mudanças e respostas em todo nível funcional do organismo. Inicialmente, estas mudanças e respostas podem ser reversíveis, mas podem também ser permanentes. Mesmo se o agente estressante for meramente temporário, a vitalidade da planta torna-se mais fraca ao longo que o estresse é mantido. Quando a habilidade das plantas para ajuste é alcançada, danos latentes até então se desenvolvem em doenças crônicas ou lesões irreversíveis. O impacto de fatores estressantes desestabiliza estruturas vitais e funções induzindo a “fase de alarme”, na qual suas funções declinam, como “reação ao estresse”, estes são compensados por reações de “restituições”, que podem levar a sobrecompensação. Sob exposição prolongada a estresses constantes, um alto grau de resistência é desenvolvido que pode resultar na reestabilização, “ajustamento”. Se o organismo está sobrecarregado ou por estresse crônico ou agudo, “exaustão”, danos irreversíveis ocorrem (Larcher, 2003).

Plantas terrestres estão expostas a vários tipos de estressores naturais, como déficit hídrico, déficit de oxigênio induzida pelo excesso de água, alta temperatura e radiação ou estresses antropogênicos, como poluição (exposição ao SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, O<sub>3</sub>), chuva ácida e orvalho (Lichtenthaler, 1996). Plantas respondem a esses estresses dia-a-dia ou a longo prazo por meio de respostas particulares estresse-induzidas e mecanismos de adaptação assim como respostas não-específicas que ajudam de forma eficiente as plantas a sobreviverem (Lichtenthaler, 1996; 1998). Dentro deste conceito, quatro estágios de respostas ao estresse de plantas podem ser diferenciados: a fase de resposta (reação de alarme), o estágio de resistência e o estágio de exaustão seguida geralmente pela fase de regeneração, na qual as funções fisiológicas são gradualmente restauradas, uma vez que o estressor é removido. A duração (dias, horas) da fase de regeneração leva a planta a retornar as funções fisiológicas normais dependendo da força, duração e tipo de estresse (Lichtenthaler & Burkart, 1999).

Estresses abióticos como seca, alagamento, salinidade/alcalinidade de solos, altas temperaturas principalmente durante o florescimento e maturação, toxicidade

química e estresse oxidativo são sérias ameaças à agricultura e ambiente. Até 2025 será necessária produção de 3,0 bilhões de toneladas de cereais para alimentar cerca de 8,0 bilhões de pessoas. O que significa que o rendimento médio da produção de cereais deve ser de 4 ton ha<sup>-1</sup> para serem sustentadas e mantidas além da demanda de alimentos, fibras, verduras, frutos, óleos, energia e madeira. Desta forma é necessário aumento da produtividade das culturas para melhores variedades e que sejam tolerantes a diversos estresses abióticos (Pareech et al., 2010).

Com base no IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), a média de temperatura da superfície global deve aumentar de 1,1 a 6,4°C no final deste século. Com o aquecimento global espera-se que o estresse hídrico persistiria pelo aumento da evapotranspiração, aumentando a frequência e intensidade da seca com um aumento de 1 a 30% das áreas secas da terra até 2100, a qual seria compensada pelo aumento da concentração de CO<sub>2</sub> limitando ainda mais a estrutura de função dos ecossistemas terrestres (Knapp et al., 2001; Chaves et al., 2003; Fischlin et al., 2007). Sob o contexto de mudanças climáticas, a seca tem sido e esta se tornando um grave problema restringindo o crescimento das plantas, a produtividade de ecossistemas terrestres, e várias regiões do mundo particularmente regiões áridas e semi-áridas. No contexto de produção, há sempre intervalo de ocorrência de eventos de seca e/ou reirrigação, em condições particulares de mudança climática há condições de prever eventos mais frequentes de seca e alagamento (Fischlin et al., 2007). O encharcamento e alagamento do solo são estresses abióticos que influenciam a distribuição e produtividade das espécies em inúmeras comunidades de plantas. Padrões hidrológicos podem determinar a vegetação em terras úmidas naturais ou artificiais, desde que isso dependa de respostas ecofisiológicas de espécies para o alagamento (Voisenek et al., 2004).

## 2.2 ESTRESSE HÍDRICO E TOLERÂNCIA À SECA

As respostas das plantas ao estresse hídrico são complexas, envolvendo mudanças adaptativas e/ou efeitos deletérios. Sob condições de campo estas respostas podem ser sinergisticamente ou antagonisticamente modificadas pela superimposição de outros estresses. Os mecanismos desenvolvidos pelas plantas a

lidarem com a seca envolvem estratégias para evitar o estresse e de tolerância que variam conforme o genótipo (Chaves et al., 2002). Os danos causados por estresses às plantas podem ser reversíveis ou irreversíveis (Blum, 1986), as respostas específicas ao estresse hídrico são dependentes da quantidade de perda de água, duração do estresse e estágio de desenvolvimento da planta (Bray, 1997).

Muitas pesquisas fisiológicas têm focado principalmente três tópicos relacionados ao estresse hídrico: relações hídricas, fotossíntese e acúmulo de metabólitos específicos como substâncias compatíveis. Estes processos têm sido investigados em detalhes a respeito a suas contribuições para descrever limitações de crescimento e tolerância sob condições de seca (Chaves et al., 2003). Quando o estresse hídrico se desenvolve lentamente, as plantas podem apresentar respostas de aclimação que tem efeitos no crescimento, com redução da expansão foliar e aumento do crescimento radicular (Potters et al., 2007; Shao et al., 2008). Outro mecanismo de tolerância a nível fisiológico é o fechamento estomático (Taiz & Zeiger, 2009), resposta mediada pelo hormônio ácido abscísico (ABA) (Leung & Giraudat, 1988; Zhang & Outlaw, 2001). As plantas ainda podem desenvolver respostas ao estresse hídrico a nível de expressão gênica, relacionada com a produção de enzimas chave na via de síntese de substâncias osmóticas, proteínas com função protetora, enzimas antioxidantes, fatores de transcrição e outras proteínas envolvidas em respostas do estresse hídrico (Bray, 1997; Zhu et al., 2002).

Déficits hídricos prolongados induzem redução do conteúdo relativo de água no mesofilo, no entanto, as plantas podem ajustar-se osmoticamente com objetivo de retardar a desidratação. O ajuste osmótico é um aumento líquido na concentração do soluto por célula (Taiz & Zeiger, 2009), conforme Hsiao et al., (1984), a diminuição do potencial osmótico durante o estresse hídrico é geralmente associada a um mecanismo que induz à turgescência. Plantas de *Solanum lycocarpum* e aceroleiras enxertadas apresentaram redução significativa nos valores de potencial osmótico em resposta ao estresse hídrico. O aumento no teor de carboidratos solúveis sugere que esta espécie apresenta mecanismo de ajustamento osmótico, nas condições de estresse hídrico, adaptando-a à sobrevivência nessa condição (Chaves-Filho & Stacciarini-Seraphin, 2001; Nogueira et al., 2001).

À medida que o estresse hídrico torna-se rigoroso a desidratação de células do mesofilo inibe a fotossíntese (Taiz & Zeiger, 2009), o ajuste osmótico 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). O crescente aumento da desidratação do mesofilo reduz a taxa fotossintética, a quantidade de assimilados disponíveis para exporte como triose-fosfato do cloroplastídeo para citosol diminui e a síntese de sacarose também. No entanto, a síntese ou degradação do amido é controlada pelo metabolismo da sacarose no citoplasma, a saída de trioses-fosfato dos cloroplastos funciona como sistema de fornecimento de ATP e NADPH para o seu consumo na própria célula. A passagem das trioses-fosfato através da membrana do cloroplastídeo é regulada pelo transportador de fosfato associada a entrada de fósforo inorgânico. O nível de  $P_i$  no citoplasma controla a saída de trioses-fosfato do cloroplasto, podendo limitá-la e reduzir a assimilação de  $CO_2$  pelo excesso de trioses-fosfato no cloroplasto. A sacarose fosfato sintase (SPS) tem sua atividade rapidamente perdida com pequenas mudanças no conteúdo de água, assim fluxo de triose-fosfato do cloroplastídeo é reduzido havendo acúmulo de intermediários fosforilados promovendo a síntese de amido (Pimentel, 1998).

O fechamento estomático em resposta ao estresse hídrico reduz a captação de  $CO_2$  atmosférico e a fixação deste pela RUBISCO (ribulose-1,5-bisfosfato-carboxilase-oxigenase). Nestas condições, a relação intercelular  $CO_2/O_2$  é reduzida e a atividade de fotorrespiração predomina por meio da RUBISCO. Com o metabolismo integrado entre cloroplastídeo, peroxissomo e mitocôndria, o produto da fixação do  $O_2$  pela RUBISCO, 2-fosfoglicolato, forma glicolato e glioxilato, este último condensa com glutamato formando glicina. A conversão de glicina para serina na mitocôndria possibilita a formação de  $NH_4$  que pode ser fixado em uma molécula de glutamato formando glutamina pela glutamina sintetase. A baixa taxa de fotossíntese observada por vários autores pode estar ligada com a atividade do ciclo  $C_2$  em detrimento do  $C_3$ , e, a baixa fixação de  $CO_2$  pela RUBISCO, pois a mesma necessita do  $CO_2$  formado na etapa de formação da serina na mitocôndria para sua atividade (Pimentel, 1998; Heldt, 2005).

O estresse hídrico muda a proporção dos diferentes carboidratos, conforme Pelleschi et al., (1997) as concentrações de amido, glicose e frutose aumentaram em feijão com estresse hídrico por 7 dias. Zrenner & Stitt, (1991) sugerem que a mudança na proporção de carboidratos é devido o aumento da concentração de  $P_i$  causada pelo pequeno volume celular e talvez pelas mudanças nas enzimas que

remobilizam amido, as quais produzem mono e dissacarídeos em estresses moderados. Este tipo de resposta conforme Lawlor (2002) é considerada tipo 2, pois o potencial fotossintético mensurado pela saturação de CO<sub>2</sub> não é afetado pela pequena queda no conteúdo relativo de água, mas torna-se progressivamente mais inibido e pouco estimulado pela elevação de CO<sub>2</sub>, abaixo de um limiar de conteúdo relativo de água. Em outros estudos, o potencial fotossintético e o estímulo da taxa fotossintética pela elevação de CO<sub>2</sub> decresce progressivamente com o declínio do conteúdo relativo de água da folha, esta resposta é considerada tipo 1.

A redução da área foliar é uma resposta precoce ao estresse hídrico, Taiz & Zeiger (2009) e Kozlowski et al., (1991) comentaram que este é um dos efeitos mais drásticos do estresse hídrico, levando a um decréscimo na fotossíntese e, conseqüentemente, no crescimento. A redução da área foliar em resposta ao estresse hídrico foi observada em *Tabebuia aurea*, *Caesalpinia ferrea* (Cabral et al., 2004), *Myracrodruon urundeuva* (Lenhard et al., 2010), *Melaleuca alternifolia* (Silva et al., 2002), *Arachis hypogaea* e *Vigna unguiculata* (Correia & Nogueira et al., 2004).

A redução da área foliar depende de expansão celular a qual depende da redução da turgidez e extensibilidade da parede celular e aumento o limiar de amolecimento, ou seja, aumenta a pressão abaixo do qual a parede celular resiste à deformação plástica ou irreversível. À medida que decresce o conteúdo de água na planta suas células contraem-se e afrouxa a pressão de turgidez contra as paredes, este processo concentra solutos nas células e a membrana plasmática torna-se mais espessa e mais comprimida. A área foliar menor transpira menos conservando um suprimento limitado de água no solo por um período mais longo (Taiz & Zeiger, 2009). A redução da área foliar envolve aspectos fisiológicos que refletem em modificações morfológicas, tais como observadas por Melo et al., (2007), em plantas de paspalo submetidas à deficiência hídrica, estas apresentaram grupos de células buliformes com um maior tamanho em altura, sendo que esse crescimento possivelmente está relacionado ao enrolamento foliar, de modo a diminuir superfície à perda de água por transpiração, pois as células buliformes atuam como células motoras, tanto no dobramento quanto no enrolamento das folhas (Esau, 2000).

As raízes sob estresse hídrico tendem a crescer até as zonas mais úmidas do solo, Sharp et al., (2004) demonstrou que os mecanismos envolvidos na manutenção do crescimento da raiz primária de milho sob estresse hídrico incluem

ajuste osmótico, aumento do afrouxamento da parede celular e ajuste de dimensões da zona de crescimento. Cabral et al., (2004) observaram maior razão do comprimento da raiz/parte aérea em plantas sob tratamento com maior estresse hídrico proporcionou maior alocação de biomassa para as raízes. Esta alocação não somente prioriza a absorção de água, mas também resulta em menor perda por transpiração foliar.

Segundo Taiz & Zeiger (2009), essa explicação pode ser atribuída ao ácido abscísico (ABA) que induz o crescimento da raiz e estimula a emergência de raízes laterais, enquanto suprime o crescimento foliar. A aplicação de ABA no sistema radicular estimula os fluxos de água e de íons, sugerindo que o ABA regula o turgor não apenas pela diminuição da transpiração, mas também pelo aumento do influxo de água para as raízes. Portanto, os efeitos do ABA sobre as raízes e as folhas causam uma redução da área foliar e um aumento da área de absorção de água das raízes, o que auxilia a planta a enfrentar as condições de seca. O ABA funciona como um mensageiro (sinal) entre a raiz e a parte aérea, em condições de dessecação do solo, para induzir o fechamento estomático e economizar água, antes mesmo de haver variações no potencial hídrico de folha (Davies et al., 1990). O ABA tem importante regulação na perda de água em condições de déficits hídricos, pois controla o influxo e efluxo de  $K^+$  nas células guardas, assim como os de  $Cl^-$  e ácidos orgânicos na plasmalema e tonoplasto dessas células, para o balanço iônico. Este processo controla a entrada ou saída de água nas células guardas e conseqüente movimento estomático (Mansfield & Mcainsh, 1995).

Além disso, em condições de estresse hídrico, o ABA promove o crescimento das raízes e inibe o crescimento do caule pela supressão da produção de etileno (Taiz & Zeiger, 2009; Sharp, 2002). O ABA também pode ser acumulado para promover o sistema antioxidante para manter espécies reativas de oxigênio (ROS) em níveis não-danosos durante o estresse hídrico. As ROS são produzidos em grandes quantidades em tecidos estressados, que tratamento com ABA tem mostrado aumento na expressão de genes para enzimas antioxidantes como catalase em folhas de milho (Guan et al., 2000), e o excesso de ROS pode levar aumento na síntese de etileno (Overmyer et al., 2000). Além disso, o ROS e  $H_2O_2$  interagem no fechamento estomático em resposta ao ABA, no entanto não se sabe se o ABA estimula a produção de óxido nítrico (NO) pela redutase do nitrato visto que o mesmo pode ser formado em outras vias (Desikan et al., 2002).

O estresse hídrico afeta o metabolismo de nitrogênio, atividade da redutase do nitrato é afetada pelo estresse hídrico e concentrações de nitrato, além disso, o nitrato não somente modula a transcrição da redutase do nitrato, mas é também um importante determinante da estabilidade de transcrições (Galangau et al., 1988). Um severo ou prolongado estresse de nitrato pode não somente resultar na redução da transcrição de genes, mas também em reduzida estabilidade na tradução da proteína redutase do nitrato (Galangau et al., 1988; Ferrario et al., 1995). Conforme Kaiser & Brendle-Behnisch, (1995) a redutase do nitrato tem maior atividade em meio ácido (pH=5,2 com redução de 0,5 a 1 unidade), além disso a ativação ocorre devido a desfosforilação da proteína nitrato redutase, pois quando ácido okadaico foi adicionado a enzima foi inibida pela inativação da nitrato redutase fosfatase.

Dhindsa & Bewley (1977) estudaram o efeito do estresse hídrico em musgos sensíveis e não-sensíveis à dessecação e observaram que a síntese protéica foi mais inibida na espécie sensível que na não-sensível, e o estresse hídrico muda o padrão da síntese protéica. A ação primária do stress hídrico pode ser em romper polissomos ligados à membrana pela contração das membranas, reduzindo os sítios de ligação. Há uma perda de polissomos que não são mediados através do aumento da atividade ribonuclease durante o stress hídrico ou dessecação. Tem sido sugerido que a ação primária do stress hídrico pode ser em romper polissomos ligados a membrana pela contração reduzindo assim o número de sítios de ligação. Danos à membrana podem restringir a síntese protéica.

Pinheiro et al., (2001) observaram redução na taxa de proteína solúvel em folhas de tremoço em resposta ao estresse hídrico, ainda estas proteínas são tipicamente relacionadas a resposta a estresses. Além disso, o estresse hídrico pode induzir mudanças na síntese protéica, o ABA pode proteger as plantas de maiores danos devido à desidratação além de promover a síntese protéica como observado por Jiang & Huang, (2002). Plantas sob estresse hídrico e tratadas com ABA apresentaram altos níveis de polipeptídeos de 20-kDa sugerindo que estas proteínas podem melhorar a função do ABA na tolerância ao estresse hídrico. Em cultivares tolerantes à seca de *Vicia faba* sob estresse hídrico, o conteúdo intercelular de proteínas solúveis foi aumentado e reduzido em cultivares não-tolerantes. Além disso, a cultivar tolerante apresentou maiores atividades de enzimas apoplásticas do que na cultivar tolerante em condições na presença e ausência do estresse hídrico. O aumento da atividade das enzimas: fosfatase,

peroxidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\alpha$ -manosidase, fosfodiesterase e  $\beta$ -galactosidase, pode indicar tolerância a seca (El-Tayeb & Ahmed, 2007).

Barathi et al., (2001) observaram o acúmulo de polipeptídeos, com massa molecular de 78 e 92 KDa, em folhas de amora sob estresse hídrico. Um estudo do efeito da salinidade e deficiência de íons em dois gêneros da camomila mostrou que o padrão de proteínas extraídas de folhas sob estresse salino não foi diferente das plantas controle, exceto pelos novos 14 e 18 polipeptídeos que apareceram em indivíduos tratados apenas com estresse. Em plantas sob estresse salino e deficiência de íons houve a perda de polipeptídeos, as raízes sintetizaram osmotina e as folhas produziram polipeptídeos de 26 kDA MW (Siahsar et al., 2011). Radha & Reddy (1994) observaram a presença de osmotina em arroz sob estresse salino. Um conjunto de proteínas que aumentaram de 1,3 para 5,0 vezes sob estresse hídrico, a principal tendência parece ser para enzimas envolvidas em vias metabólicas tais como glicólise e ciclo de Krebs e a via mais especializada, a fenil-propanóide (Riccardi et al., 1998).

### 2.3 MECANISMOS DE RESPOSTA AO ESTRESSE HIPÓXICO

Plantas submetidas ao estresse de oxigênio exibem sintomas como murchamento, clorose das folhas, hipertrofia do caule, alterações morfoanatômicas, diminuição do crescimento e da produtividade e morte das raízes (Bradford & Yang, 1981; Kramer, 1983). Sá et al., (2004) observaram o aumento da densidade de raízes conforme o rebaixamento do nível freático em plantas de ervilha. Plantas tolerantes a anoxia são capazes de formar raízes adventíceas e desenvolvimento de aerênquima para facilitar o transporte de oxigênio em tecidos em anaerobiose. Alguns estudos mostraram a redução do conteúdo relativo de água e outros a indiferença no parâmetro; em contraste o decréscimo da condutância estomática devido ao fechamento estomático é considerado uma reação geral em raízes sob hipoxia (Dreyer et al., 1991; Armstrong et al., 1994; Vartapetian & Jackson, 1997).

Gregório et al., (2008) mostraram que plantas de *Tabebuia alba* (ipê-rosa) sob alagamento em água parada e corrente apresentaram redução na área foliar e diâmetro do colo, Pires et al., (2002) estudando cultivares de soja sob hipoxia observaram epinastia foliar e formação de rachaduras no caule na região submersa,

já algumas horas após a inundação. Posteriormente, houve alargamento (hipertrofia) e formação de uma região esponjosa na base do caule, e também o surgimento de raízes adventícias, morte da raiz principal e o desenvolvimento de raízes laterais. A maior parte dessas modificações é desencadeada pela elevação nos teores de etileno interno, quando da inundação (Jackson, 1985).

A taxa fotossintética também é prejudicada pelo estresse de oxigênio e pode ser atribuída a diversos fatores: baixo potencial hídrico e condutância estomática, baixas atividades de enzimas fotossintéticas, prejuízos no transporte de fotoassimilados e baixo conteúdo de clorofila (Huang et al., 1994; Liao & Lin, 1994). A redução na condutância estomática pode diminuir a taxa de fotossíntese, mas o estresse de inundação pode afetar diretamente o aparelho fotossintético, independentemente da condutância estomática (Arruda & Calbo, 2004). A redução na regeneração da RUBISCO (Bradford, 1983), a inibição da fotossíntese devido ao acúmulo de amido (Topa & Cheeseman, 1992) e a redução na atividade da RUBISCO (Pezeski, 1994) têm sido sugeridas como causas da redução da fotossíntese em plantas submetidas à inundação. Regehr et al., (1975) e Phung & Knipling (1976) sugeriram que a abertura estomática controla a taxa de troca de CO<sub>2</sub> (CER) em plantas sob hipoxia, pois a redução da condutância estomática coincidiu com a redução da CER e a baixa concentração intercelular de CO<sub>2</sub> foi observada (Davies & Flore, 1986). No entanto o decréscimo da CER independente da condutância estomática em girassol foi observada (Guy & Wample, 1984). A redução da regeneração da ribulose 1,5 bisfosfato (Bradford, 1983) ou inibição por feedback resultante do acúmulo de amido (Wample & Davis, 1983; Vu & Yelenosky, 1991; Topa & Cheeseman, 1992) foram sugeridas em estar envolvidas em fatores não estomáticos. Conforme Drew (1997), em hipoxia a pressão parcial de oxigênio é baixa o suficiente para limitar a produção de ATP pela mitocôndria enquanto em anoxia a produção mitocondrial de ATP é insignificamente comparada àquela gerada pela glicólise e fermentação.

O transporte no floema é inibido pela hipoxia diminuindo assim o fornecimento de carboidratos às raízes (Barta, 1987; Waters et al., 1991). O fornecimento de carboidratos e a regulação do metabolismo de carboidratos e de energia são importantes para o longo estresse hipóxico (Andreev et al., 1991; Schlüter et al., 1996). Às raízes hipóxicas ou anóxicas falta energia suficiente para sustentar processos fisiológicos dos quais dependem as partes aéreas. As raízes sob hipoxia,

a glicólise e fermentação podem exceder o metabolismo aeróbio, e a respiração mitocondrial cessa na ausência de aceptor de elétron. Como resultado, a geração de ATP cai de 36 para 2 Moles por Mol de glicose metabolizada (Fox et al., 1994; Morard & Silvestre, 1996). Embora o acoplamento da glicólise com fermentação permita somente síntese limitada de ATP, pela fosforilação a nível de substrato, regenera  $\text{NAD}^+$  e remove o excesso de prótons (Fan et al., 1997). Em tais situações o “efeito Pasteur” pode ocorrer que é a glicólise acelerada sob anoxia a fim de atender a demanda de ATP, a despeito da baixa eficiência da produção de ATP comparada com a respiração aeróbia (Vanlerberghe et al., 1990; Vanlerberghe & Turpin, 1990). No entanto, o “efeito Pasteur” per se não mostra alguma correlação com tolerância à hipoxia (Kennedy et al., 1992).

Quando a fosforilação mitocondrial é inibida pela ausência de  $\text{O}_2$  e a glicólise e a fermentação são promovidas, há acúmulo de diversos produtos como etanol, lactato, alanina, Gaba, succinato e malato (Fan et al., 1988; 1997). De acordo com Bouny & Saglio (1996), a queda do pH e concentração de ATP ocorrente em anaerobiose limita a fosforilação de hexoses pelas quinases. Embora a estrutura mitocondrial possa ser afetada pela anaerobiose, todas as enzimas do ciclo de Krebs continuam presentes e a parcial operação do ciclo é importante no fornecimento de precursores de diversas vias biossintéticas como assimilação de amônio ou síntese da molécula heme (Andreev et al., 1991; Kennedy et al., 1992; Ricard et al., 1994). As vantagens da fermentação anaeróbia são baseadas no aumento da produção de ATP por mol de substrato fermentado, formação de  $\text{NAD}^+$  e dissipação de agentes reduzidos e manutenção do pH celular (Souza & Sodek, 2002). A primeira via de resposta a hipoxia é a fermentação de piruvato a lactato pela lactato desidrogenase. Em vista dos diferentes ótimos de pH das enzimas citosólicas envolvidas na fermentação, quando o pH intracelular reduz há mudança da fermentação láctica para a fermentação alcoólica (Taiz & Zeiger, 2009).

A regulação hormonal em vista à tolerância à hipoxia é baseada no aumento da concentração de etileno, o qual interage com giberelinas e auxina. Em condições de hipoxia o etileno participa na extensão da parte aérea e na morte celular programada do desenvolvimento de aerênquima e na formação de raízes adventíceas. Em plantas de tomate, a base molecular para aumento na síntese de etileno esta na indução da ACC-sintase, o ACC sintetizado nas raízes é então

transportado para a parte aérea onde é convertido em etileno (Grichko & Glick, 2001).

Sob hipoxia proteínas anaeróbicas (ANPs) são sintetizadas, a maioria delas envolvidas na mobilização de carboidratos para fermentação (Sachs et al., 1996). Muito tem sido investigado sobre a indução transcricional sob anaerobiose das enzimas da glicólise e fermentação alcoólica (Peschke & Sachs, 1993). A hipoxia também estimula a interconversão de aminoácidos livres, enquanto o aumento de aminoácidos livres é devido a proteólise (Reggiani et al., 1988).

## 2.4 ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ETNOBOTÂNICOS DA GABIROBEIRA

A família Myrtaceae Jussieu compreende 3.500 espécies, subordinadas a 100 gêneros. Seus representantes apresentam porte arbustivo ou arbóreo (Barroso, 1984). Segundo Gemtchūjnicov (1976) e Legrand & Klein (1977), a família é dividida em duas subfamílias, a saber:

- 1 - Leptospermoideae, cujos representantes apresentam frutos secos do tipo cápsula, aquênio e pixídio. Sua maior dispersão se dá na Austrália e Polinésia, e;
- 2 - Myrtoideae, que fornecem frutos carnosos, geralmente baciformes.

O gênero *Campomanesia*, a que pertence à espécie em estudo, está incluído na subfamília Myrtoideae (Cronquist, 1968, 1984; Landrun, 1986). As espécies desse gênero possuem importância econômica diversificada. Seus frutos comestíveis são consumidos por várias espécies de pássaros e mamíferos, sendo também usados na produção de doces caseiros, sorvetes, aguardente, licores e refrescos. (Vallilo et al., 2005).

A espécie *Campomanesia spp* é uma Myrtaceae frutífera lenhosa, geralmente arbustos e às vezes árvores, pertencente a uma das 3.600 espécies distribuídas em mais de 100 gêneros que compõem esta família botânica (Barroso, 1991). A árvore é silvestre e se multiplica por sementes, possuindo de 15 a 25 metros de altura e 30 a 50 centímetros de diâmetro. Suas folhas são opostas, ovaladas ou oblongas, miúdas, verde-claras, inicialmente transparentes e mais tarde opacas (Alzugaray, 1984). As flores são brancas solitárias ou reunidas nas axilas das folhas. O fruto é

uma baga globosa achatada, amarelada, comestível, com 5 a 6 sementes coriáceas miúdas (Cravo, 1994).

A árvore fornece madeira branca bastante resistente e a lenha goza de preferência para a sapecagem e torrefação da erva-mate. É classificada como árvore produtora de alimentos para pássaros e suas flores são freqüentemente visitadas pelas abelhas. Os frutos suculentos são apreciados tanto pelos homens quanto pelos animais (Alzugaray, 1984). Segundo Barroso (1991), o embrião das sementes das Myrtaceae oferece amplo campo de investigação e tem servido de base para sua classificação em tribos, sendo que a *Campomanesia* apresenta uma forma mais especializada do “embrião pimentóide” (Klafke, 2009).

Cruz & Kaplan (2004) ao estudarem o uso medicinal de plantas das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil, observaram que estas duas famílias apresentam um grande número de espécies e são componentes importantes de muitos biomas brasileiros, mas relativamente poucas são empregadas para fins medicinais. No levantamento realizado verificaram que a família Myrtaceae apresentou um número maior de espécies empregadas para fins medicinais, somando 71,4 % do total, enquanto Melastomataceae obteve cerca de 28,6% das citações. Espécies de Myrtaceae são empregadas principalmente em distúrbios gastrointestinais, estados hemorrágicos, doenças infecciosas, sua ação podendo estar relacionada às propriedades adstringentes da planta. As partes mais usadas são as folhas, cascas e também os frutos que são comumente consumidos. Quanto ao gênero *Campomanesia*, as espécies usadas com fins medicinais encontradas, foram: *Campomanesia guazumifolia*, de acordo com Dorigoni et al., (2001); *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg, (Dorigoni et al., 2001; Piva, 2002; Coelho de Souza et al., 2004); *Campomanesia coerulea* O. Berg (Berg, 1993; Vieira & Martins, 2000); e, *Campomanesia aurea* Berg (Mors et al., 2000).

O conhecimento a respeito da gabirobeira é importante para sua inserção no mercado consumidor, preservação em seu estado natural e implantação de futuras lavouras comerciais. Entretanto, não há estudos inerentes à gabirobeira, tem se encontrado na literatura apenas que a espécie por ser rústica, é de fácil manutenção (Periotto, 2008). No entanto, Assis et al., (2010) mostraram que a responsividade à micorriza de *Glomus etunicatum*, e na nutrição com calcário filler, super fosfato triplo e uréia. Ainda não há estudos que comprovem a ‘fácil manutenção’ da espécie,

existe atualmente uma grande carência de estudos que comprovem sua responsividade quanto à nutrição mineral e manejos culturais.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi instalado em vasos na casa de vegetação da Universidade Federal de Goiás – Campus Jatobá. As análises bioquímicas foram conduzidas no Laboratório de Bioquímica no período de no período de 10/02/2011 a 28/02/2011.

#### 3.1.2 TRATAMENTOS UTILIZADOS E CONDUÇÃO DAS PLANTAS

Foram utilizadas mudas de *Campomanesia sp* oriundas do plantio de sementes coletadas a campo no município de Jataí-GO. Utilizou-se o horizonte subsuperficial de um Latossolo Vermelho Distroférico, coletado no próprio Campus. Depois de seco ao ar e passado em peneira de 5 mm, realizou-se calagem usando calcário filler para correção e elevação da saturação de bases para 60%, conforme recomendação de Silva et al., (1997). Em seguida o solo foi condicionado em vasos com capacidade máxima de 5 Kg e mantidos molhados durante 15 dias (Furtini-Neto et al., 1999).

Após atingir saturação por bases, procedeu-se transplântio das mudas de gabioba, estas com idade próxima a um ano e meio e com altura entre 15 e 30 cm, conduzindo-se uma planta por vaso. Todas as plantas receberam fertilização basal constituída por: 55 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio na forma de uréia, 210 Kg ha<sup>-1</sup> na forma de superfosfato triplo e 120 Kg ha<sup>-1</sup> de cloreto de potássio, no momento e 64 dias após o transplântio. A umidade do solo foi mantida em torno de 70% do volume total de poros por meio de irrigações diárias. As plantas permaneceram sob tais condições durante 78 dias. Este período fez-se necessário para que todas as plantas superassem o período de estresse devido o transplântio das mudas aos vasos e em vista de sanar deficiência nutricional e garantir homogeneidade no desenvolvimento das plantas.

Em seguida foram introduzidos três tratamentos: déficit hídrico, disponibilidade hídrica (controle) e hipoxia. Em déficit hídrico as plantas não foram irrigadas, em disponibilidade hídrica as plantas foram irrigadas diariamente e em hipoxia o solo foi encharcado até atingir lâmina d'água de 2 cm acima da superfície do solo. A partir do momento de introdução dos tratamentos, estes persistiram durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias.

### 3.1.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

Ao fim de cada período dos tratamentos, determinou-se a atividade da enzima redutase do nitrato em folhas e raízes das plantas de gabioba. Com a finalidade de fornecer subsídios à compreensão dos resultados, também foram feitas as seguintes análises bioquímicas: conteúdo de açúcares solúveis totais, sacarose, amido,  $\alpha$ -aminoácidos ou aminoácidos livres totais, nitrogênio total, proteína bruta e solúvel.

O crescimento vegetativo das plantas foi analisado mediante a determinação das variáveis: teor de clorofilas ativas, altura de plantas, diâmetro de caule, número de folhas, área foliar, comprimento da raiz principal e matéria fresca e seca de folhas e raízes.

### 3.1.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO

As coletas de material vegetal, folhas e raízes foram realizadas em horário fixo, 9 h. Esse procedimento foi adotado, para permitir a comparação da ação enzimática nas diferentes condições do experimento, com o objetivo de minimizar a variação de irradiância ao longo do dia, sobre a atividade da enzima. A determinação obedeceu ao 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 um agente permanente (propanol) e do substrato (nitrato), reflete a atividade potencial da nitrato redutase "in situ" (Hageman & Reed, 1980).

A determinação da atividade da redutase do nitrato foi realizada "in vivo", as amostras de tecido fresco de folhas e raízes foram coletadas e lavadas com água

destilada. Em seguida, retirou-se fragmentos de 200 mg de massa os quais foram colocados em tubos de ensaio contendo 5 ml de solução tampão  $\text{PO}_4$ , pH 7,4 (50 mM +  $\text{KNO}_3$  200 mM). Essas amostras foram infiltradas à vácuo durante 1 minuto com a finalidade de aumentar a penetração da solução nos tecidos. Os tubos de ensaio contendo o material vegetal foram incubados em câmara termostática tipo B.O.D a 30° C por 1 hora ao abrigo da luz, envoltas com folha de alumínio. A paralização da reação foi feita com a adição de 1 ml de sulfanilamida a 1 % em HCl (2 N) e, a seguir, adicionou-se 1 ml de  $\alpha$ -naftilenodiamino 0,05 %.

A determinação da atividade da redutase do nitrato foi feita em espectrofotômetro a 540 nm, quantificando-se a quantidade de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) produzida, comparando os valores obtidos com uma curva padrão para esse íon, previamente estabelecida. Os resultados obtidos dessa variável foram expressos em  $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$ .

### 3.1.5 PREPARO DOS EXTRATOS PARA ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Para raízes, cerca de 0,2 g (200 mg) de material vegetal moído foi macerado em 10 mL de água destilada e em seguida filtrado. O resíduo foi novamente ressuspenso em água completando-se o volume para 25 mL.

Para folhas, cerca de 0,2 g de material vegetal moído foi homogeneizado em etanol 80% para solubilização de clorofilas e em seguida macerado em 10 mL de água destilada. O resíduo foi novamente ressuspenso em água completando-se o volume para 25 mL.

### 3.1.6 DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS (AST)

Para determinação de AST utilizou-se o método proposto por Yemm & Willis (1954), que fundamenta-se na ação hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre os carboidratos, e na conseqüente condensação com antrona, formando um composto colorido (Bezerra Neto & Barreto, 2011).

O reagente antrona foi preparado na hora do uso, diluindo antrona em ácido sulfúrico puro na obtendo-se solução a 0,2%. Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  do extrato vegetal

(item 3.1.5) foram pipetadas em tubos de ensaio e o volume ajustado a 1 mL com água destilada. Em seguida, os tubos foram transferidos para banho de gelo, e adicionou-se 2,0 mL do reagente antrona, resultando em 3,0 mL de volume reacional. Os tubos foram fechados hermeticamente e agitados suavemente até a mistura se apresentar homogênea. Para desenvolvimento da cor, transferiram-se os tubos para banho-maria a 100°C por 3 minutos, e em seguida novamente para banho de gelo para resfriamento.

O conteúdo dos tubos foi homogeneizado e transferido para cubeta espectrofotométrica e as leituras foram realizadas no comprimento de onda de 620 nm. A concentração de AST foi determinada conforme curva-padrão pré-estabelecida utilizando-se glicose anidra ( $PM=180,16 \text{ g mol}^{-1}$ ) nas concentrações: 0, 6, 12, 24, 36, 48 e 60  $\mu\text{g}$ .

### 3.1.7 DETERMINAÇÃO DE SACAROSE

A determinação de sacarose se baseia na quantificação de oligossacarídeos solúveis conforme método da antrona (Yemm & Willis, 1954), com a prévia destruição de monossacarídeos (Van Handel, 1968) pela ação do hidróxido de potássio (KOH). Para tal, 100  $\mu\text{L}$  do extrato vegetal (item 2.1.5) foram pipetados em tubos de ensaio, o volume ajustado para 1 mL com água destilada. Para destruição de monossacarídeos acrescentou-se 200  $\mu\text{L}$  de KOH a 30% em metanol. Os tubos foram fechados hermeticamente e levados em banho-maria por 10 minutos a 100°C e em seguida resfriados em banho de gelo.

Ainda sob resfriamento, 2,0 mL do reagente antrona foram acrescentados aos tubos, que foram em seguida homogeneizados suavemente e novamente transferidos para banho-maria por 3 minutos a 100°C, e logo após imediatamente resfriados em banho de gelo. O conteúdo dos tubos foi homogeneizado e transferido para cubeta espectrofotométrica e as leituras foram realizadas no comprimento de onda de 620 nm. A concentração de sacarose foi determinada conforme curva-padrão pré-estabelecida utilizando-se sacarose anidra ( $PM=342,0 \text{ g mol}^{-1}$ ) nas concentrações: 0, 25, 50, 100 e 200  $\text{mg L}^{-1}$ .

### 3.1.8 DETERMINAÇÃO DE AMIDO

O método utilizado para determinação de amido foi o mesmo para AST (item 3.1.6), no entanto houve-se a necessidade de remoção dos carboidratos solúveis presentes no tecido. A remoção foi feita procedendo o método para obtenção dos extratos (item 3.1.5), porém o material utilizado foi o precipitado da suspensão, cujo o conteúdo de carboidratos solúveis foi removido pela água e retida no extrato líquido. Para determinação de amido conforme Yemm & Willis (1954) fez-se necessária a hidrólise do amido através de um ácido mineral forte e posterior reação da antrona com glicose formada. Pesou-se 0,2 g do precipitado em tubos de ensaio, foram adicionados 13,0 mL de ácido perclórico 52%. Agitou-se ocasionalmente por um período de 15 minutos e adicionou-se mais 10 mL de água. A solução foi posteriormente centrifugada e o volume completado a 25 mL com água destilada. O produto da hidrólise do amido é a glicose, esta foi em seguida determinada com a reação da antrona (item 3.4.6). O conteúdo de amido foi determinado calculando-se estequiometricamente conforme a seguinte equação conforme Neto & Barreto, (2011):

Tabela 1: Equação estequiométrica para determinação de amido proposta por Neto & Barreto, (2011) o qual quantifica a quantidade de glicose hidrolizada conforme o método de Yemm & Willis, (1954) multiplicando-se pelo fator 0,9.

Amido		Água		Glicose
$(C_6H_{10}O_5)_n$	+	$nH_2O$	-----	$nC_6H_{12}O_6$
162	+	18	-----	180
		162 (amido)	-----	180 (glicose)
	x	-----		1
	Amido	=		Glicose x 0,9

### 3.1.9 DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES TOTAIS

Para determinação de  $\alpha$ -aminoácidos, 100  $\mu$ L do extrato vegetal (item 3.1.5) foram pipetados em tubos de ensaio, o volume foi ajustado para 1 mL com água destilada. Os reagentes A, B e C, (A – tampão citrato de sódio 0,2 M, pH=5,0; B – Ninhidrina 5% em Metil Celosolve e, C – KCN 2% em Metil Celosolve) preparados no dia do uso foram adicionados aos tubos, nas doses 0,5, 0,2 e 1,0 mL, respectivamente; e em seguida foram agitados e transferidos para banho-maria a 100°C por 20 minutos para desenvolvimento da cor (Yemm & Cocking, 1955). Posteriormente, completou-se o volume para 4 mL com etanol 60%. O conteúdo dos tubos foi homogeneizado e transferido para cubeta espectrofotométrica e as leituras foram realizadas no comprimento de onda de 570 nm. A concentração de  $\alpha$ -aminoácidos foi determinada conforme curva-padrão com glicina nas concentrações: 0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,10  $\mu$ mol de  $\alpha$ -aminoácidos.

### 3.2.1 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA SOLÚVEL

Para proteína solúvel, 100  $\mu$ L do extrato vegetal (item 3.1.5) foram pipetados em tubos de ensaio, o volume foi ajustado para 1 mL com água destilada e acrescentou-se 5 mL do reagente de Bradford. A suspensão foi homogeneizada em 'vortex', e foram realizadas leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm. A concentração de proteína solúvel foi estimada conforme curva padrão utilizando-se albumina de soro bovino (BSA) nas concentrações: 0, 20, 40, 60, 80 e 100  $\mu$ g de proteína solúvel (Bradford, 1976).

### 3.2.2 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA BRUTA

Para determinação de proteína bruta, cerca de 0,2 g de amostra seca foi digerida em 10 mL de ácido sulfúrico puro juntamente com mistura catalítica constituída por sulfato de cobre e sulfato de sódio. A digestão procedeu-se durante 4 horas em bloco digestor com temperatura máxima atingida de 400°C. Após resfriamento acrescentou-se 10 mL de água destilada e seguiu-se destilação com

auxílio de NaOH 50%. O destilado foi recolhido em solução de ácido bórico e indicador misto, que foi titulado com ácido clorídrico (HCl) 0,1 N, padronizado com carbonato de sódio. A concentração de nitrogênio nas amostras foi determinada conforme curva-padrão utilizando soluções-padrão nas seguintes concentrações: 0; 3,14; 6,28; 9,42; 12,56 e 15,70 mg de nitrogênio. O teor de proteína total foi obtida multiplicando-se a concentração de nitrogênio com fator 6,25.

A determinação de proteína-bruta baseou-se na diferença entre o teor de proteína total e proteína solúvel previamente determinada (item 3.2.1) conforme Bradford (1976) nas mesmas amostras.

### 3.2.3 CRESCIMENTO VEGETATIVO

A determinação da altura (cm) das plantas foi feita utilizando régua milimetrada entre o nível do solo, na região do colo da planta, e a inserção do último par de folhas expandidas.

O diâmetro do caule (mm) foi determinado utilizando um paquímetro digital, obtendo as medidas na região do caule localizado abaixo da cicatriz de inserção das folhas cotiledonares.

O número de folhas, área foliar e comprimento da raiz principal foram quantificados utilizando o software ImageJ, baseadas em fotografias digitais. As imagens digitais foram obtidas utilizando-se uma câmera digital da marca Sony, modelo DSC-P31 com 2.0 mega pixels de resolução. As fotos foram registradas com uma resolução de 640 x 480 pixels, respeitando, sempre, uma distância fixa de 15 cm entre a superfície das folhas e raízes e a objetiva da câmara.

As imagens digitais foram avaliadas pelo Software ImageJ versão 1.32j (Wayne Rasband National Institute of Health, USA). As imagens obtidas possuíam 1,2 MB em RGB, sendo reduzidas para 300 KB com 8 bits. Foi definida escala em cm para análise computacional convertendo-se a distância conhecida em pixels para cm com base na escala registrada à foto da amostra.

### 3.2.4 ANÁLISE DE CRESCIMENTO

Utilizando-se os parâmetros avaliados no item 3.2.3 determinou-se a análise de crescimento conforme as seguintes equações:

Área foliar específica (AFE):

$$AFE = AF / PF \text{ (área foliar } dm^2 / \text{ peso foliar } g^{-1}); \text{ expressa em } dm^2 g^{-1}.$$

Ração de peso foliar (RPF):

$$RPF = PF/Pt \text{ (matéria seca da folha } g^{-1} / \text{ matéria seca total } g^{-1}); \text{ expressa em } g^{-1} g^{-1}.$$

Razão de área foliar (RAF):

$$RAF = AF/P \text{ (área foliar } dm^2 / \text{ matéria seca total } g^{-1}); \text{ expressa em } dm^2 g^{-1}.$$

Taxa de crescimento absoluto (TCA):

$$TCA = P_2 - P_1 / t_2 - t_1 \text{ (} P_2 = \text{ matéria seca total } g^{-1} \text{ no tempo final, } P_1 = \text{ matéria seca total } g^{-1} \text{ no tempo inicial, } t_2 = \text{ tempo final e } t_1 = \text{ tempo inicial); expressa em } g^{-1} \text{ dia}^{-1}.$$

Taxa de crescimento relativo (TCR):

$$TCR = (\ln P_2 - \ln P_1) / t_2 - t_1; \text{ (} \ln P_2 = \text{logaritmo natural da matéria seca total } g^{-1} \text{ no tempo final, } \ln P_1 = \text{logaritmo natural da matéria seca total } g^{-1} \text{ no tempo inicial, } t_2 = \text{ tempo final e } t_1 = \text{ tempo inicial); expressa em } g^{-1} g^{-1} \text{ dia}^{-1}.$$

Taxa assimilatória líquida (TAL):

$$TAL = (P_2 - P_1) / (Af_2 - Af_1) * (\ln Af_2 - \ln Af_1) / (t_2 - t_1); \text{ (} P_2 = \text{ matéria seca total } g^{-1} \text{ no tempo final, } P_1 = \text{ matéria seca total } g^{-1} \text{ no tempo inicial, } Af_2 = \text{ área foliar } dm^2 \text{ no tempo final, } Af_1 = \text{ área foliar } dm^2 \text{ no tempo inicial, } t_2 = \text{ tempo final e } t_1 = \text{ tempo inicial); expressa em } g^{-1} dm^2 \text{ dia}^{-1}.$$

Índice de área foliar (IAF):

$$IAF = TCR * RAF \text{ (taxa de crescimento relativo / razão de área foliar); expressa em } dm^2 \text{ dia}.$$

O teor de clorofilas ativas foi determinado em duas folhas completamente expandidas, localizadas entre as folhas mais jovens e as mais maduras. Utilizou-se o medidor eletrônico de teor de clorofila Clorofilog®, situando-o no limbo na direção paralela à nervura central. Utilizou-se a média como variável a ser analisada.

### 3.2.5 CONTEÚDO DE MATÉRIA FRECA, SECA E ÁGUA

Imediatamente após coleta, as plantas foram lavadas com água destilada e pesadas em para quantificar o peso fresco da planta inteira ( $g^{-1}$ ). Em seguida pesou-se em separado raízes e parte aérea (folhas, caule e pecíolo) para quantificar conteúdo de matéria fresca de raízes e parte aérea ( $g^{-1}$ ).

Raízes e parte aérea foram secas em estufa de ventilação forçada à 65°C, até atingir peso constante. Em seguida as amostras foram levadas à estufa de 105°C durante 24 horas determinando-se o peso ao final do período, possibilitando a quantificação do conteúdo de matéria seca de raízes e parte aérea ( $g^{-1}$  planta) (Silva, 2002).

O conteúdo de água na biomassa fresca foi determinado conforme a equação:

Água = (peso fresco total – peso seco total / peso fresco total); sendo expresso em  $g^{-1}$  planta.

Água = (peso fresco total – peso seco total / peso seco total); sendo expresso em  $g^{-1}$  planta.

### 3.2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância procedeu-se conforme delineamento inteiramente casualizado comparando o efeito dos três tratamentos (déficit hídrico, disponibilidade hídrica ou controle e hipoxia) dentro de cada período de persistência (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias).

Quando F significativo realizou-se o teste Tukey para comparação de médias a 5% de significância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

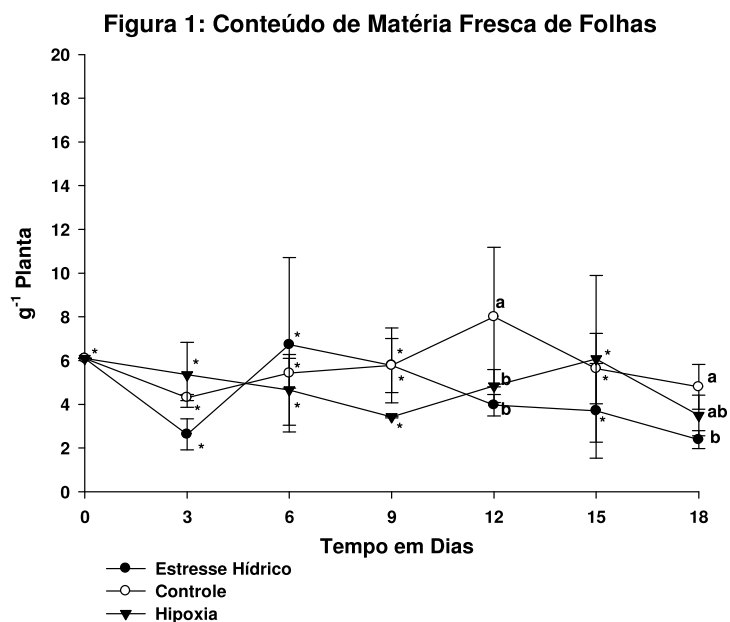
### 4.1 Conteúdo de Matéria Fresca de Folhas e Raízes

Foram observadas diferenças significativas no conteúdo de matéria fresca de folhas de gabirobeiras submetidas aos diferentes tratamentos (**Figura 1**), o estresse hídrico e hipoxia acarretaram em reduções durante 12 e 18 dias. Em raízes, o conteúdo de matéria fresca não foi afetado significativamente pelos tratamentos, a produção variou entre 3 e 6 g<sup>-1</sup> planta (**Figura 2**). Ainda que tratamento hipoxia não afetasse significativamente a matéria fresca de raízes, nota-se que o tratamento obteve menores produções de biomassa, contrastando claramente com o tratamento controle, o qual apresentou incrementos crescentes da produção de biomassa com o prolongamento do tempo.

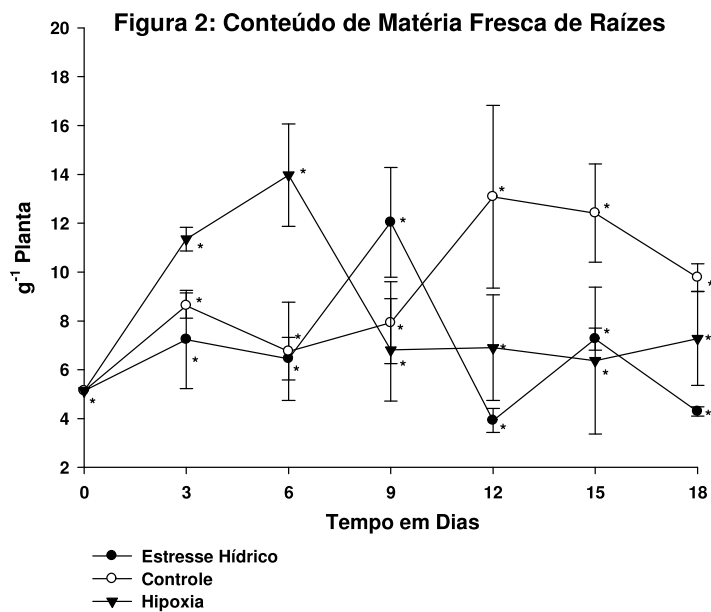
Conforme a **Figura 3**, o conteúdo de matéria fresca total de gabirobeiras no tratamento controle apresentou dinâmica inversa em relação ao estresse hídrico e hipoxia, pois nestes o prolongamento dos tratamentos induziu menor produção de massa fresca. Durante 6 dias, o conteúdo de massa fresca total foi reduzido pelo estresse hídrico, enquanto hipoxia manteve taxa semelhante ao controle. Logo durante 9 dias houve redução no conteúdo de massa fresca em hipoxia e aumento em estresse hídrico, e, durante 12 dias houve redução em estresse hídrico e hipoxia.

Em plantas sob estresse hídrico, logo aos 15 dias as folhas apresentaram sinais de desidratação e senescência, porém a abscisão não havia ocorrido. A maior produção de matéria fresca em resposta ao estresse hídrico provavelmente ocorreu devido fechamento estomático, que atua inibindo mais a transpiração que reduzindo as concentrações intercelulares de CO<sub>2</sub>. Desta forma, a fotossíntese ainda ocorre produzindo biomassa fresca até o estresse hídrico tornar-se rigoroso, quando a desidratação do mesofilo inibe a fotossíntese, como nota-se aos 18 dias, quando a produção de matéria fresca decresce e a desidratação é mais intensa.

O prolongamento da hipoxia promoveu efeito semelhante ao estresse hídrico, aos 15 e 18 dias as folhas apresentaram clorose, necrose, senescência precoce de folhas, abscisão de folhas mais velhas e murchamento. Estes sinais são evidências do efeito estressante da hipoxia de raízes e que mudanças metabólicas ocorreram objetivando evitar danos na taxa fotossintética das folhas para fornecimento de energia para tecidos sob letais deficiências de oxigênio.

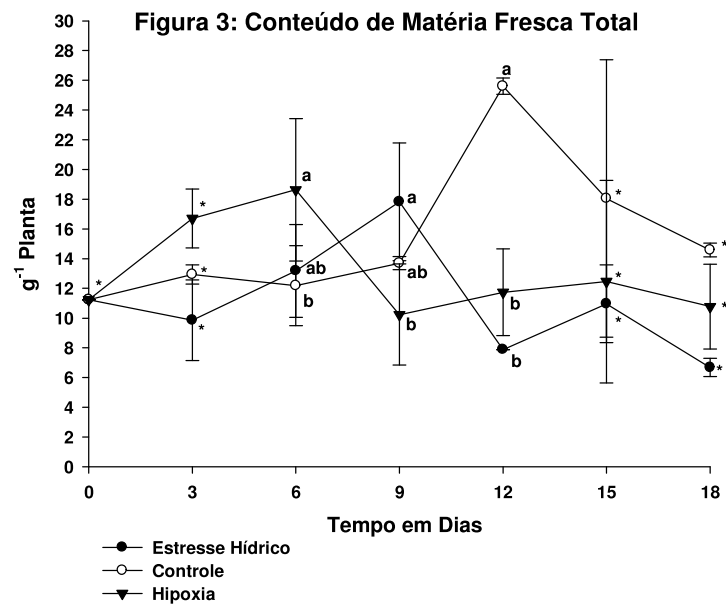


**Figura 3:** Conteúdo de matéria fresca de folhas de gabirobeiras submetidas à estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 4:** Conteúdo de matéria fresca de raízes de gabirobeiras submetidas à estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada

época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



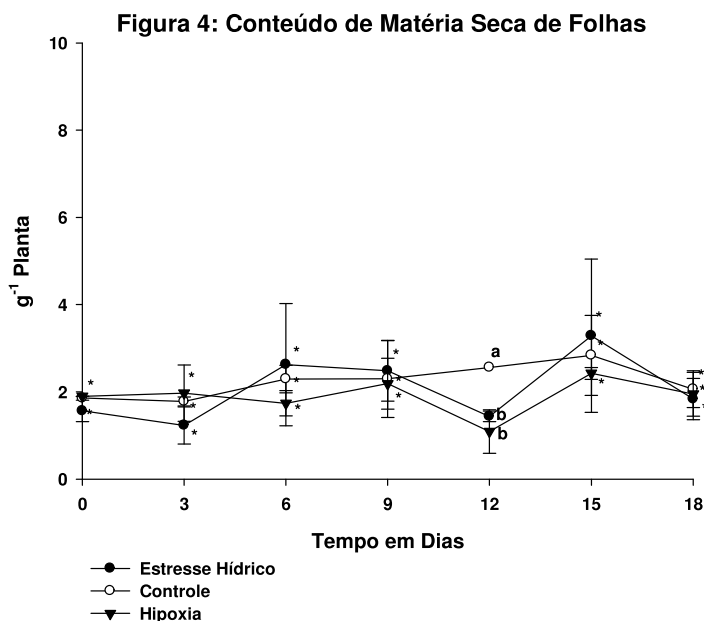
**Figura 3:** Conteúdo de matéria fresca total de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

O conteúdo de matéria seca possibilitou uma melhor análise dos efeitos na dinâmica de partição de biomassa em raízes e parte aérea em gabirobeiras sob diferentes condições ambientais. O efeito dos tratamentos na matéria seca de folhas foi significativo aos 12 dias de persistência. Neste período o estresse hídrico e hipoxia apresentaram taxas significativamente menores em relação ao controle (**Figura 4**). A matéria seca de raízes foi significativamente afetada pelo estresse hídrico e hipoxia (**Figura 5**). Aos 12 dias de estresse hídrico e hipoxia a produção de biomassa seca em raízes foi substancialmente reduzida e logo retomou a taxas semelhantes aos períodos iniciais.

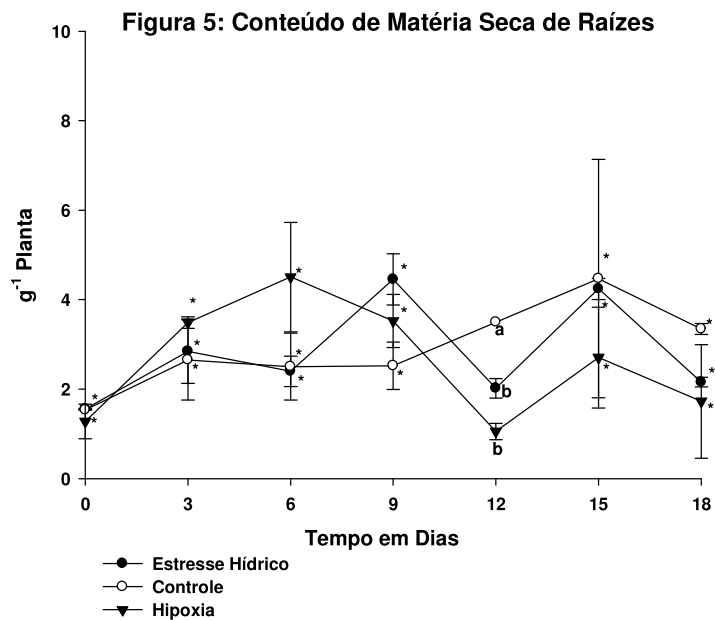
Em condições de estresse hídrico é comum as plantas fecharem os estômatos como alternativa de evitar a perda de água, mas este mecanismo prejudica a difusão de CO<sub>2</sub> na fixação em esqueletos de carbono para produção de biomassa prejudicando a fotossíntese, além da ascensão de água e nutrientes via fluxo de massa na corrente transpiratória do xilema. Plantas com raízes sob hipoxia também apresentam redução da produção de matéria seca, visto que o solo

saturado com água prejudica a absorção de água e nutrientes pelas raízes, além de efeitos negativos no aparato fotossintético acarretando reduções na taxa fotossintética e morte de raízes.

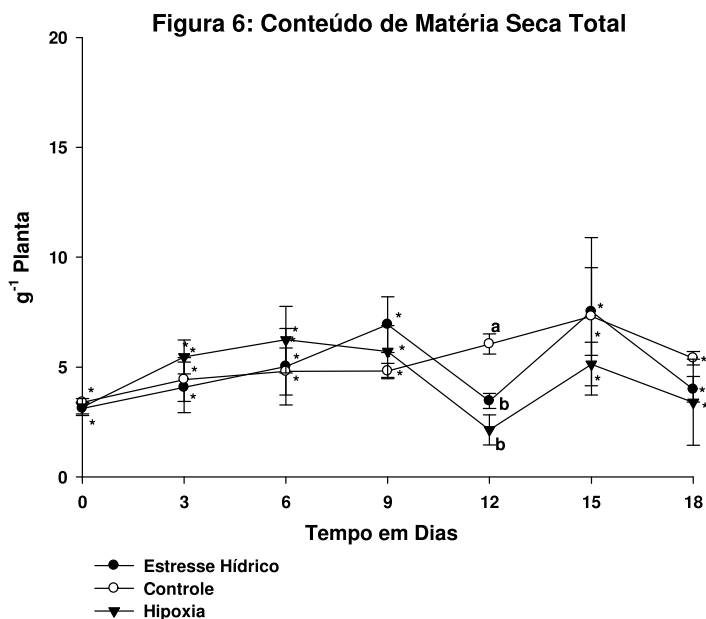
O conteúdo de matéria seca total em gabirobeiras sob estresse hídrico e hipoxia durante 12 dias foi significativamente reduzido em relação ao controle (**Figura 6**). Foram observadas diferenças significativas na razão no conteúdo de matéria seca entre raiz e parte aérea aos 18 dias de persistência dos tratamentos, nestes a menor razão ocorreu em hipoxia (**Figura 7**). Houve uma redução do acúmulo de biomassa nas raízes de plantas sob hipoxia, enquanto as plantas sob estresse hídrico apresentaram valores de razão próximos aos encontrados no tratamento testemunha. A relação em torno de 1,0 evidencia o equilíbrio funcional de produtividade na parte aérea e subterrânea da planta.



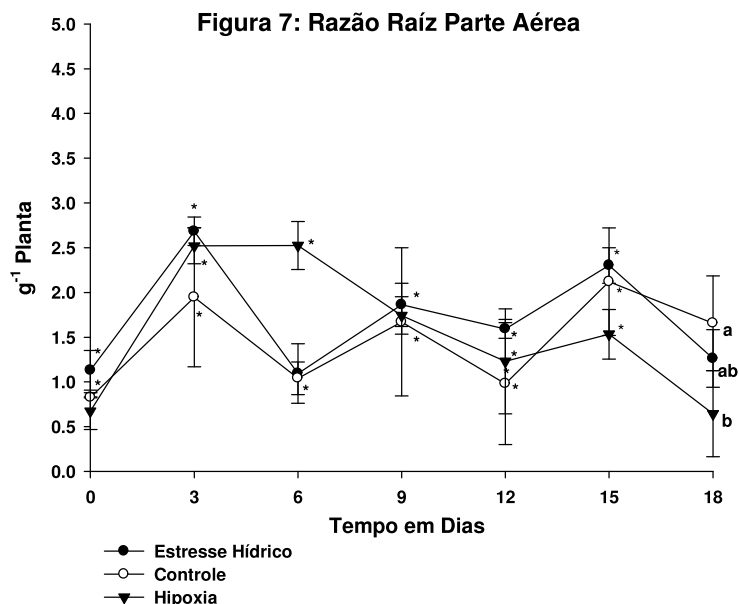
**Figura 4:** Conteúdo de matéria seca de folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 5:** Conteúdo de matéria seca de raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 6:** Conteúdo de matéria seca total de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 7:** Razão entre conteúdo de matéria seca de raízes e parte aérea de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

A partição de biomassa depende da espécie, do genótipo, plantas sob estresse hídrico tendem alocar mais energia às raízes para manutenção do crescimento em direção às zonas mais úmidas do solo. Às raízes anóxicas ou hipóxicas falta energia para manter os processos fisiológicos, a redução desta relação se deve ao metabolismo anaeróbico das raízes, ocorrendo baixa produção de biomassa. Em condições de hipoxia este fenômeno pode ocorrer devido aclimação às condições anaeróbicas, cujas algumas estratégias são: controle do pH citosólico, geração contínua de ATP pela glicólise, fermentação e armazenamento suficiente de reserva para a respiração anaeróbica durante períodos prolongados.

Foram observadas diferenças significativas no conteúdo de água na matéria fresca de folhas de gabirobeiras sob os diferentes tratamentos durante 3, 12, 15 e 18 dias (**Figura 8**). As taxas foram significativamente maiores no tratamento hipoxia e as menores foram observadas em estresse hídrico. A **Figura 9** apresenta o significativo efeito do estresse hídrico no conteúdo de água na matéria seca de folhas. O conteúdo de água foi significativamente maior aos 15 e 18 dias de hipoxia, alcançando valores superiores aqueles apresentados pelo controle no mesmo período.

O conteúdo de água na matéria fresca de raízes foi significativamente influenciado pelos tratamentos durante 3, 12, 15 e 18 dias de persistência (**Figura 10**). Em hipoxia o conteúdo de água na matéria fresca de raízes foi significativamente maior enquanto em estresse hídrico foi significativamente menor nestes períodos em relação ao controle. Conforme a **Figura 11**, o conteúdo de água na matéria seca de raízes foi significativamente afetado pelos tratamentos em todos os períodos analisados. O tratamento controle e hipoxia apresentaram valores semelhantes em todos os períodos analisados, todavia em estresse hídrico houve redução significativa no conteúdo de água, esta que manteve taxas semelhantes ao controle apenas aos 15 e 18 dias.

A redução do conteúdo de água em folhas e raízes em períodos prolongados de estresse hídrico é indício da deficiente regulação estomática em vista de evitar perda de água. Embora as folhas apresentassem sinais de desidratação, houve enrolamento objetivando a redução da área foliar e a abscisão não havia ocorrido. Como mudanças no conteúdo relativo de água em folhas são pequenas quando o controle estomático opera eficientemente, é provável que mecanismos de sensibilidade de turgor ou concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  são mais importantes no controle que o conteúdo relativo de água.

O menor acúmulo de matéria fresca em folhas sugere que a taxa fotossintética foi substancialmente afetada pelo o prolongamento do estresse hídrico e que pode ser limitada mais pela concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  do que conteúdo de água na folha. O fechamento estomático em baixos conteúdos de água na folha declina a taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  que pode ser compensada pelo consumo de carboidratos de reserva ao evolver  $\text{CO}_2$  contribuindo com o aumento da concentração intercelular e ponto de compensação de  $\text{CO}_2$  quando o conteúdo relativo de água nas folhas é fortemente reduzido (Lawlor & Cornic, 2002).

O conteúdo de matéria seca demonstra a produtividade das plantas, menores teores em estresse hídrico e hipoxia evidenciam menor fixação de  $\text{CO}_2$  e conseqüente redução da taxa fotossintética. A redução da taxa fotossintética em resposta ao estresse hídrico foi observada em clones de café Conilon devido fechamento estomático e não fotoinibição (Praxedes, 2003), também em feijoeiro em sequeiro (Gomes et al., 2000), limoeiro cravo sob estresse salino (Cruz et al., 2003). Pires et al., (2002) observaram que a cultivar de soja tolerante à hipoxia apresentaram maiores incrementos de matéria seca de raízes e parte aérea.

A redução do conteúdo de matéria seca em plantas sob hipoxia deve-se à baixa produção de ATP (Drew, 1992); b) redução na produção e translocação de fotoassimilados para respiração (Kozlowski, 1997); c) decréscimo na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> em razão do fechamento estomático (Tang & Kozlowski, 1982; Pezeshki et al., 1996); d) redução na síntese e translocação de substâncias reguladoras do crescimento como giberelinas e citocininas, do sistema radicular para a parte aérea (Reid & Bradford, 1984); e) diminuição da taxa de respiração aeróbica (Rodrigues et al., 1993). A intensa desidratação do mesofilo acarreta prejuízos na redução do carbono fotossintético pela restrição da síntese de Ribulose 1,5 bisfosfato devido redução do potencial fotossintético em baixo conteúdo relativo de água. A restrição da síntese de RUBISCO é provavelmente causada pela inibição de síntese de ATP, devido à progressiva inativação ou perda do fator de acoplamento resultante do aumento da concentração iônica (Mg<sup>2+</sup>) (Lawlor, 2002).

Muitos trabalhos têm verificado que o estresse hídrico prejudica a fotossíntese, como foi observado por Nogueira et al., (2001) em plantas de acerola com 10 dias de suspensão de irrigação, além disso houve redução na transpiração e aumento da resistência foliar de difusão de vapor. Tezara et al., (2002) observaram redução da taxa fotossintética em girassol em estresse hídrico severo. Rocha & Moraes (1997) mostraram que a taxa fotossintética líquida alcançou zero aos 30 dias de suspensão de rega em *Stryphnodendron adstringens* e que possivelmente pode suportar tempo maior de estresse hídrico em condições de campo sem sofrer danos irreversíveis das trocas gasosas por meio da redução da abertura estomática e ajustamento osmótico.

Em condições de estresse hídrico as raízes crescem em direção as zonas do solo com maior umidade, para isto há necessidade de alocação de assimilados para o ápice radicular e as raízes crescerão até que sua demanda por fotoassimilados da parte aérea iguale-se ao suprimento. A produção de biomassa em raízes depende da alocação de assimilados oriundos da fotossíntese, em condições de estresse hídrico, um maior crescimento radicular pode levar à exploração de um volume maior do solo, favorecendo a absorção de água e de elementos essenciais. O aumento do conteúdo de matéria fresca e seca de raízes segue a premissa de dependência de assimilados da parte aérea citada acima. A redução de expansão foliar reduz o consumo de carbono e energia, e uma proporção maior de assimilados vegetais

pode ser distribuída ao sistema subterrâneo, onde eles podem sustentar o crescimento posterior de raízes (Taiz & Zeiger, 2009).

Uma importante característica da resposta do sistema radicular é a capacidade de algumas raízes continuarem alongamento em potenciais hídricos que são baixos o suficiente para completa inibição do crescimento da parte aérea. Isto ocorre em raízes adventícias de milho, as quais necessitam penetrar a superfície do solo frequentemente seca (Westgate & Boyer, 1985), e em raízes primárias de uma série de espécies, as quais ajudam o estabelecimento de plântulas sob condições de seca pela segurança de fornecimento de água antes da emergência da parte aérea (Sharp, Silk & Hsiao, 1988; Spollen et al., 1993; Van der Weele et al., 2000).

Embora haja redução no conteúdo de matéria seca de raízes em plantas sob estresse hídrico, nota-se na **Figura 9** que o alongamento das raízes não foi afetado, mantendo-se semelhante ao tratamento testemunha, porém ao analisar a **Figura 10**, os prejuízos na expansão radicular corroboram com a redução do conteúdo de matéria seca de raízes. O ABA está relacionado na regulação do crescimento da raiz e parte aérea em condições de estresse hídrico por promover o acúmulo de altas concentrações em parte aérea e em tecidos de raízes sob condições de estresse hídrico e comumente inibe o crescimento quando aplicado em plantas bem irrigadas.

Estudos de Sharp et al., (2002) tem mostrado que uma importante função do ABA endógeno na manutenção do crescimento de raízes primárias em baixo potencial hídrico é em prevenir o excesso de produção de etileno. Em limoeiro “cravo” submetido a estresse salino a matéria seca de folhas foi reduzida de forma quadrática enquanto em raízes a matéria seca foi reduzida linearmente (Cruz et al., 2003). Xu et al., (2010) mostra que as plantas podem aclimatar a episódios de seca e reirrigação abandonando as partes velhas e renovando as partes novas e pela promoção de realocação de biomassa em raízes.

O grande efeito do alagamento é sobre o desenvolvimento do sistema de raízes, a diminuição do crescimento pode ser uma estratégia para economizar energia e manter um funcionamento mínimo do metabolismo nas regiões mais afetadas pela hipoxia (Batista et al., 2008), segundo Vartapetian et al., (1978) as espécies podem se adaptar metabolicamente, morfológicamente ou fisiologicamente para evitarem a anoxia. Os prejuízos no incremento de matéria fresca e seca em

folhas ocorrido em hipoxia provavelmente é efeito do fechamento estomático induzido por ABA, ocorrendo maior acúmulo de água no mesofilo e a menor concentração intercelular de  $\text{CO}_2$ .

A hipoxia afeta o conteúdo de matéria seca de folhas, plantas de aroeira não apresentaram mudanças enquanto em genipapo ocorreu redução significativa (Andrade et al., 1999). Sá et al., (2004) observaram reduções na massa seca da parte aérea das plantas de ervilha em consequência da hipoxia. Além disso, reduções na fotossíntese e condutância estomática foram observadas em plantas de carnaúba (Arruda & Calbo, 2004). As causas sugeridas para redução da fotossíntese em plantas submetidas a hipoxia é a redução na regeneração da RUBISCO (Bradford, 1983), a inibição da fotossíntese devido ao acúmulo de amido (Topa & Cheeseman, 1992) e a redução na atividade da RUBISCO (Pezeski, 1994). As plantas de gabioba apresentaram murchamento, amarelecimento e senescência prematura de folhas provavelmente devido à aeração deficiente e aumento da concentração de substâncias tóxicas no solo, todavia nenhuma planta morreu durante os períodos de hipoxia.

A redução de matéria fresca e seca de raízes com o prolongamento da hipoxia (**Figura 2**) é consequência da aclimação às condições anaeróbias e expressão de genes que codificam enzimas do estresse anaeróbio, melhorando a capacidade de realizar fermentação (Drew, 1997). Efeito negativo da inundação do solo na densidade de raízes de ervilha foi observado demonstrando certa sensibilidade da cultura mesmo quando submetida a curtos períodos de hipoxia (Sá et al., 2004). Quando o suprimento de  $\text{O}_2$  é insuficiente para a respiração aeróbia, as raízes primeiramente começam a fermentar piruvato a lactato. Sob pH ácido a fermentação láctica é inibida e a alcoólica é ativada. As mudanças de pH estão associadas ao começo da morte celular e às raízes anóxicas ou hipóxicas falta energia suficiente para sustentar processos fisiológicos dos quais dependem as partes aéreas (Taiz & Zeiger, 2009).

As raízes de espécies de ambientes não-úmidos permitem a saída do  $\text{O}_2$  não o mantendo na mesma amplitude das espécies de ambientes úmidos dotadas de aerênquima que impedem a difusão do  $\text{O}_2$  com barreiras estruturais compostas de células suberizadas e lignificadas. Portanto no ápice das raízes dessas plantas o  $\text{O}_2$  interno torna-se insuficiente para a respiração aeróbia e esta falta limita substancialmente a produtividade em solo anaeróbio (Taiz & Zeiger, 2009).

Conforme Taiz & Zeiger (2009) *a parte aérea continuará crescendo até que a absorção de água pelas raízes torne-se limitante ao crescimento*, os valores de  $r/PA$  (**Figura 7**) apresentados para estresse hídrico corroboram com tal premissa. Dependendo da espécie e severidade do estresse, as plantas tendem a alocar mais energia para as raízes na ordem de reduzir o estresse hídrico e nutricional e como uma garantia no caso de catástrofe como o fogo (Bloom, 1985). Assim, como o tratamento controle apresentou equilíbrio na partição de matéria seca entre raiz e parte aérea evidenciando que em condições ótimas as gabirobeiras têm produção de biomassa em raiz e parte aérea em equilíbrio, estas plantas também apresentaram um equilíbrio na partição de matéria seca mesmo em condições de estresse hídrico e hipoxia.

Plantas tolerantes ao estresse hídrico, como *Tabebuia aurea* apresentaram menor  $r/PA$  até 90 dias de estresse, aos 120 dias esta relação se inverteu ocorrendo valores significativamente maiores em relação às plantas sem estresse (Cabral et al., 2004). Plantas jovens de aroeira apresentaram aumento na relação  $r/PA$  sob estresse hídrico, esta alocação prioriza a absorção de água e também resulta em menor perda por transpiração foliar (Cabral et al., 2004). Correia & Nogueira (2004) observaram alocação de biomassa da parte aérea para as raízes em plantas de amendoim submetidas a 35 de suspensão de rega. O crescimento radicular superior ao caulinar é um comportamento considerado vantajoso para as plantas sujeitas a estresse hídrico, facilitando a retirada da água mesmo depois da superfície do solo ter perdido a umidade durante a estação seca.

O ácido abscísico (ABA) induz o fechamento estomático em resposta ao estresse hídrico, além disso, o tem função na determinação das respostas de crescimento da planta, pois quando os níveis de ABA são elevados, o ABA endógeno exerce um forte efeito positivo no crescimento da raiz pela repressão da síntese de etileno (Sharp, 2004). Estudos indicam que plantas em estresse hídrico comparada com plantas bem irrigadas requerem aumento nos níveis de ABA para prevenir excesso da produção de etileno (Sharp, 2002). Vários relatos indicaram que aumento da razão na biomassa de raiz e parte aérea sob estresse hídrico objetivando a obtenção de água no solo pelo aumento do sistema radicular. No entanto sob extremo estresse hídrico, Xu & Zhou (2005) não observaram aumento na razão  $r/PA$  implicando que há um limite da umidade de solo na resposta de alocação de biomassa em estresse hídrico.

Há uma tendência de maior acúmulo de matéria seca na parte aérea em plantas sob hipoxia provavelmente devido à morte de raízes o prejuízo na produção de biomassa em raízes. A menor produção de biomassa nas raízes pode estar associada com a formação de aerênquima induzido pela atividade de ACC sintase e ACC oxidase nas raízes fazendo que ACC e etileno sejam produzidos mais rapidamente levando à morte e desintegração celular.

Em plantas de trigo submetidas à hipoxia os níveis de etileno aumentaram em relação ao controle ocorrendo aumento das raízes adventícias e cavidades com tecido poroso (Calheiros et al., 2000). Gregório et al., (2008) observaram redução de crescimento da parte aérea como radicular de ipê submetidos às condições de hipoxia e anoxia e explica que isto se deve à: baixa produção de ATP, redução na produção e translocação de fotoassimilados para respiração decréscimo na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> em razão do fechamento estomático redução na síntese e translocação de substâncias reguladoras do crescimento como giberelinas e citocininas, do sistema radicular para a parte aérea diminuição da taxa de respiração aeróbica (Drew, 1992; Kozlowski, 1997; Tang & Kozlowski, 1982; Pezeshki et. al, 1996; Reid & Bradford, 1984; Rodrigues et al., 1993).

Conforme Andrade et al., (1999) *Cytherexylum myrianthum* apresentou aumento na relação r/PA e genipapo apresentou redução, observações ecológicas mostram que *C. myrianthum* é espécie ocorrentes em ambientes pantanosos ou locais onde a drenagem do solo é limitada e genipapo ocorre em locais adjacentes a cursos d'água temporários e depressões. O etileno está envolvido na resposta à hipoxia induzindo a epinastia de folhas e em algumas espécies como ervilha e tomate o ABA induz o fechamento estomático sem mudanças no potencial hídrico da folha, mas sim devido a altas concentrações de sais (Taiz & Zeiger, 2009).

Cabral et al., (2004) trabalhando com aroeira em diferentes disponibilidades de água observaram redução significativa da altura das plantas em estresse hídrico. A indiferença apresentada na altura das plantas submetidas aos tratamentos pode ser consequência da grande variação da altura das mudas obtidas em viveiro. Além disso, o balanço hormonal pode exercer respostas aos estresses, apesar da sua concepção como um hormônio inibidor do crescimento, o ABA endógeno restringe o crescimento do caule somente em condições de estresse hídrico e exerce forte efeito positivo no crescimento da raiz pela repressão na síntese de etileno (Taiz & Zeiger, 2009).

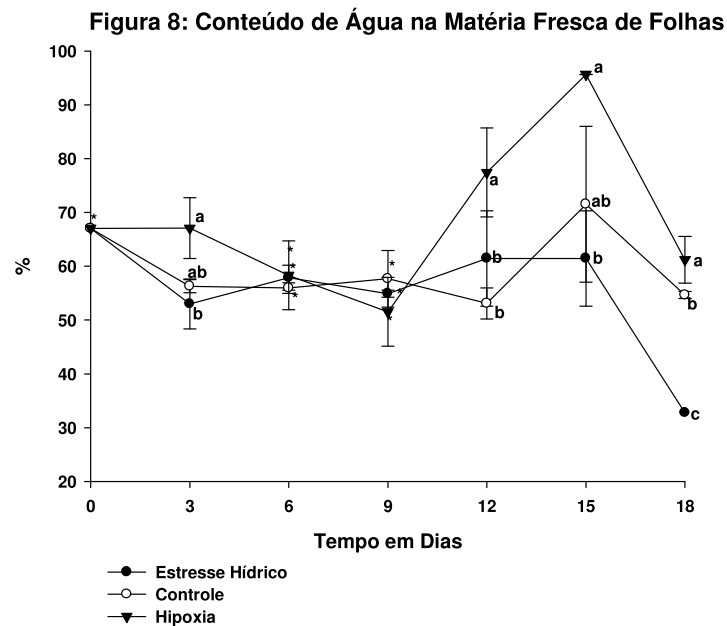
O estresse hídrico afeta o desenvolvimento das plantas diminuindo o crescimento das raízes e da parte aérea, seja pela inibição do alongamento ou da iniciação da expansão foliar dos entrenós (Kozlowski, 1984). No entanto, quando se considera estratégias de tolerância a seca de espécies nativas do Cerrado, deve-se lembrar que estas plantas exibem estratégias de adaptação em vista de evitar a perda de água em vista do impacto da seca sazonal ocorrente no bioma a um longo tempo. O impacto da seca sazonal no balanço hídrico de uma planta do cerrado vai depender principalmente da sua capacidade de alcançar as camadas mais profundas do solo, que permanecem úmidas ao longo do ano (Franco, 2008).

A classificação ecológica da gabioba, considerada como espécie secundária inicial e secundária tardia pode ser relacionado com as respostas de crescimento da planta, espécies pioneiras e secundárias apresentam como estratégias de estabelecimento rápido crescimento inicial e posteriores reduções nos índices de crescimento, independentemente da disponibilidade de nutrientes (Catharino et al., 2006; Duboc, 2005). Embora os tratamentos não afetassem na altura das plantas de gabioba, outros trabalhos têm mostrado que o estresse hídrico afeta negativamente a altura de plantas, como observado em plantas de pau-ferro (Lenhard et al., 2010), aroeira (Figueirôa et al., 2004), ipê (Cabral et al., 2004) e amendoim (Correia & Nogueira, 2004).

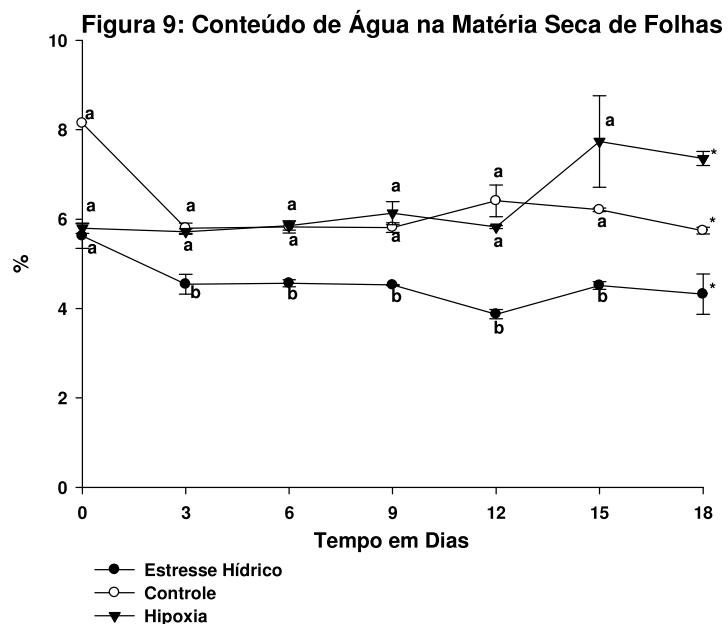
A redução do conteúdo de água na matéria seca de folhas e de açúcares solúveis totais (**Figuras 9 e 25**) são evidências da ausência do ajustamento osmótico em folhas, segundo Kramer (1995) a adição de solutos osmoticamente ativos às células é mais eficaz em promover o abaixamento do potencial hídrico do que a própria perda de água. Uma redução de 10% no volume do vacúolo celular, provoca diminuição no potencial osmótico em cerca de 11% do valor inicial, sendo, entretanto, a adição de solutos responsável por redução de até 50% no valor do potencial osmótico da célula. 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).

Freitas et al., (2007) estudando plantas de açaí observaram que o teor relativo de água diminuiu nas plantas sob estresse hídrico devido à baixa quantidade de água no solo e com a transpiração, a planta perde água para a atmosfera tornando-

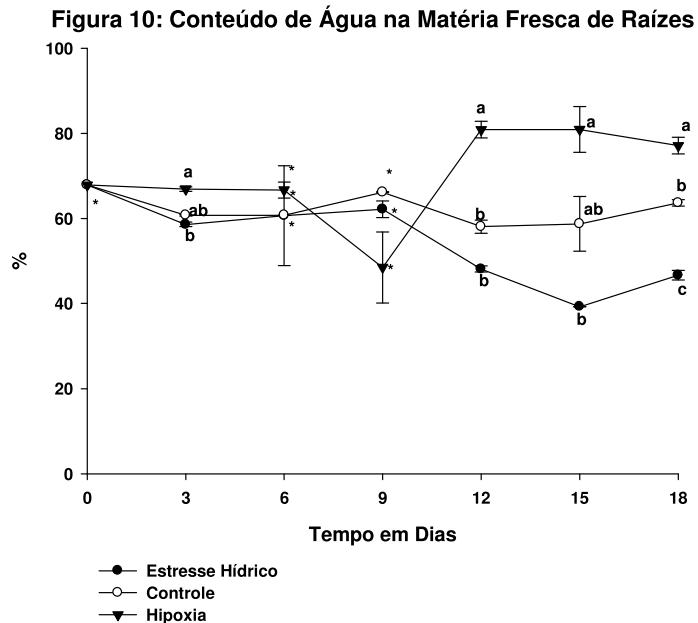
se murcha, uma vez que a planta não consegue retirar água do solo. Entretanto em plantas sob alagamentos o teor relativo de água nas células é muito alto, pois o solo está sempre acima da capacidade de campo, sendo assim a planta possui água disponível, inclusive em seus espaços intercelulares, aumentando-se o seu conteúdo de água. O mesmo foi observado em plantas sob hipoxia, o conteúdo de água aumentou significativamente devido a saturação do solo e menor taxa de transpiração em vista do fechamento estomático.



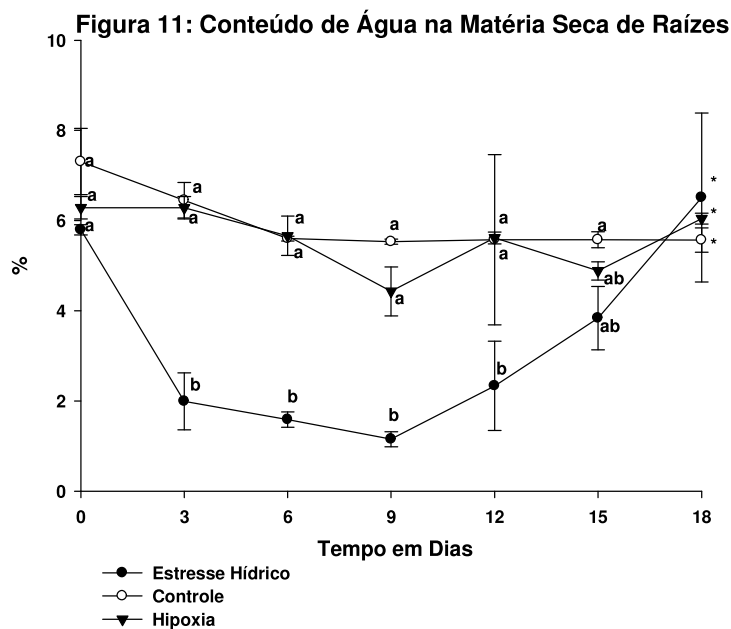
**Figura 8:** Conteúdo de água na matéria fresca de folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 9:** Conteúdo de água na matéria seca de folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 10:** Conteúdo de água na matéria fresca de raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 11:** Conteúdo de água na matéria seca de raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

#### 4.2 Modificações na Taxa de Crescimento

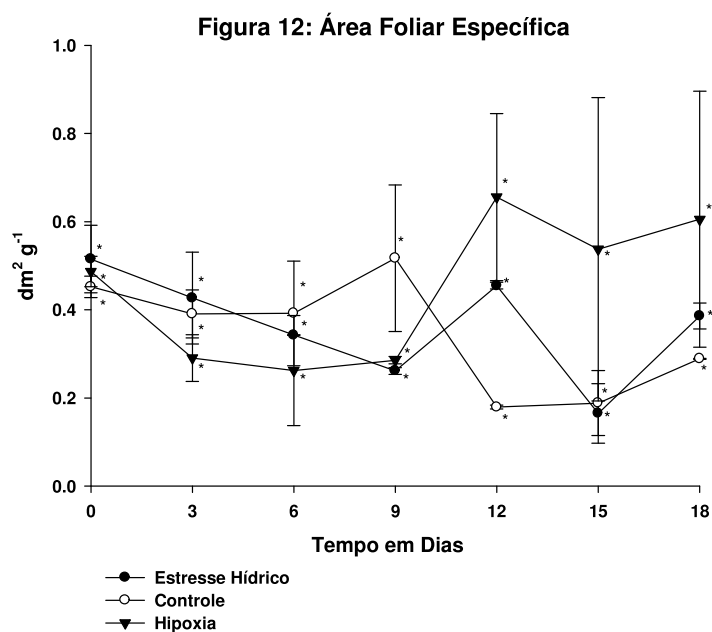
Não foram observadas diferenças significativas na área foliar específica (**Figura 12**) e razão de peso foliar (**Figura 13**). Para razão de área foliar foram observadas diferenças significativas em hipoxia (**Figura 14**), onde nota-se aumento substancial na razão aos 18 dias, o tratamento testemunha e estresse hídrico não apresentaram diferenças significativas dentre os períodos analisados.

Alguns trabalhos tem mostrado variação na área foliar de plantas sob diferentes regimes hídricos, Pires et al., (2002) estudando o alagamento em plantas de soja observaram maior área foliar na cultivar tolerante ao excesso de água e menor na sensível; Lenhard et al., (2010) observaram drástica redução na área foliar em mudas de pau-ferro e menor taxa em plantas sob alagamento em comparação as plantas sob 70% de capacidade de campo; Batista et al., (2008) observaram redução significativa em plantas de *Cecropia pachystachya* sob 30 dias de alagamento; Gomes et al., (2000) notaram redução em feijão sob estresse hídrico e

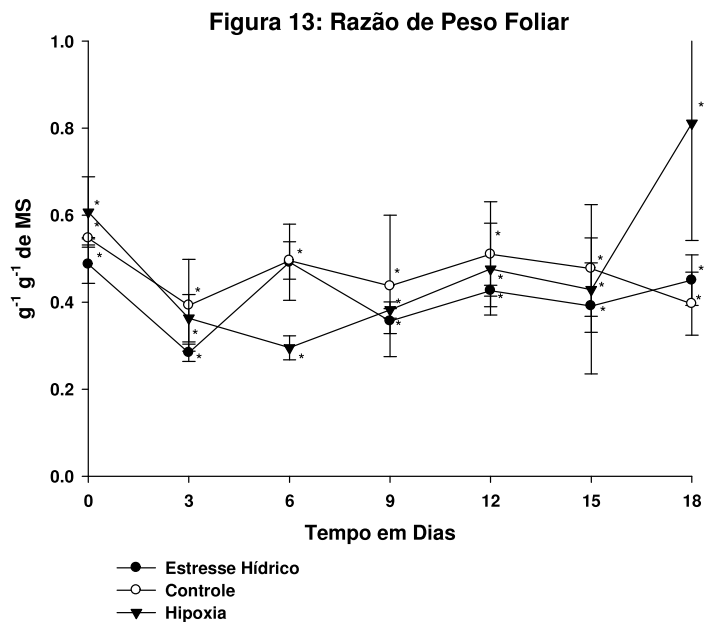
Correia & Nogueira (2004) observaram redução em amendoim sob 35 dias de suspensão total de rega.

Conforme Kozlowski et al., (1991) um dos efeitos mais drásticos do estresse hídrico é a redução na área foliar, levando a um decréscimo na fotossíntese e, conseqüentemente, no crescimento. No entanto, outros trabalhos evidenciam a indiferença na área foliar em diferentes regimes hídricos como observado por Mielke et al., (2005) estudando *Annona glabra* sob alagamento, Cabral et al., (2004) não observaram diferenças na área foliar em plantas de ipê sob alagamento e estresse hídrico.

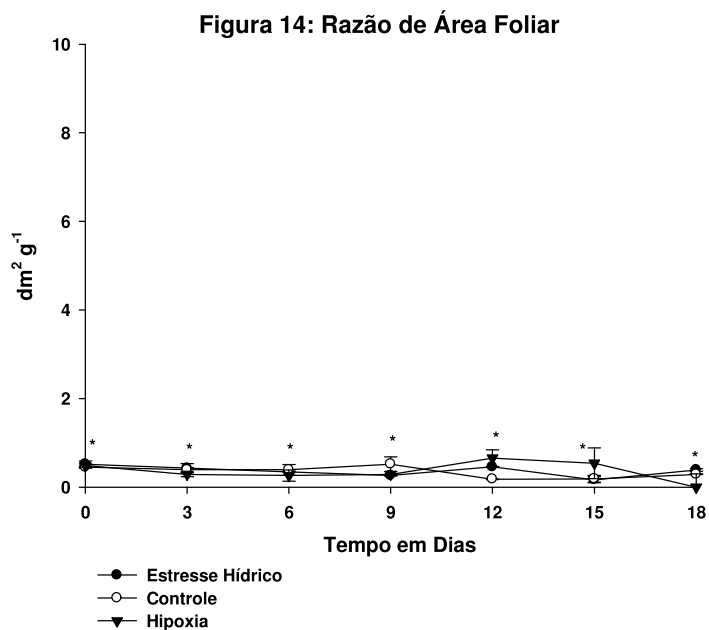
A maior razão de área foliar encontrada em hipoxia mostra a dinâmica da distribuição da produção de biomassa em busca de maior superfície de radiação em vista de buscar da radiação fotossinteticamente ativa e alocar os fotoassimilados em resposta a um ambiente particular. Tem sido muito observada redução na razão de área foliar em plantas com baixa luminosidade, provavelmente a degradação de pigmentos fotossintéticos em vista do estresse hipóxico acarretou maior acúmulo de biomassa por unidade de área foliar em vista de compensar a perda e aumentar a eficiência fotossintética (Lenhard et al., 2010).



**Figura 12:** Área foliar específica (AFE) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 13:** Razão de peso foliar (RPF) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 14:** Razão de área foliar (RAF) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

Nota-se na **Figura 15** o efeito negativo do prolongamento da hipoxia e estresse hídrico no diâmetro do colo, o tratamento testemunha não apresentou diferenças significativas no parâmetro nos períodos analisados. A redução do diâmetro do colo de plantas submetidas à hipoxia pode estar associada à tendência de alongamento do caule, no entanto este parâmetro não significativamente afetado nas plantas de gabioba. No entanto, a baixa hipertrofia do caule está associada à formação de aerênquima, vários estudos tem sustentado esta evidência (Wample & Reid, 1979; Yamamoto & Kozlowsky, 1987).

No entanto, o aumento do diâmetro do caule está associado no aumento de número de diâmetro de fibras do lenho e aumento da atividade cambial (Yamamoto et al., 1995). Certamente apenas a hipertrofia do caule por si só não confere necessariamente tolerância ao alagamento desde que seja observado em espécies intolerantes como *Jacaranda puberula*, enquanto a hipertrofia não se desenvolve em espécies tolerantes como *Campomanesia xanthocarpa* (Pimenta et al., 1998).

Gregório et al., (2008) observaram redução do diâmetro do colo de plantas de *Tabebuia heptaphylla* submetidas à inundação com água corrente e parada e que esta redução provavelmente foi ocasionada pela lixiviação de nutrientes. Andrade et al., (1999) mostraram aumento do diâmetro do colo de *Cytherexylum myrianthum* conforme o prolongamento da hipoxia enquanto *Genipa americana* não apresentou mudanças no parâmetro. No entanto, apenas a depleção de nutrientes não explica a redução do crescimento secundário do caule.

O aumento do diâmetro do colo em plantas sob hipoxia está associado à eficiência de produção de biomassa por unidade de nutriente absorvido e as modificações morfológicas como lenticelas hipertróficas e hipertrofia do caule e ainda em consequência da degradação do tecido dando lugar a espaços intercelulares para maior difusão de oxigênio. Pires et al., (2002) estudando o comportamento de cultivares de soja sob alagamento observaram que o diâmetro do caule hipertrofiado na região submergida é a diferença mais importante na diferenciação de cultivares com relação à tolerância à inundação.

Trabalhos indicam que a hipertrofia do caule pode estar associada com o espaço intercelular, quebra de células para formar aerênquima e subsequente formação de raízes adventícias (Jackson, 1985). Maurenza et al., (2009) estudando o efeito do alagamento durante seis meses em *Pouteria glomerata*, uma espécie

arbórea comumente encontrada na várzea da Amazônia Central, observaram uma diminuição acentuada da produtividade logo aos 30 dias, a espécie assimilou menos CO<sub>2</sub>, reduziu o número de folhas, o incremento em altura e diâmetro do colo caulinar.

A área de raízes foi significativamente afetada pelos tratamentos aos 6, 9, 12 e 15 dias (**Figura 16**). O estresse hídrico e hipoxia apresentaram taxas semelhantes, no entanto significativamente menores em relação ao tratamento controle. O tratamento testemunha apresenta o aumento gradativo da área de raízes conforme o tempo, evidenciando desta forma a dinâmica de crescimento de raízes em condições ótimas. O comprimento da raiz principal foi significativamente influenciado pelos tratamentos aos 12 e 18 dias. Nota-se nestes períodos a redução significativa do comprimento da raiz principal no tratamento hipoxia. Os valores apresentados em estresse hídrico foram semelhantes ao controle (**Figura 17**).

O comprimento da raiz principal em plantas sob estresse hídrico semelhante ao tratamento testemunha pode ser indício de adaptação ao estresse. Em condições de estresse hídrico o ABA é responsável pela manutenção do turgor do ápice radicular para crescimento em zonas mais úmidas do solo (Sharp et al., 2004). As raízes que não obtêm este ajuste sucumbem rapidamente com o prolongamento do estresse hídrico. Um maior alongamento da raiz principal nas plantas de gabioba talvez poderia ter sido observado em condições de campo, pois em vasos o volume de solo é limitado e as zonas mais profundas do solo que retém umidade são rapidamente secas.

Juntamente ao comprimento, a área radicular proporciona melhor entendimento da dinâmica de crescimento das raízes. Embora o alongamento radicular não fosse negativamente afetado pelo estresse hídrico a área de raízes (**Figura 16**) foi reduzida, o que pode ter sido acarretado pela morte das raízes secundárias. No entanto muitos trabalhos têm mostrado que o estresse hídrico promove a síntese de proteínas como expansinas responsáveis pelo afrouxamento da parede celular para maior extensibilidade ácido-induzida (Wu et al., 1996). Assim, as raízes de plantas de gabioba parecem seguir este modelo, onde há maior alongamento em detrimento do crescimento secundário e de raízes secundárias.

A redução do alongamento radicular em plantas sob hipoxia (**Figura 15**) pode ter sido acarretada pela ineficiência do metabolismo energético devido à depleção de oxigênio e morte de raízes dando lugar a espaços intercelulares. Em hipoxia a

área radicular foi levemente menos prejudicada do que em estresse hídrico (**Figura 16**), provavelmente devido à maior concentração de ACC e etileno que promove crescimento de raízes adventícias (Taiz & Zeiger, 2009). As raízes de espécies tolerantes à hipoxia são mais resistentes à anaerobiose, e espécies de terrenos bem drenados morrem mais rapidamente em condições anaeróbicas do que espécies de terras alagadas. O auto-envenenamento por etanol e outros produtos finais não metabolismo anaeróbico causa a morte de raízes ao metabolismo das raízes de espécies tolerantes e não-tolerantes, as raízes de espécies tolerantes são muito mais resistentes a anaerobiose do que as espécies facilmente danificadas pela hipoxia (Vartapetian & Jackson, 1997).

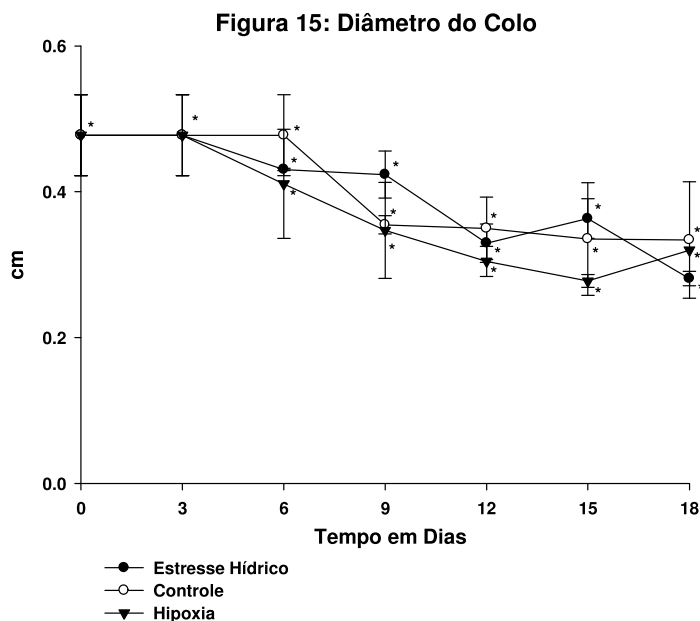
Muito tem sido encontrado sobre o comportamento de maior comprimento de raízes, sendo considerado como caráter adaptativo, comum às plantas submetidas a estresse hídrico, sendo vantajoso por permitir que as mesmas obtenham água mesmo depois da superfície do solo ter perdido a umidade durante a estação seca (Poggiani, 1971; 1973; Hsiao, 1973; Larcher, 2000), fato este observado com mais frequência no Cerrado, devido ao lençol freático ser mais profundo (Cabral et al., 2004). Sharp (2002) mostrou que o ABA tem importante função no alongamento da raiz e parte aérea em condições de estresse hídrico, estudos com diversas espécies indicam que a função do ABA endógeno esta em limitar a produção de etileno, e que como um resultado desta interação ABA pode muitas vezes funcionar para manter em vez de inibir o crescimento de parte aérea e raiz.

Sá et al., (2004) estudando plantas de ervilha sob diferentes velocidades de rebaixamento do nível freático notaram o aumento da densidade de raízes com o aumento do rebaixamento do nível freático, Medri et al., (2007) observaram a redução do comprimento da raiz principal em *Lithraea molleoides* sob alagamento, e a morte de raízes ocorridas em plantas de *Guibourtia hymenifolia* e *Genipa americana* em alagamento são conferidas ao acúmulo de etileno e outros compostos tóxicos (Jackson & Drew, 1984, Lobo & Joly, 2000).

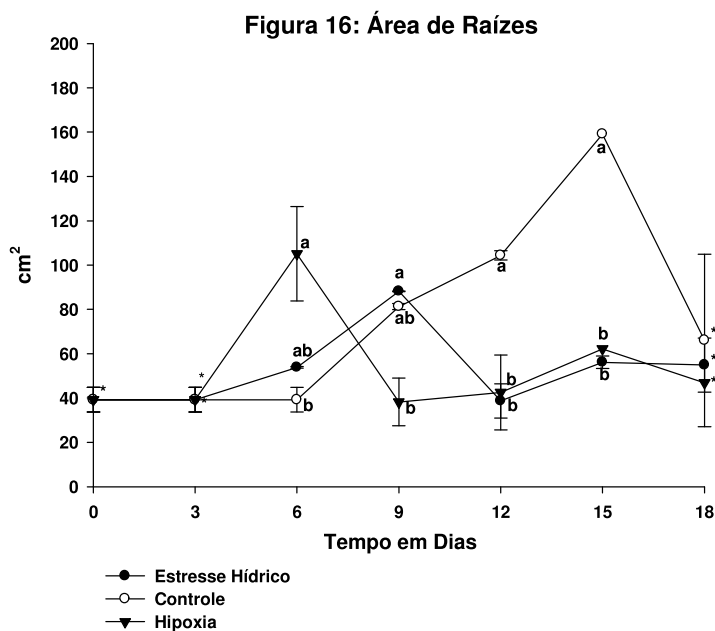
O efeito da maior alongamento do caule em resposta à hipoxia provavelmente se deve ao efeito do etileno e giberelina, visto que o etileno estimula a produção de giberelina e diminuição de ABA (Taiz & Zeiger, 2009). No entanto, Costa et al., (2006) estudando plantas de *Schizolobium parahyba* observaram que o crescimento da parte aérea não foi afetado pelo alagamento com água parada.

No entanto, o estresse hipóxico pode afetar negativamente o crescimento da parte aérea devido à deficiência de nutrientes para as plantas, atribuído ao acúmulo de substâncias tóxicas nas raízes, inibindo a absorção de nutrientes minerais e causando o decréscimo da disponibilidade destes elementos no solo, provavelmente, em decorrência de alterações do estado de oxidação de algumas moléculas e mudanças de pH, além da própria inibição dos mecanismos de absorção, em virtude de uma baixa carga energética nas membranas, ou, ainda, da própria redução da superfície de absorção causada pela morte de raízes e perda de biomassa do sistema radicular (Drew & Sisworo, 1979).

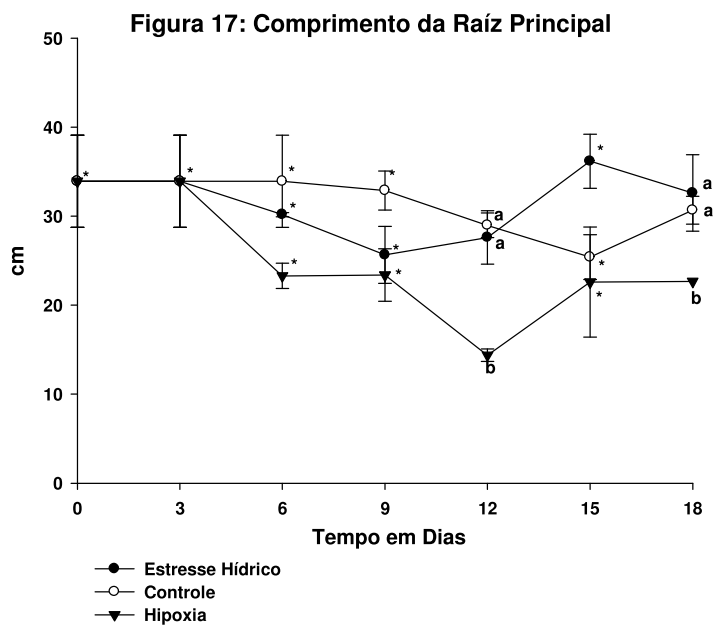
Arruda & Calbo, (2004) observaram que a hipoxia não afetou o alongamento da parte aérea de plantas de carnaúba, assim como ocorreu em genipapo (Andrade et al., 1999) e *Mauritia vinifera*. Isto pode estar relacionado ao aumento da porosidade das raízes, ou seja, presença de aerênquima. Sminorff & Crawford (1983) citaram que plantas adaptadas apresentam valores de porosidade maiores que 20%, os quais são aumentados com a inundação.



**Figura 15:** Diâmetro do colo de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



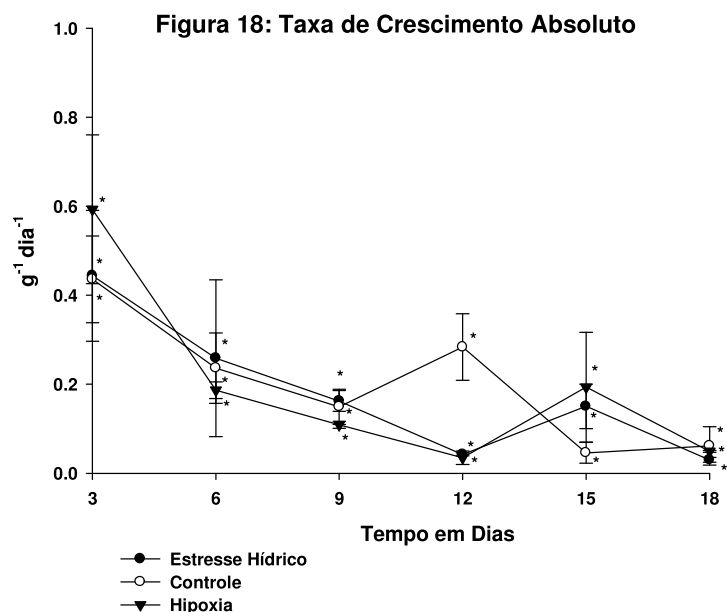
**Figura 16:** Área de raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



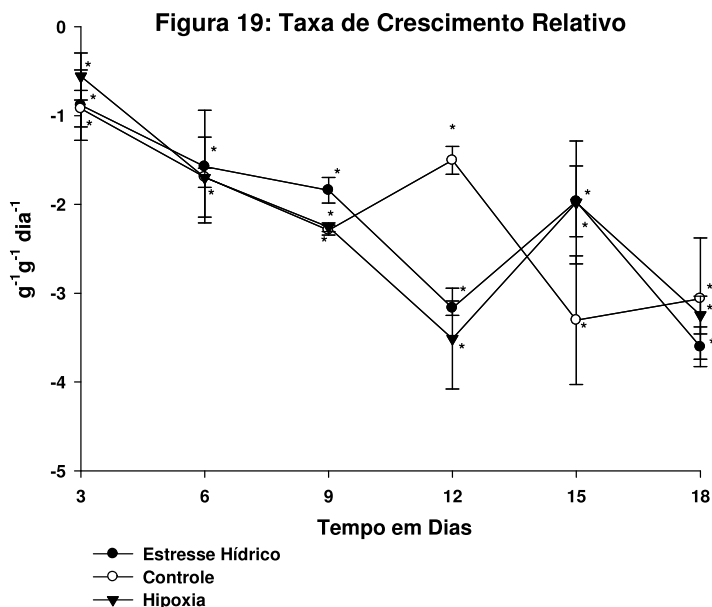
**Figura 17:** Comprimento da raiz principal de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

Não foram observadas diferenças significativas na de crescimento absoluto (TCA) e na taxa de crescimento relativo (TCR) (**Figuras 18-19**) e também no índice de área foliar (IAF), taxa assimilatória líquida (TAL) e índice de clorofila total (ICT) (**Figura 20-22**) nos diferentes tratamentos em que as gabirobeiras foram submetidas.

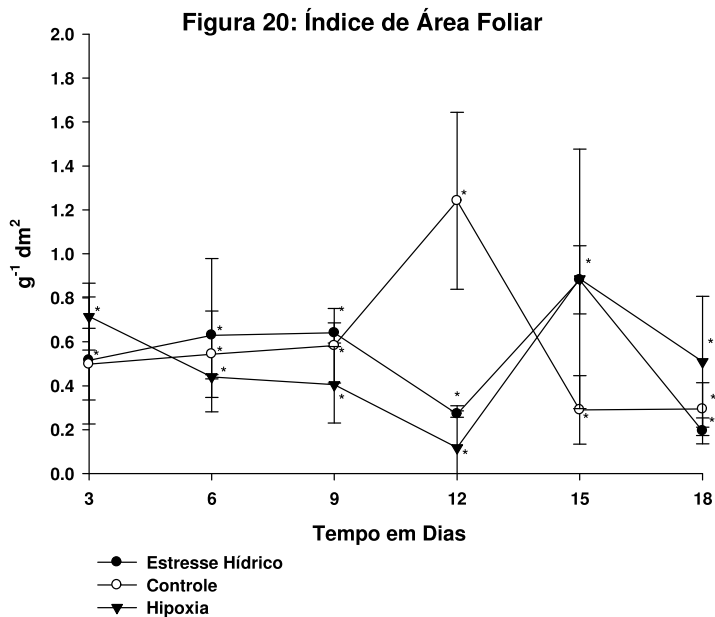
O índice de clorofila fornece uma estimativa do teor de clorofilas ativas, as plantas de gabioba não apresentaram diferenças nos diferentes ambientes em que foram submetidas. O estresse hídrico prolongado pode levar à fotoinibição da fotossíntese, além disso, prejuízos na absorção de nitrogênio, constituinte fundamental na molécula de clorofila pode reduzir a concentração de clorofila a e b (Lenhard, 2010; Conforto, 2008). Plantas submetidas à hipoxia frequentemente apresentam redução da concentração de clorofila, (Costa et al., 2006; Lenhard et al., 2010), devido a produção de etileno (Taiz & Zeiger, 2009).



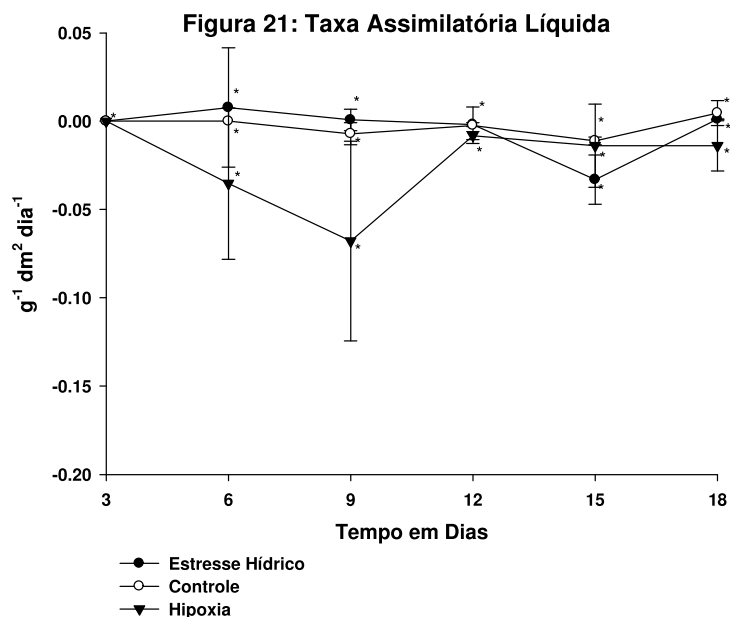
**Figura 18:** Taxa de crescimento absoluto (TAL) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



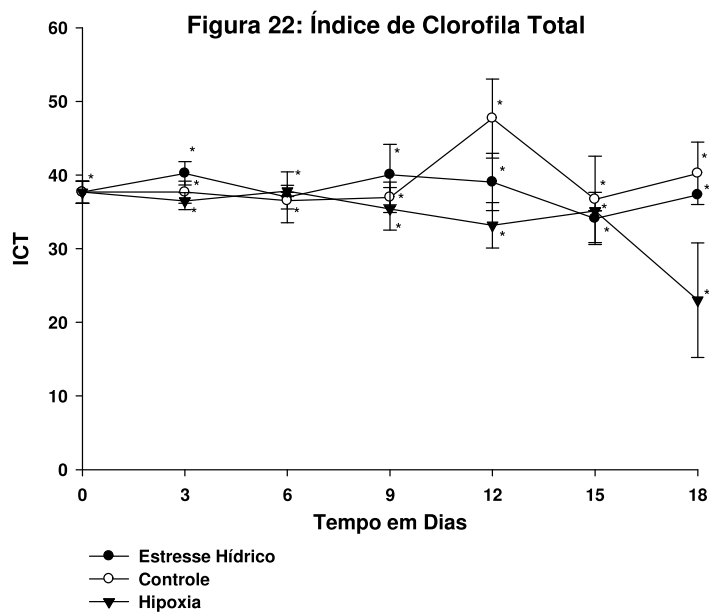
**Figura 19:** Taxa de crescimento relativo (TCR) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 20:** Índice de área foliar (IAF) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 21:** Taxa assimilatória líquida (TAL) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



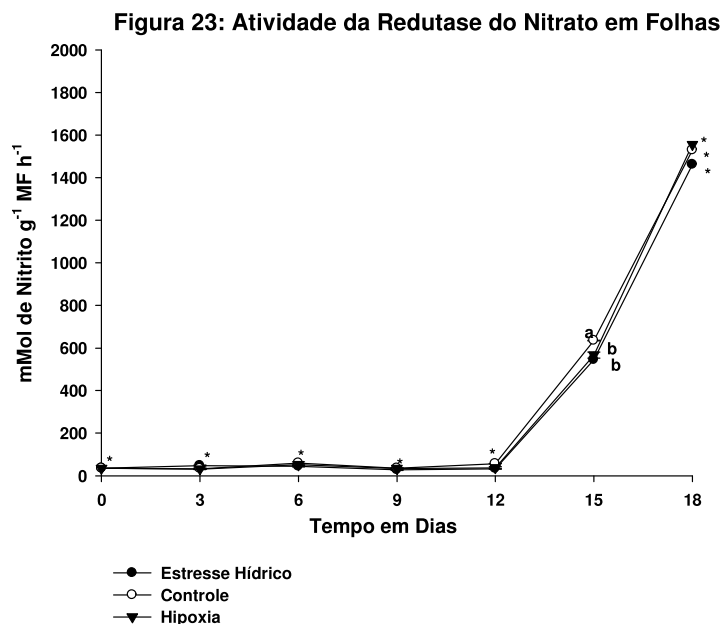
**Figura 22:** Índice de clorofila total (ICT) de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

As plantas de gabioba exibiram taxas de TCA, TCR e TAL comuns às plantas secundárias tardias, de crescimento lento. Pereira et al., (2010) observaram redução nestes parâmetros em plantas de eucalipto sob estresse hídrico. Batista et al., (2008) não observaram diferenças significativas no crescimento de *Cecropia pachystachya* submetidas ao alagamento.

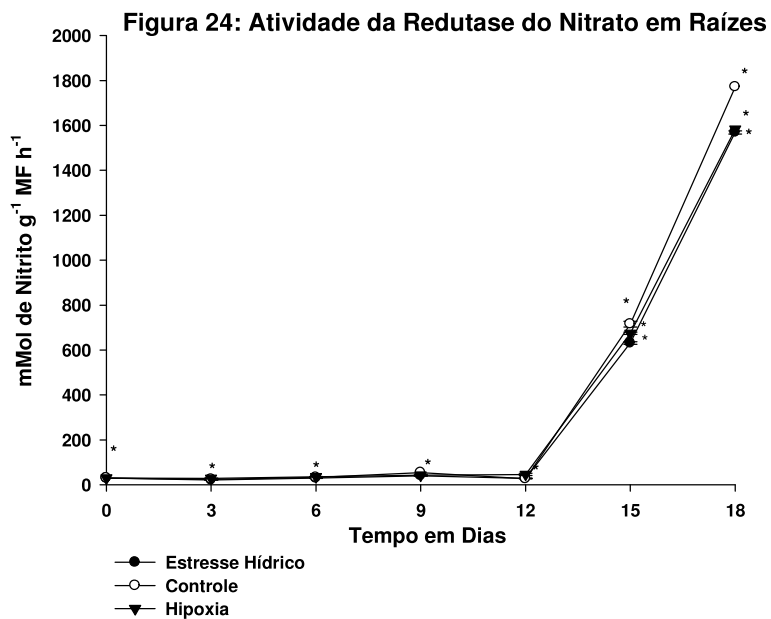
#### 4.3 Atividade da Enzima Redutase do Nitrato

Foram observadas diferenças significativas na atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes aos 15 dias de persistência dos tratamentos. Até 12 dias de a atividade enzimática não variou significativamente, situando abaixo de 0,25 mMol de  $\text{NO}_2^-$  (**Figura 23**), as maiores variações foram observadas aos 15 e 18 dias, quando houve aumento repentino na atividade em todos os tratamentos. Este aumento foi diferente dentre os tratamentos, os menores incrementos foram apresentados pelo estresse hídrico, com 0,56 e 1,53 mMol de  $\text{NO}_2^-$  enquanto hipoxia apresentou 0,59 e 1,63 mMol de  $\text{NO}_2^-$ , taxa sensivelmente menor que o tratamento testemunha, 0,66 e 1,74 mMol de  $\text{NO}_2^-$ .

A atividade da redutase do nitrato nas raízes seguiu comportamento semelhante às folhas, porém não foram observadas diferenças significativas nos diferentes tratamentos e tempos de persistência. Conforme **Figura 24**, as maiores taxas de atividade foram observadas aos 15 e 18 dias no tratamento controle, com 0,75 e 1,96 mMol de  $\text{NO}_2^-$  seguidas por hipoxia com 0,78 e 1,78 mMol de  $\text{NO}_2^-$  e estresse hídrico com as menores taxas, 0,67 e 1,65 mMol de  $\text{NO}_2^-$ .



**Figura 23:** Atividade da enzima redutase do nitrato em folhas de gabiobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 24:** Atividade da enzima redutase do nitrato em raízes de gabiobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

Em contrapartida, Oliveira et al., (2011) observaram morte de gabirobeiras submetidas à 2 semanas de hipoxia e 3 semanas de seca. Neste trabalho também foi constatado a redução da atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes em ambos os estresses. Os autores sugerem que pode ter havido certa adaptação da atividade da enzima após determinado período de deficiência hídrica e que a atividade da redutase do nitrato é muito maior nas folhas do que nas raízes.

A menor atividade de redução do nitrato observada em folhas e raízes de plantas sob estresse hídrico pode ser consequência de prejuízos absorção de nitrato devido à alta retenção da solução do solo ocasionado pelo estresse hídrico. Silveira et al., (2001) mostrou que a atividade da redutase do nitrato em folhas de feijão-caupi foi drasticamente reduzida com o estresse hídrico e o conteúdo de nitrato foi aumentado. Esta redução é explicada por Sinha & Nicholas, (1981) atribuem o aumento do conteúdo de nitrato pela drástica queda na atividade da redutase do nitrato levando ao prejuízo do crescimento da folha provavelmente devido à restrição na síntese de compostos de nitrogênio.

Crawford (1995) demonstra que o nitrato é um importante regulador da atividade da redutase do nitrato e redutase do nitrito. Embora o estresse hídrico tenha exercido efeito negativo na atividade da redutase do nitrato, as reduções não foram tão expressivas em comparação à outras plantas, como feijão-caupi (Silveira et al., 2001), algodão (Marur et al., 2000), milho sob 5 dias de suspensão de rega, (Foyer et al., 1998). Em feijoeiro (*Vigna aconitifolia*) o estresse hídrico provocou reduções não apenas na redutase do nitrato como na taxa fotossintética, potencial hídrico, área foliar, amido e proteínas solúveis; enquanto a taxa de açúcares redutores e solúveis, aminoácidos livres e prolina aumentaram progressivamente (Garg et al., 2001).

A sensibilidade da atividade da enzima foi observada durante o estabelecimento do estresse hídrico nas cultivares de algodão IAC 13-1 e IAC 20 com significativa inibição entre o potencial hídrico na folha entre -0,7 e -1,4 MPa. No entanto, a redução da atividade da redutase do nitrato pode estar associada à redução do nível de transcrição da enzima que é estimulada por nitrato e carboidratos e inibida por glicina (Cheng et al., 1992; Vincentz et al., 1993). A atividade de redutase de nitrato também pode ter sido relacionada à concentração de prolina nos tecidos. Dentre as diversas funções da prolina, destaca-se a proteção de proteínas contra a desnaturação, eliminação de radicais livres e estabilização do

pH celular sob condições de estresses iônico e osmótico (Venekamp, 1989; Silveira et al., 2000).

A regulação da redutase do nitrato é muito complexa, com interações entre nitrato, sacarose, ácidos orgânicos e aminoácidos determinando a transcrição e a tradução do gene de ativação da proteína. Em condições de estresse hídrico, a redutase do nitrato é pouco ativa e a fotossíntese diminui devido o fechamento estomático (Kaiser & Huber, 2001).

Desta forma a intensa desidratação do mesófilo reduz a capacidade fotossintética da folha, reduzindo o influxo de nitrato, reduzindo a atividade da enzima, a qual é altamente dependente de seu substrato. Além de contribuição com energia para redução do nitrato, a fotossíntese contribui com a redução do nitrito em folhas, pois depende de elétrons via ferredoxina. Em menor extensão, a ferredoxina requerida para redução de nitrito na folha pode também ser fornecida durante escuro via redução de NADPH, que é gerado pela via oxidativa das pentoses fosfato presente em cloroplastídeo e leucoplastos (Heldt, 2005). A sensível redução na atividade da redutase do nitrato em folhas observada em estresse hídrico resulta do prejuízo da atividade fotossintética da folhas e menor influxo de nitrato.

O efeito negativo da hipoxia na atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes não foi tão pronunciado em comparação ao efeito exercido pelo estresse hídrico. A redução do nitrato em plantas sob hipoxia contribui para aliviar a acidez citoplasmática por meio do consumo NAD(P)H e é mais eficiente na geração de  $\text{NAD}^+$  e consumo de prótons do que as reações da fermentação (Reggiani et al., 1985; Fan et al., 1997); além disso, o processo gera íons  $\text{OH}^-$  que pode neutralizar os prótons gerados pela hipoxia (Smirnoff & Stewart, 1985).

Foram observados por Allègre et al., (2011) que a anoxia em plantas de tomate induziu a atividade da redutase do nitrato, também houve dissociação da proteína inibidora 14-3-3 e desfosforilação da proteína redutase do nitrato induzida pela anoxia. No entanto, a alta atividade enzimática não foi relacionada à síntese da enzima, pois houve redução na tradução de mRNA, e houve ativação de genes para produção de proteínas anaerobicamente induzidas (Sachs et al., 1996). Kaiser & Huber (2001) mostraram que a atividade da redutase do nitrato promovida por anoxia é devido à acidificação citosólica. Em raízes a alta atividade da redutase do nitrato excede a capacidade da redutase do nitrito levando a excreção pelas raízes (Kaiser & Huber, 1994; 2001).

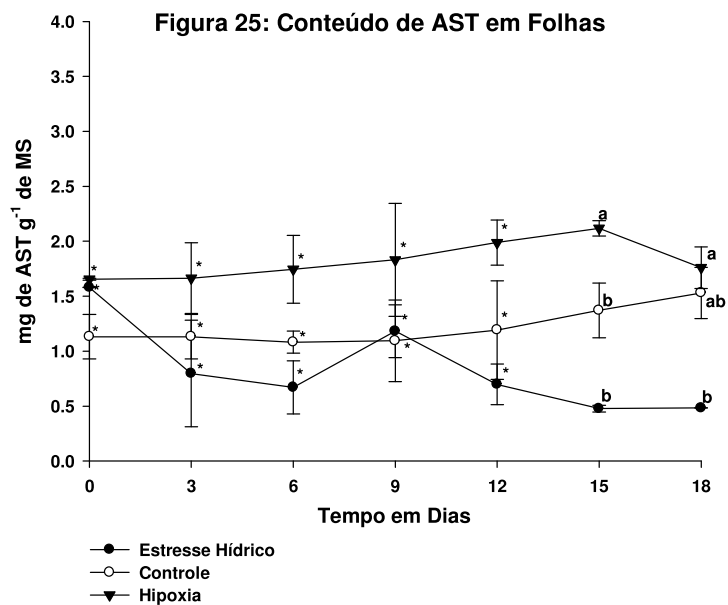
O fechamento estomático pode ocorrer em plantas sob estresse hídrico e hipoxia e/ou anoxia, e está ou não associado à desidratação do mesófilo. Em algumas plantas sob inundação, a rápida redução na absorção de água associada com a alta concentração de  $\text{CO}_2$  na água do solo tem sido atribuída pela redução na absorção passiva de água pelas raízes causada pelas mudanças físicas no protoplasma e nas membranas do protoplasma. Como resultado a resistência do movimento da água através do córtex das raízes é aumentada, isto eventualmente lidera a desidratação foliar e fechamento estomático (Koslowsky, 1983). Em algumas espécies o fechamento estomático ocorre sem desidratação foliar (Regehr et al., 1975).

A baixa atividade fotossintética já observada por vários autores (Arruda & Calbo, 2004; Batista et al., 2008) em resposta à hipoxia pode exercer papel regulatório na atividade da redutase do nitrato. Sob luz intensa e quando o  $\text{CO}_2$  é ausente a RN é inativa, mas no escuro pode ser ativada pela alimentação com açúcares para as folhas. A proteína quinase ativa e inativa a enzima por fosforilação e desfosforilação. Nas folhas, a regulação da NR é intimamente associada a fotossíntese, a inativação pós-traducional ocorre quando a intensidade luminosa é subitamente reduzida ou as folhas são privadas de  $\text{CO}_2$  (Kaiser & Brendle-Behnisch, 1991; Provan & Lillo, 1999). Conforme Kaiser & Huber (2001) e Cotellet et al., (2000) altas concentrações de açúcares promovem a expressão da RN (junto ao nitrato), inibe a proteína quinase ativando assim a RN e evitando a degradação da redutase do nitrato. Todos estes eventos lideram uma sincronia da redução do nitrato com fotossíntese e disponibilidade de carboidratos, evitando assim o desperdício de energia e acúmulo de produtos tóxicos reduzidos (nitrito e amônia).

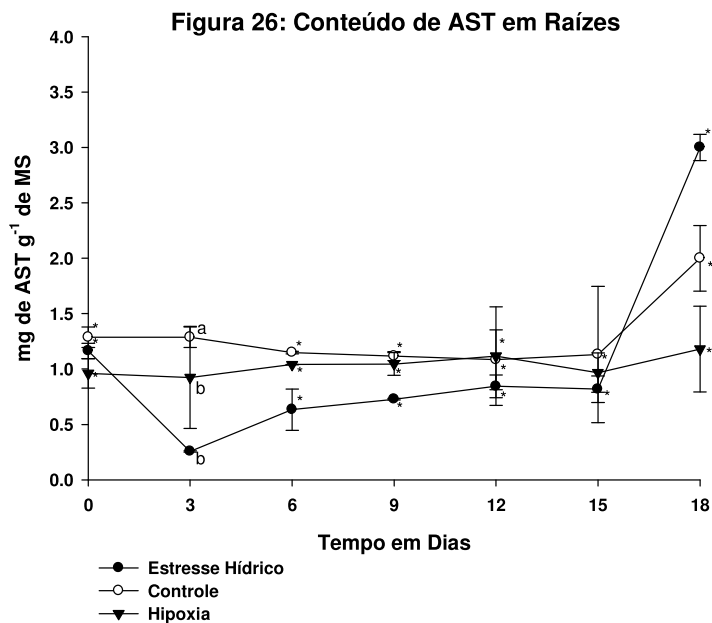
#### 4.4 Conteúdo de Açúcares Solúveis Totais (AST), Sacarose e Amido

Foram observadas diferenças significativas no conteúdo de AST em folhas aos 15 e 18 dias de persistência dos tratamentos (**Figura 25**). Todavia nota-se que menores concentrações de AST foram observadas no tratamento estresse hídrico aos 15 e 18 dias, apresentando 0,47 e 0,48 mg, respectivamente. Em hipoxia as concentrações permaneceram maiores aquelas observadas no tratamento controle, alcançando 2,11 e 1,76 mg aos 15 e 18 dias, respectivamente. Em raízes foram

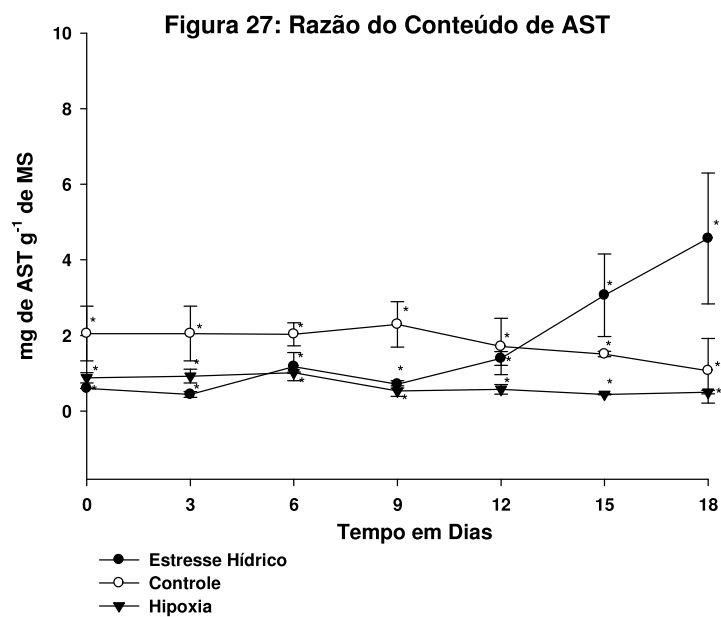
observadas diferenças significativas no conteúdo de AST apenas aos 3 dias de persistência dos tratamentos. O estresse hídrico prolongado induziu aumento nas concentrações alcançando 3,09 mg aos 18 dias. A hipoxia e o tratamento controle mantiveram concentrações semelhantes em todos os períodos analisados (**Figura 26**).



**Figura 25:** Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 26:** Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

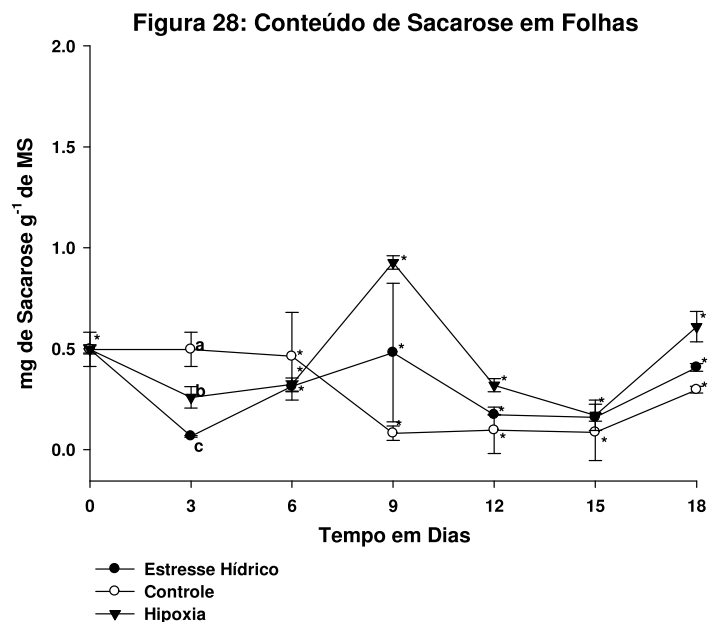


**Figura 27:** Razão no conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em raízes e folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

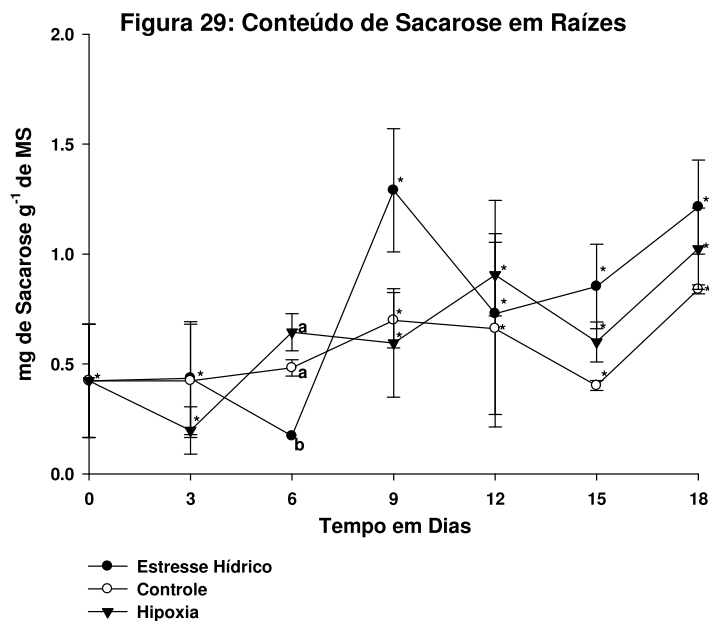
Quanto à relação do conteúdo de AST entre raiz e parte aérea, as relações próximas de 1,00 indicam equilíbrio na concentração em raízes e parte aérea. Não foram observadas diferenças significativas dentre os tratamentos, o tratamento testemunha apresentou relação em torno de 1,00 enquanto o estresse hídrico induziu acúmulo maior de açúcares em raízes (**Figura 27**), em plantas sob hipoxia o acúmulo ocorreu em folhas, pois os valores de razão permaneceram abaixo de 1,00. Os açúcares solúveis concentram em sua maior parte em raízes em plantas sob condições ótimas e o estresse hídrico por períodos prolongados reduz a concentração de açúcares em raízes, enquanto com o prolongamento da hipoxia há relação inversa, com maior concentração de açúcares em folhas, provavelmente devido a redução do conteúdo de açúcares em raízes para produção de energia por meio da glicólise.

O conteúdo de sacarose em folhas diferiu dentre os tratamentos apenas aos 3 dias, onde o tratamento controle apresentou 0,49 mg enquanto em hipoxia e estresse hídrico os valores foram 0,25 e 0,06 mg, respectivamente (**Figura 28**). O tratamento controle apresenta valores crescentes na concentração de sacarose conforme o tempo, alcançando 0,39 mg aos 18 dias. Logo o estresse hídrico exerceu efeito negativo na concentração de sacarose a partir de 12 dias enquanto em hipoxia as taxas foram menores aos 12 e 15 dias e em seguida a concentração aumenta para 0,60 mg aos 18 dias.

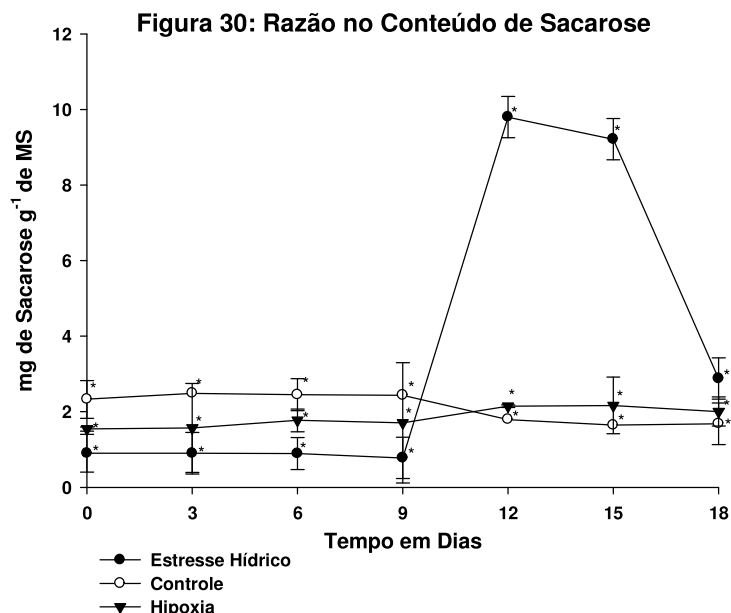
Em raízes o conteúdo de sacarose variou significativamente dentre os tratamentos apenas aos 6 dias (**Figura 29**), sob estresse hídrico o conteúdo de sacarose foi significativamente reduzido, apresentando 0,17 mg, enquanto hipoxia e o tratamento controle mantiveram taxas semelhantes. A razão do conteúdo de sacarose não variou significativamente dentre os tratamentos (**Figura 30**). Entretanto, o estresse hídrico por 12 e 18 dias induziu maior acúmulo de sacarose em raízes e logo aos 18 dias o conteúdo reduz substancialmente. O tratamento testemunha e hipoxia apresentaram valores semelhantes no conteúdo de sacarose em todos os períodos analisados.



**Figura 28:** Conteúdo de sacarose em folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

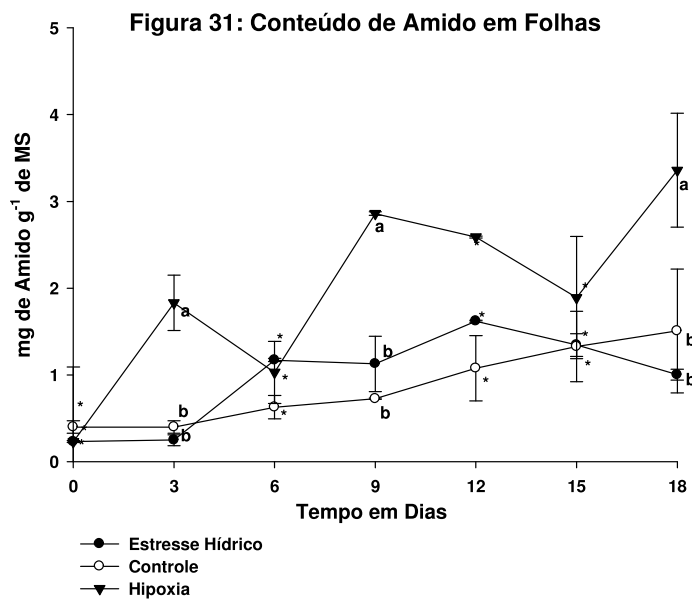


**Figura 29:** Conteúdo de sacarose em raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

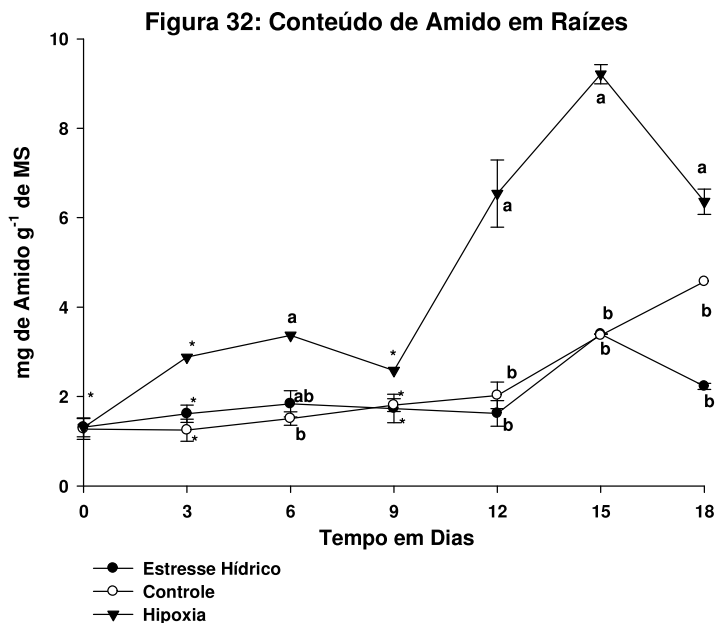


**Figura 30:** Razão no conteúdo de sacarose em raízes e folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

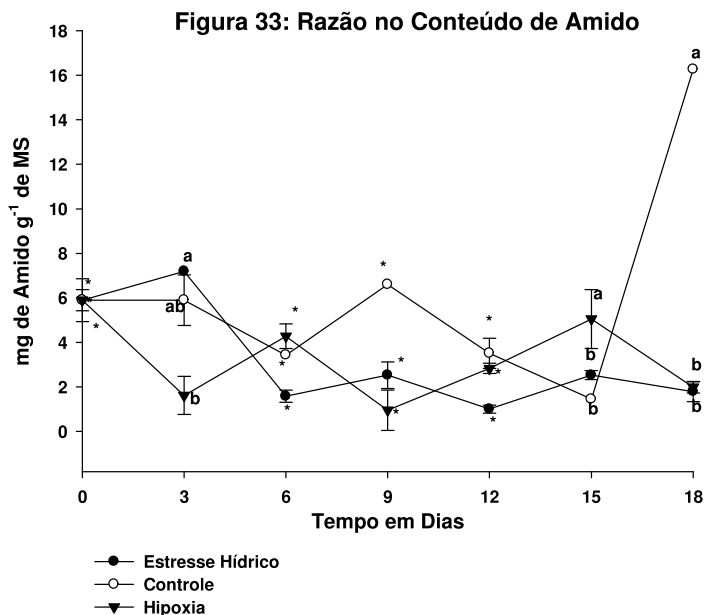
Foram observadas diferenças significativas no conteúdo de amido em folhas durante 3, 9 e 18 dias de persistência dos tratamentos (**Figura 31**). Nestes períodos a hipoxia apresentou taxas significativamente maiores em relação aos demais tratamentos, alcançando 3,36 mg aos 18 dias. O tratamento controle e estresse hídrico mantiveram taxas semelhantes. Em raízes, foram observadas diferenças significativas no conteúdo de amido durante 6, 12, 15 e 18 dias (**Figura 32**). Assim como ocorreu em folhas, o tratamento hipoxia apresentou taxas significativamente maiores em relação aos demais tratamentos, enquanto o tratamento controle e hipoxia mantiveram taxas semelhantes. Quanto à razão no conteúdo de amido entre raiz e parte aérea, foram observadas diferenças significativas dentre os tratamentos durante 3, 15 e 18 dias (**Figura 33**). As plantas de gabiropa tendem a acumular amido preferencialmente em raízes em detrimento de folhas, visto que o tratamento controle apresenta valores razão acima de 1,00 em todos os períodos analisados.



**Figura 31:** Conteúdo de amido em folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 32:** Conteúdo de amido em raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 33:** Razão no conteúdo de amido em raízes e folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

Não é possível demonstrar o efeito do estresse hídrico no metabolismo de carboidratos sem uma análise conjunta do conteúdo de carboidratos solúveis, amido e sacarose e a partição destes em raiz e parte aérea. A redução significativa do conteúdo de AST em folhas em estresse hídrico e a redução de matéria seca de folhas observada na contribuem com a afirmação de que o prolongamento do estresse hídrico limitou a taxa fotossintética possivelmente pela redução da concentração intercelular de CO<sub>2</sub> devido ao fechamento estomático. Além disso, a menor concentração de carboidratos solúveis pode ter sido induzida pelo alto consumo priorizando a produção de ATP como tentativa de evitar inibição de enzimas como RUBISCO.

Robinson & Portis (1988) mostraram que ativação da RUBISCO decresce na proporção da concentração de ATP no estroma do cloroplasto. A redução na concentração de carboidratos solúveis em folhas foi observada na gramínea *Leymus chinensis* sob severo estresse hídrico e aquecimento noturno sugerindo que este pode reduzir a termoestabilidade do PSII obtido pelo ajuste osmótico (Xu et al., 2005). Conforme McDonald & Paulsen, (1997) e Machado & Paulsen, (2001) a alta temperatura pode exarcerbar os efeitos de estresse hídrico pela redução e produção

de fotossintatos e limitando a capacidade das plantas a ajustarem osmoticamente aos déficits hídricos.

Muitos trabalhos têm mostrado o ajuste osmótico em células do mesofilo para manter o balanço hídrico. Em milho houve aumento no conteúdo de amido, glicose, frutose e aminoácidos na folhas sob estresse hídrico, em *Solanum lycocarpum* o conteúdo de carboidratos redutores aumentou (Chaves-Filho & Stacciarini-Seraphin, 2001), em *Lupinus albus* aos seis dias de suspensão de rega o conteúdo de sacarose, frutose e glicose aumentaram cerca de cinco vezes, a sacarose fosfato sintase e invertase ácida aumentaram cerca de duas vezes (Pinheiro et al., 2001). Zrenner & Stitt, (1991) sugeriram que a mudança na proporção de carboidratos é devido o aumento da concentração de  $P_i$  causada pelo pequeno volume celular e talvez mudanças nas enzimas remobilizadoras de amido, as quais produzem mono e dissacarídeos que são acumulados em estresse hídrico moderado.

Ainda é possível que as células das raízes funcionassem como dreno de carboidratos solúveis para manutenção do turgor e crescimento em busca de água em locais do solo com maior umidade. Conforme Sharp et al., (2004) em condições de estresse hídrico há promoção de crescimento das raízes pelo ajuste osmótico nas regiões de crescimento resultantes de dois mecanismos: o aumento osmótico que inclui efeitos na síntese de solutos, absorção, catabolismo, importe e utilização, ou mesmo a redução na taxa de expansão de tecidos.

A inicial redução do conteúdo de carboidratos solúveis em raízes é acarretada pela redução da taxa fotossintética de folhas com a conseqüente redução de produtos essenciais para o crescimento das raízes, logo a maior concentração de AST aos 18 dias provavelmente é decorrente da remobilização do amido de reserva produzindo mono e dissacarídeos, em vista de aumentar o potencial osmótico celular. Conforme Lawlor & Cornic, (2002); Pinheiro, (2004) e Praxedes et al., (2005) a manutenção do crescimento das raízes (drenos ativos), pode representa um importante mecanismo para retardar a desidratação.

Costa et al., (2006) observaram a degradação de clorofila a e b devido o estresse anóxico e uma redução do crescimento total da planta (Gregório et al., 2008). Provavelmente a maior concentração de carboidratos em folhas não foi decorrente da atividade fotossintética, pode ter ocorrido a inibição do transporte de fotossintatos ate o floema ou a translocação das raízes para parte aérea aumentando assim a concentração de carboidratos solúveis. A hipótese de

translocação é sustentada pela redução do conteúdo de carboidratos solúveis em raízes com o prolongamento da hipoxia.

Muitos trabalhos têm relatado o fechamento estomático em resposta à hipoxia de raízes. Batista et al., (2008) relataram que a hipoxia de raízes de *Cecropia pachystachya* induziu o fechamento estomático e esta deve ser a grande se não a única, causa de redução da taxa fotossintética nesta espécie, ou seja, possivelmente nesta espécie o alagamento não deve afetar a atividade da RUBISCO ou provocar disfunções nos cloroplastos como sugerido por Liao & Lin (1994; 1996) e Dreyer (1994). O fato de não ocorrer um efeito do alagamento diretamente no processo fotossintético, e sim indiretamente através do fechamento estomático, é um importante indício da capacidade de recuperação nos níveis de taxa fotossintética após o período de alagamento.

Liao & Lin, (2002) mostraram que o fechamento estomático limita a fixação de CO<sub>2</sub> em plantas sob hipoxia e o transporte de fotossintatos no floema é bloqueado (Saglio, 1985) prejudicando também o carregamento de sacarose. Isto pode conduzir ao acúmulo de amido nos cloroplastos (Wample & Davis, 1983; Liao & Lin, 1994), sugerindo que a inibição por *feedback* e acúmulo de amido pode resultar na redução da fixação de CO<sub>2</sub>.

A hipoxia de raízes conduz a prejuízos taxa fotossintética, declínio da transpiração e na condutância estomática, reduz o transporte no floema e açúcares solúveis e amido acumulam nas folhas afetando negativamente o fornecimento de açúcares às raízes (Kreuzwieser et al., 2004). A hipoxia conduz a uma tendência de menor produção de biomassa de raízes, devido à lenta atividade metabólica, bloqueio da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, oxidação de NADH<sup>+</sup> + H<sup>+</sup> e síntese de ATP. O prejuízo na respiração mitocondrial aumenta glicólise, a qual é pouco eficiente na produção de energia e produz grandes quantidades de piruvato, o qual é convertido a compostos fitotóxicos como acetaldéido, etanol e ácido láctico (Pezeshki 1994; Drew 1997; Gibbs & Greenway 2003).

Su et al., (1998) observaram que as quantidades de sacarose e hexoses (glicose e frutose) em raízes de plantas de melão aumentam 3,5 a 4,0 vezes durante o recente estágio de hipoxia e reduziram gradualmente alcançando níveis similares aqueles encontrados no controle. Para uma satisfatória produção energética em episódios de hipoxia em curtos períodos pode haver aceleração da glicólise havendo maior consumo de hexoses para síntese de energia como sugerido por McManmon

& Crawford (1971) e Vartapetian et al., (2003) e para períodos mais prolongados a produção energética pode ser garantida pela respiração aeróbia em razão das modificações morfo-anatômicas. A hipoxia estimula a atividade de ACC sintase e ACC oxidase, fazendo com que ACC e etileno sejam produzidos mais rapidamente. O etileno leva à morte e desintegração das células do parênquima cortical da raiz e os locais ocupados por células propiciam os vazios preenchidos por ar que facilitam o movimento de oxigênio (Taiz & Zeiger, 2009). Isto também explica a tendência de redução de matéria seca de raízes na **Figura 4**.

A variação da concentração de sacarose em folhas em estresse hídrico pode ser consequência da atividade das invertases que tem atividade mesmo em estresse hídricos severos. No entanto, o aumento do conteúdo de sacarose tem sido observado em plantas sob estresse hídrico, o que representa uma estratégia de ajuste osmótico em vista de manter a sobrevivência da planta. Além disso, a sacarose e outros açúcares são essenciais na expressão de genes envolvidos na fotossíntese, respiração, metabolismo do nitrogênio e secundário, bem como processos de defesa (Koch, 1996; Jang & Sheen, 1997, Hare et al., 1998; Halford et al., 1999).

É conhecido que em condições de estresse hídrico, o amido de reserva começa a ser hidrolisado por aumento da atividade das amilases, havendo assim, maior acúmulo de carboidratos solúveis, aminoácidos e ácidos orgânicos, que não estarão sendo utilizados na respiração de crescimento e síntese de novos tecidos (Hsiao, 1973). No entanto, não foi observado aumento da concentração de açúcares solúveis, mas uma sensível redução na concentração de amido com o prolongamento do estresse hídrico (**Figura 20**), o que implica que possivelmente iniciaria a fase de mobilização do amido para produção de sacarose, mas este fato seria comprovado após maiores períodos de estresse hídrico que os analisados. Desta forma, nota-se que as plantas de gabioba não exibem ajuste osmótico das folhas como estratégia de manter o balanço hídrico.

Praxedes (2003) observou aumento da concentração de sacarose devido ativação da frutose 1,6 bisfosfato no clone 120 de *Coffea canephora* tolerante à seca e submetido ao estresse hídrico severo. A maior concentração de sacarose neste clone pode ter sido provocada pela redução na exportação dos assimilados, à medida que o crescimento diminui com o estresse hídrico (Lawlor & Cornic, 2002). A

presença de hexoses pode promover a atividade das invertases, como ocorreu no clone 120, aumentando significativamente a concentração de sacarose.

Em raízes, a concentração de sacarose foi estimulada pelo estresse hídrico, o que pode ser indício de ajuste osmótico das raízes objetivando crescimento até as zonas mais úmidas do solo. O prolongamento do estresse parece estar favorecendo o armazenamento de amido nas raízes como tentativa de economia de energia para períodos mais favoráveis ao metabolismo. Visto que a síntese de amido e sacarose é controlada pela concentração de triose-fosfato e  $P_i$  no plastídio e citosol, o fluxo de trioses fosfato foi favorável para o estroma do plastídeo, assim a maior concentração de  $P_i$  no citosol atua inibindo a atividade SPS (sacarose fosfato sintase). Nota-se que a síntese de amido nas raízes foi promovida a partir de 3 dias de estresse hídrico (**Figura 31**), e que a concentração de amido é cerca de dez vezes maior que a concentração de sacarose, quando há síntese de amido não há síntese de sacarose devido ao maior influxo de trioses fosfato para o estroma do cloroplastídeo.

O baixo conteúdo sacarose em folhas em relação às raízes (**Figura 28 e 29**) contribui com a proposta de prejuízos de alocação de fotoassimilados da parte aérea para as raízes. O aumento da concentração de amido em folhas com o prolongamento da hipoxia (**Figura 31**) sugere que houve aumento de nível de  $P_i$  no citosol e baixa quantidade de hexoses fosfato devido à baixa atividade fotossintética induzida pelo fechamento estomático acarretando na inibição da sacarose fosfato sintase e sacarose-6-fosfato fosfatase, logo a concentração de sacarose foi pouco estimulada em relação à síntese de amido, a qual foi favorecida em folhas. Além disso, o bloqueio do transporte de fotossintatos da parte aérea para a raiz (Su et al., 1998) resulta no acúmulo de carboidratos solúveis (**Figura 25**) mais uma vez favorecendo o acúmulo de amido nos cloroplastos.

Outra hipótese sobre a influência da hipoxia no metabolismo de carboidratos foi proposta por Kreuzwieser et al., (1999) o qual cita que o etanol produzido nas células das raízes em hipoxia é transportado via corrente transpiratória alcançando as folhas, é então oxidado a acetaldeído na presença da álcool desidrogenase. A maior parte do acetaldeído é transformado em acetato na presença da aldeído desidrogenase e subseqüentemente ativado a Acetil-CoA pela acetil-CoA sintetase, sendo assim disponível para o metabolismo primário das plantas.

O menor conteúdo de sacarose em raízes sob hipoxia (**Figura 32**) e a falta de suprimento de sacarose oriundo parte aérea induz ao elevado consumo de

carboidratos solúveis, propiciando a síntese de amido. Enquanto a concentração de carboidratos solúveis não foi exaurida houve tendência de síntese de amido para reserva. Logo aos 18 dias a intensa atividade fermentativa para síntese de ATP nas raízes, passa a ser sustentada pela degradação do amido, isso evidencia o decréscimo do conteúdo de amido aos 18 dias. Provavelmente a persistência da hipoxia neste período em diante resultaria em maiores consumos de reservas da planta, caso o processo não fosse revertido resultaria em morte.

As plantas de gabioba em condições ótimas tendem a acumular carboidratos solúveis e sacarose em raízes que em folhas (**Figura 27 e 30**), a alocação de biomassa direcionada para um determinado órgão pode ser atribuída às diferenças genótípicas inerentes às espécies. O maior acúmulo de carboidratos solúveis e sacarose em raízes em estresse hídrico são evidências do ajuste osmótico nas células das raízes para manter o turgor. Em plantas de milho sob estresse hídrico, hexoses contribuem para o ajuste osmótico na região basal da zona de crescimento da raiz primária, mas este acúmulo pode ser contrabalanceado pela taxa reduzida de expansão do volume nesta região. Em contraste, poucos milímetros da região apical, a concentração de prolina aumenta contribuindo com cerca de 50% do ajuste osmótico (Sharp et al., 1990; 2004).

Sob condições ótimas, as plantas de gabioba tendem a armazenar grandes quantidades de amido em raízes (**Figura 33**), o estresse hídrico tende a reduzir enquanto hipoxia tende a aumentar esta estocagem. Tem sido apresentado que plantas sob estresse hídrico degradam amido para interconversão de outros carboidratos e consumo para síntese de ATP (Melo et al., 2007; Lawlor & Cornic, 2002; 2004; Praxedes et al., 2003).

A redução do conteúdo de carboidratos solúveis e sacarose em folhas podem estar relacionadas à mobilização de carboidratos solúveis para a síntese de amido no estroma do cloroplastídeo. Além disso, apesar da taxa fotossintética das plantas terem sido reduzidas com o estresse hídrico, pode ter ocorrido também a degradação da clorofila. É importante salientar que não houve abscisão das folhas das plantas de gabioba, o enrolamento das folhas devido à desidratação do mesofilo e acúmulo de amido em folhas parece ser estratégia para estocagem de amido para fornecimento a novos brotos de folhas ao fim do estresse.

Em plantas sob hipoxia (**Figura 27**) há equilíbrio no conteúdo de AST entre raízes e parte aérea, provavelmente em vista da degradação de açúcares nas

raízes. Além disso, a alocação de carboidratos solúveis para as raízes é prejudicada pela hipoxia e o conteúdo remanente nas raízes é esgotado pelo consumo para produção de ATP pela glicólise contribuindo assim na dominância da relação pela parte aérea (Ferner, 2009).

Em condições ótimas as plantas de gabioba apresentam partição de sacarose de maneira semelhante à apresentada no tratamento testemunha, com maior acúmulo de sacarose em raízes que em folhas. A importância de uma demanda maior de carboidratos devido à hipoxia foi notada por estudos incluindo: um fornecimento de sobrevivência as espécies sensíveis a hipoxia quando açúcar exógeno foi aplicado (Waters et al., 1991; Perata et al., 1992), a hipoxia induziu ativação das enzimas da via glicolítica (Sachs, 1993; Setter et al., 1997) e inibição da síntese de enzimas da via glicolítica lidera o decréscimo da tolerância à hipoxia (Subbaiah & Sachs, 2001; Vartapetian & Jackson, 1997).

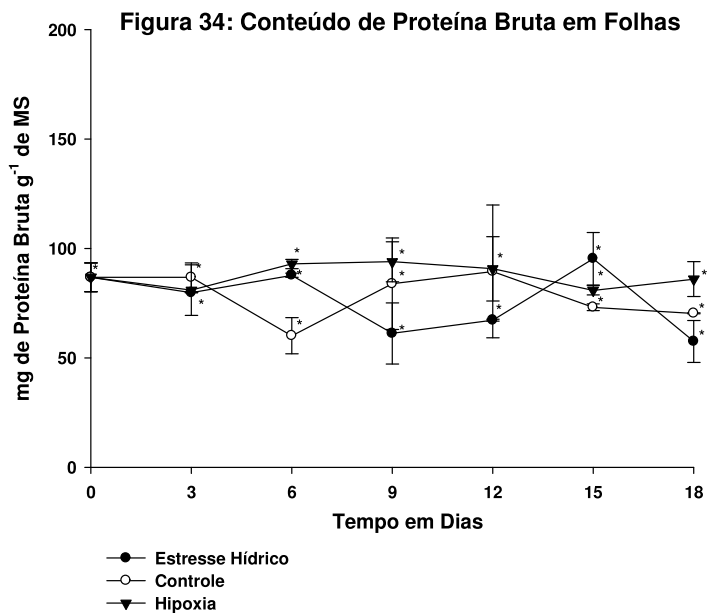
A redução da razão no conteúdo de amido (**Figura 33**) em estresse hídrico e hipoxia favorecem a alta produção de amido em raízes de plantas, evidenciando o desvio de açúcares para síntese de amido até que o consumo de hexoses para via glicolítica é limitante, a partir daí a concentração de amido prevalece em folhas devido início da degradação do amido produzindo hexoses que são logo consumidas pela via glicolítica para síntese de ATP.

#### 4.5 Conteúdo de Proteína Bruta, Insolúvel e Solúvel

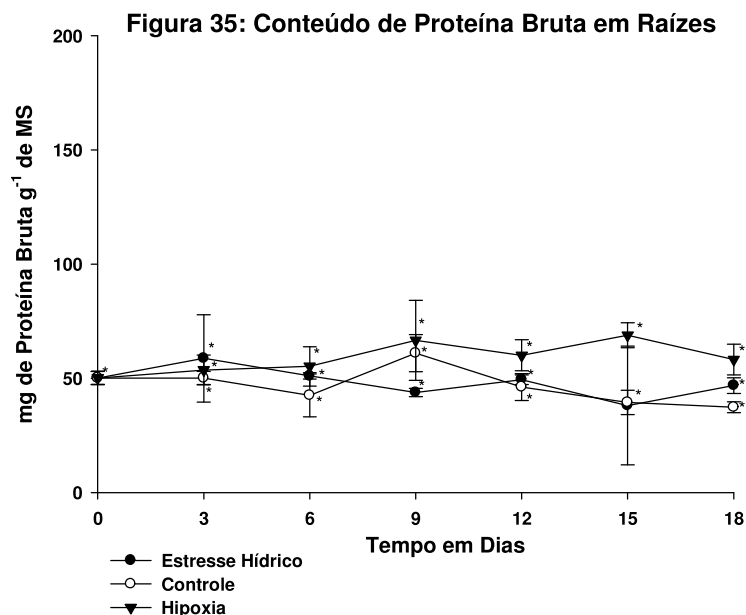
O conteúdo de proteína bruta em folhas e raízes não foi afetado significativamente pelos tratamentos (**Figura 34 e 35**). A razão na concentração de proteína bruta entre raízes e parte aérea (**Figura 36**) não diferiu significativamente dentre os tratamentos, em todos os tratamentos os valores situaram abaixo de 1,0, o que indica que mesmo em condições de estresse há predominância de concentração de proteína bruta em folhas em detrimento das raízes. Grande parte do conteúdo de proteína bruta são proteínas insolúveis e assim como os tratamentos influenciaram suas taxas era esperada que também houvesse diferenças no conteúdo de proteínas insolúveis, esta premissa foi confirmada.

Assim como não houve diferenças significativas no conteúdo de proteína bruta em folhas e raízes, para proteínas insolúveis também não houve diferenças

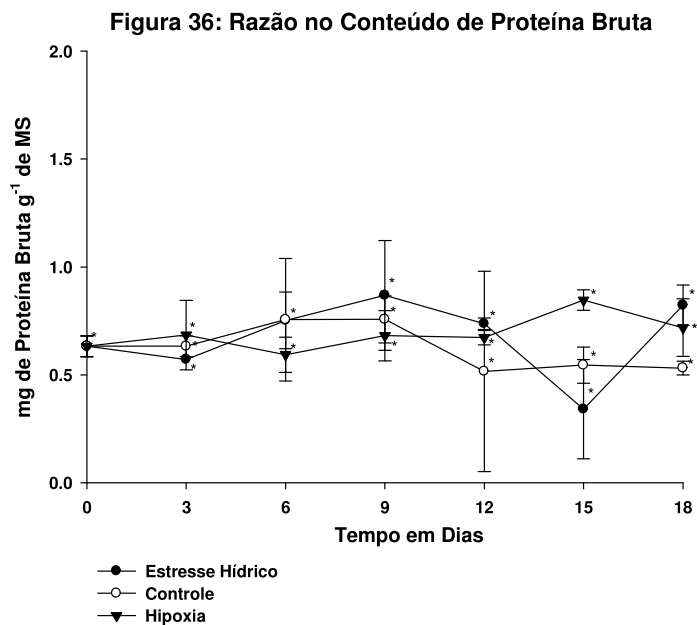
dentre os tratamentos (**Figura 37 e 38**). Também não foram observadas diferenças significativas na razão no conteúdo de proteínas insolúveis entre raízes e folhas, nota-se na Figura 39 que em todos os tratamentos os valores situaram abaixo de 1,0, isto indica que as gabirobeiras concentram maior parte de proteínas insolúveis em folhas em detrimento das raízes.



**Figura 34:** Conteúdo de proteína bruta em folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

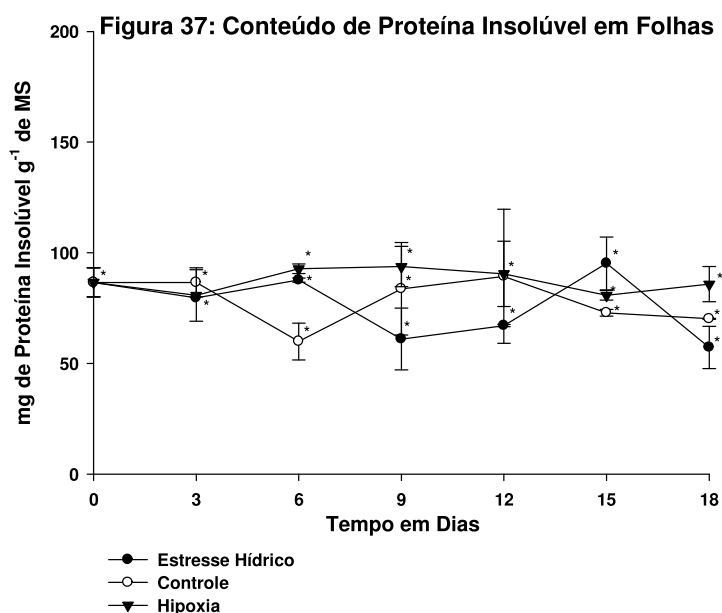


**Figura 35:** Conteúdo de proteína bruta em raízes de gabiobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

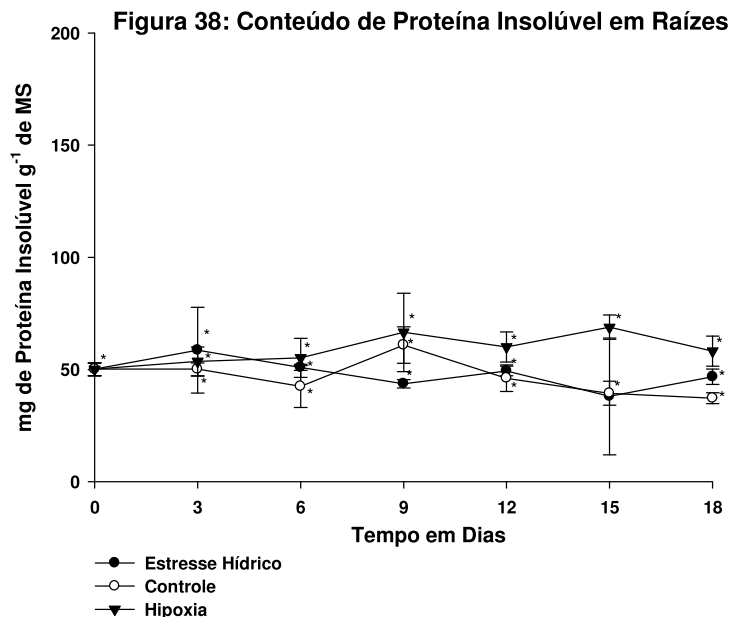


**Figura 36:** Razão no conteúdo de proteína bruta em raízes e folhas de gabiobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

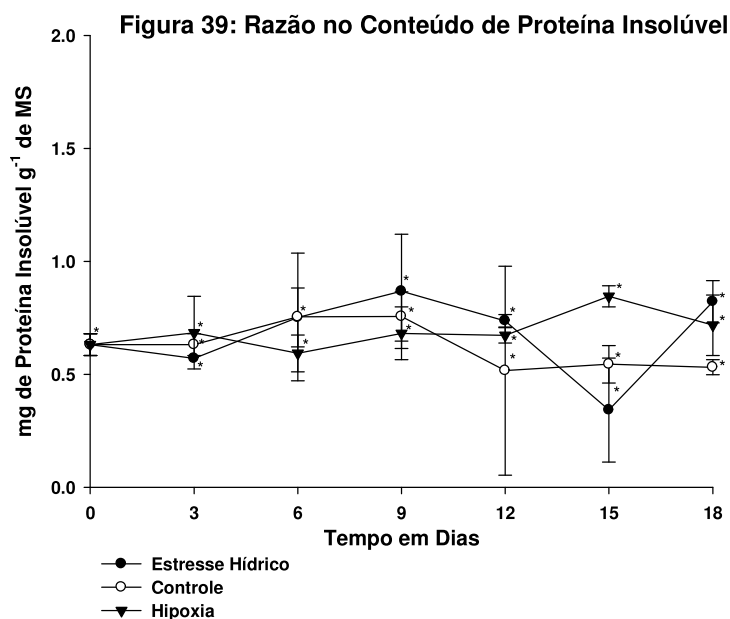
Foram observadas diferenças significativas no conteúdo de proteínas solúveis em folhas durante 6 dias, onde neste período o tratamento controle apresentou taxa significativamente maior em relação os demais tratamentos enquanto aos 12 dias o tratamento hipoxia apresentou conteúdo significativamente maior (**Figura 40**). Em raízes o conteúdo de proteínas solúveis não variou significativamente (**Figura 41**). A razão no conteúdo de proteína solúvel entre raiz e parte aérea também não foi afetada significativamente pelos tratamentos. Todavia nota-se que o estresse hídrico estimulou maior acúmulo de proteínas solúveis em raízes, no entanto o prolongamento do estresse hídrico por 18 dias induziu uma substancial redução no conteúdo (**Figura 42**).



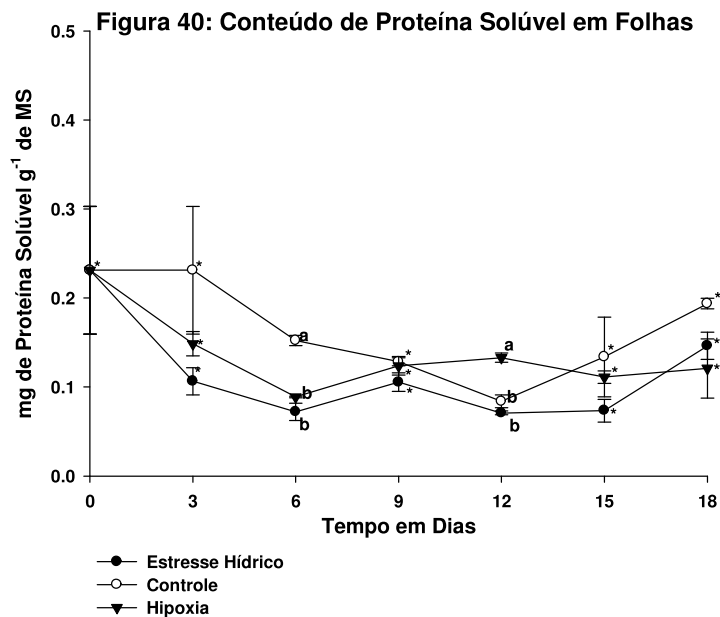
**Figura 37:** Conteúdo de proteína insolúvel em folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



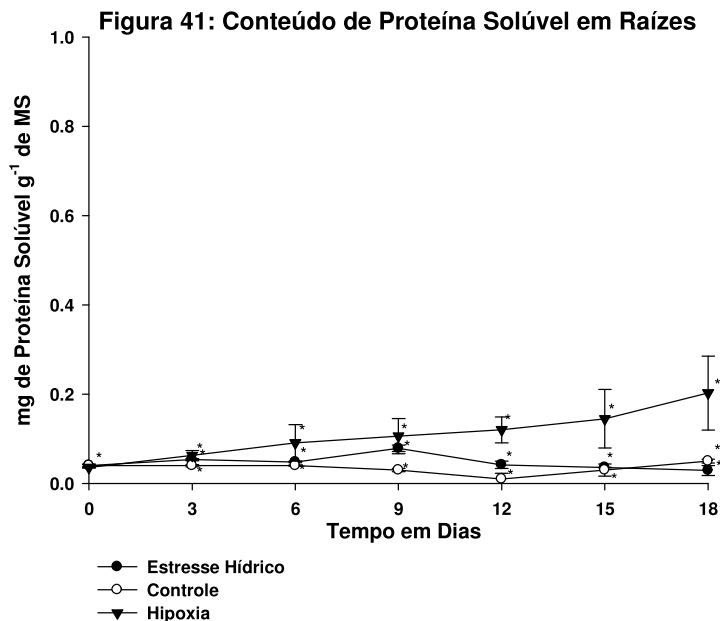
**Figura 38:** Conteúdo de proteína insolúvel em raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



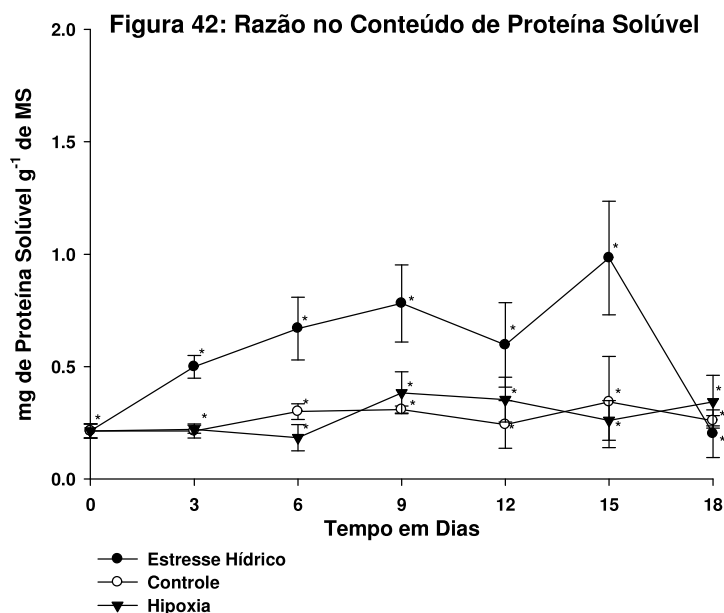
**Figura 39:** Razão no conteúdo de proteína insolúvel em raízes e folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 40:** Conteúdo de proteína solúvel em folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 41:** Conteúdo de proteína solúvel em raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 42:** Razão no conteúdo de proteína solúvel em raízes e folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

O estresse hídrico 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). As proteínas insolúveis ou proteínas estruturais geralmente encontram-se ligadas a outros compostos e são constituintes das membranas celulares, como proteínas de transporte que englobam três classes principais de proteínas: canais, carregadores e bombas (Taiz & Zeiger, 2009).

As indiferenças encontradas na concentração de proteína bruta e insolúveis em folhas mediante ao estresse hídrico mostram que houve insignificantes mudanças em proteínas específicas em resposta ao estresse. Em estresse hídrico a síntese de várias proteínas é inibida, mas outras aumentam, as quais têm funções particulares em resposta ao estresse hídrico como dihidrinas e aquaporinas (Deleu et al., 1999). Provavelmente houve decréscimo de polirribossomos, pois mesmo em grande conteúdo relativo de água os polirribossomos são perdidos, sugerindo que o processo é sensível a déficits hídricos (Kramer & Boyer, 1995).

El-Tayeb & Ahmed, (2007) estudando o estresse hídrico em *Vicia faba* observaram que o conteúdo de proteína no apoplasto de folhas aumentou na cultivar tolerante e reduziu na sensível à seca. Ainda observaram que elevado conteúdo de

proteína na cultivar tolerante foi resultado da síntese de novo de 13 polipeptídeos específicos, e o declínio do conteúdo de proteínas foi associado com 10 polipeptídeos sintetizados novamente, além da elevada atividade das peroxidases e hidrolases na cultivar tolerante, possivelmente relacionada com a síntese de novos polipeptídeos. Em *Pinus banksinana* o acúmulo de diversos tipos de proteína de membrana de baixo peso molecular e proteínas solúveis foram associados com a alta sobrevivência de plântulas sob estresse hídrico (Mayne et al., 1994).

Em raízes (**Figura 26 e 28**), o estresse hídrico não afetou significativamente o conteúdo de proteína bruta e insolúvel, houve apenas sensível redução, o que pode estar associado com o ajustamento osmótico das raízes para manutenção do crescimento. Foi demonstrado por Siahsar et al., (2011) que as raízes de plantas de camomila sob estresse salino sintetizaram osmotina, e que o ajustamento osmótico das raízes impede danos em membranas das células e de organelas envolvidas na síntese proteica como retículo endoplasmático e complexo de Golgi.

A maior concentração de proteína bruta e insolúvel em folhas e raízes de plantas sob hipoxia é consequência da síntese de novos polipeptídeos. Estas novas proteínas podem ser polipeptídeos anaeróbios (ANPs) ou proteínas de estresse anaeróbico (ASP) (Sachs et al., 1980; Nover, 1989). Dentre as ANP's estão álcool desidrogenase (ADH) (Sacks et al., 1980; Sacks et al., 1996), aldolase, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, sacarose sintase (Springer et al., 1986), enolase e glicose-6-fosfato isomerase (Kelley & Freeling, 1984). Proteínas anaeróbicas foram encontradas em raízes de milho sob hipoxia e estas podem ser enzimas da glicólise ou do metabolismo de hexoses fosfato (Sachs et al., 1996).

A maior produção de proteínas em hipoxia em relação aos demais tratamentos se deve a maior atividade da redutase do nitrato nas folhas, e incorporação do nitrogênio na forma de proteínas. No entanto, a síntese de proteínas é dependente de energia e a tradução é regulada por quinases que fosforilam enzimas que participam da tradução. Além disso, energia do GTP é necessário para formação do complexo de iniciação (Heldt, 2005).

A maior parte das proteínas solúveis em plantas participa diretamente do metabolismo vegetal, notadamente como enzimas. Em relação ao papel das proteínas solúveis, além do ajustamento osmótico em si, Mansour (2000) relaciona o acúmulo de proteínas solúveis, durante o estresse hídrico, à manutenção de um estoque de nitrogênio para ser reutilizado ao término do estresse. Tais proteínas

podem ser sintetizadas “de novo” ou ter a expressão aumentada, em resposta ao estresse.

O conteúdo de proteínas solúveis em folhas e a tendência de redução apresentada em raízes em estresse hídrico podem estar relacionados à ocorrência de degradação e queda na síntese protéica, em consequência da indução de estresse hídrico nas células (Yordanov et al., 2000). Desta forma, as folhas das gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico não apresentaram ajuste osmótico. Em raízes um sensível aumento na concentração de proteínas solúveis é evidência da possibilidade de ajuste osmótico envolvendo proteínas, no entanto a tendência de redução mostra o insucesso do mecanismo. Vários investigadores sugerem que a redução do conteúdo de proteína em função do estresse é atribuído ao aumento da taxa de síntese de proteínas de hidrólise que reduzem a disponibilidade de aminoácidos ou a desnaturação de enzimas envolvidas na síntese de proteínas e aminoácidos (Dubey & Rani, 1990).

O conteúdo de proteína solúvel foi pouco afetado pela hipoxia, sob condições de anoxia ou hipoxia, a síntese protéica é limitada, ocorrendo variações consideráveis na qualidade das proteínas que estão sendo sintetizadas (Sacks et al., 1980). Nesse contexto, a síntese de algumas delas é aumentada e a de outras é diminuída e até mesmo inibida. De maneira geral, aquelas proteínas que têm sua síntese aumentada ou diminuída/inibida estão relacionadas ao metabolismo anaeróbico e aeróbico, respectivamente (Lopes et al., 2005). Provavelmente proteínas de alto peso molecular estão envolvidas nos mecanismos de tolerância à hipoxia, conforme Lenhard et al., (2010) o conteúdo de nitrogênio em *Caesalpinia ferrea* foi afetado negativamente pelo alagamento.

A relação no conteúdo de proteína bruta e insolúvel entre raiz e parte aérea nas **Figuras 36 e 39** mostram que apesar das mudanças ocorridas, a partição não é significativamente afetada pelos estresses e há maior concentração de proteínas em folhas que em raízes. No entanto, há maior sensibilidade no conteúdo de proteínas solúveis, conforme **Figura 42** o estresse hídrico aumenta a relação, com concentração predominando ainda em folhas, que pode estar relacionada à desidratação do mesófilo, danos às membranas, maior relação síntese/degradação de proteínas no órgão. Em estresse hídrico a maior taxa síntese de proteínas em raízes está relacionada à síntese de novas proteínas envolvidas na proteção contra a dessecação de tecidos, como as LEAs (Late Embiogenesis Abundant Proteins).

São várias famílias de proteínas que se acumulam em níveis elevados durante a fase madura da embriogênese, pouco antes o início da dessecação de sementes e que são encontradas também em tecidos vegetativos. As LEAs protegem proteínas e membranas contra a desidratação, é possível que as proteínas LEA D-11 e LEA D-13 formam uma estrutura que substitui a água e mantém a estrutura de proteínas e membranas na ausência dela (Moreno, 2009). Além disso, o estresse hídrico induz a expressão de genes de proteases e enzimas se detoxificação como glutathione S-transferase, hidrolase epóxido solúvel, catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase (Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki, 2007). No entanto, o prolongamento do estresse hídrico inviabiliza a síntese destas proteínas.

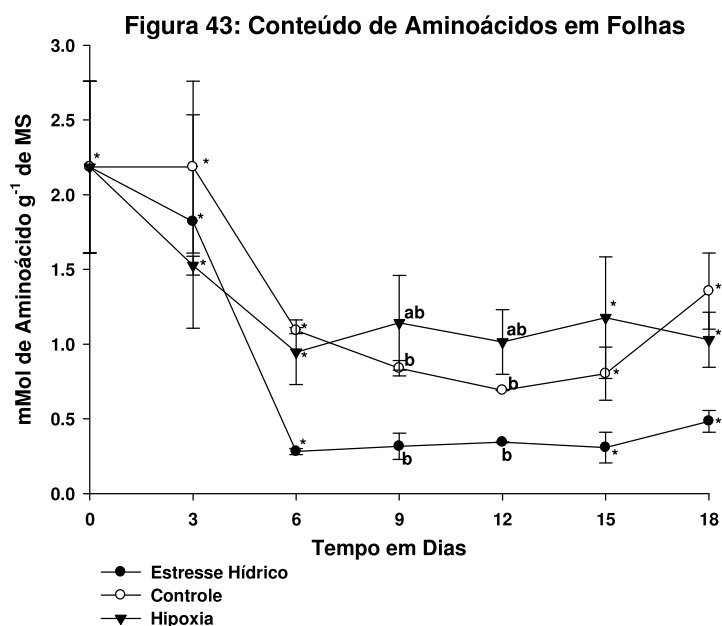
Em hipoxia a razão semelhante à apresentada no tratamento controle evidencia que a concentração de proteínas não foi modificada, no entanto pode ter ocorrido a degradação de algumas e síntese de outras novas. A influência do estresse anaeróbico na síntese de proteínas varia conforme a espécie. A síntese de proteínas anaeróbicas em raízes de milho é inibida sob estresse anaeróbico e um novo grupo de proteínas é sintetizada. Muitas destas proteínas são polipeptídeos anaeróbicos (ANPs) ou proteínas de estresse anaeróbico (ASPs) (Sachs et al., 1980; Nover, 1989). Estas proteínas podem ser enzimas da glicólise ou do metabolismo de açúcares (Sachs et al., 1996).

#### 4.6 Conteúdo de Aminoácidos

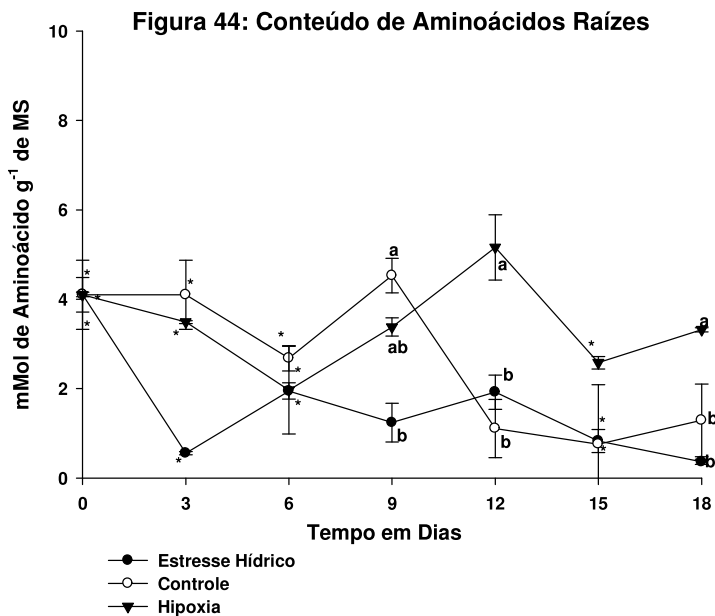
O conteúdo de aminoácidos em folhas foi afetado significativamente aos 12 e 15 dias (**Figura 43**). Nota-se que o menor conteúdo de aminoácidos foi encontrado no tratamento estresse hídrico e os maiores em hipoxia. Em raízes, o estresse hídrico afetou significativamente o conteúdo de aminoácidos aos 9, 12 e 18 dias (**Figura 44**). De forma semelhante às folhas, as taxas foram significativamente menores no tratamento estresse hídrico. Em hipoxia o conteúdo de aminoácidos variou bastante, aos 12 dias observou-se 5,16 mMol e aos 18 dias 3,32 mMol. O tratamento controle também apresentou grande variação no conteúdo, apresentando elevados conteúdos até 12 dias e em seguida de menores até 18 dias.

Não foram observadas diferenças significativas na razão no conteúdo de aminoácidos entre raízes e parte aérea dentre os tratamentos (**Figura 45**). As plantas em condições ótimas apresentam tendência de maior acúmulo de aminoácidos em raízes até 9 dias e a partir daí equilíbrio na concentração apresentando valores de relação próximos de 1,0. Em estresse hídrico há tendência de acúmulo de aminoácidos em raízes até 12 dias, em diante há decréscimos seguidos nos valores de relação alcançando equilíbrio aos 18 dias. Comportamento semelhante foi apresentado em hipoxia, porém neste nota-se tendência de aumento na relação até 12 dias e em seguida redução na relação, mas não alcançando estado de equilíbrio, ainda predominando maior concentração de aminoácidos em raízes em detrimento das folhas.

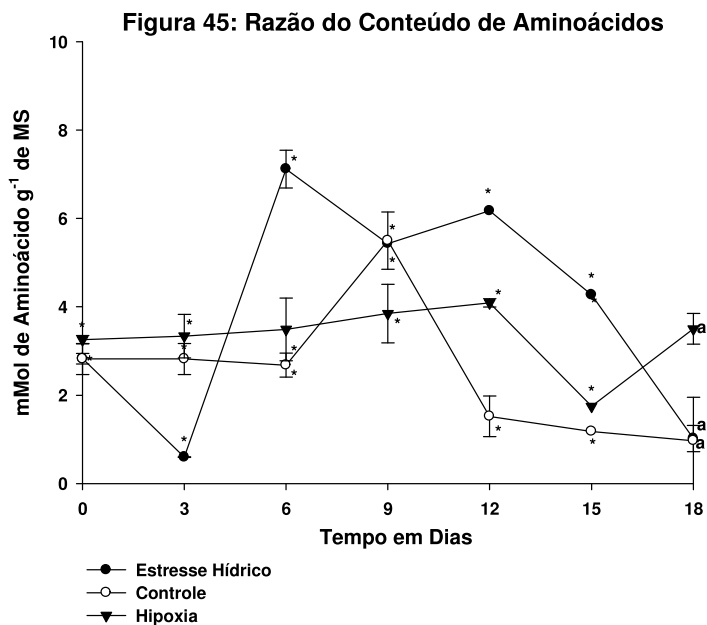
Vários osmoprotetores como prolina e glicinebetaína são produzidos em resposta ao estresse hídrico, nas plantas de gabirolba o estresse hídrico reduziu a concentração de aminoácidos em folhas e raízes (**Figura 43 e 44**), logo estas plantas não exibem ajuste osmótico por meio de aminoácidos em folhas e raízes. A prolina tem sido identificada como importante osmoprotetor em plantas sob estresse hídrico (Sofo et al., 2004).



**Figura 43:** Conteúdo de aminoácidos solúveis em folhas de gabirolbeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 44:** Conteúdo de proteína solúvel em raízes de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.



**Figura 45:** Razão no conteúdo de aminoácidos solúveis em raízes e folhas de gabirobeiras submetidas ao estresse hídrico e hipoxia durante 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias. Médias seguidas pela mesma letra em cada época não diferem significativamente entre si conforme teste Tukey a 5% de probabilidade. \*: Não significativo.

A redução da atividade da redutase do nitrato está associada à menor produção de aminoácidos como prolina que depende da síntese de glutamato. Outras substâncias como betaínas que consiste de aminoácidos como glicina e alanina e betaína com o grupo amino metilados conferem proteção contra o estresse hídrico e estresse salino além de participarem como antioxidantes na eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Heldt, 2005).

A hipoxia induziu poucas mudanças no conteúdo de aminoácidos em folhas (**Figura 43**) e em raízes a variação foi grande (**Figura 44**). Em tecidos sob hipoxia pode haver aumento no conteúdo de aminoácidos devido à proteólise ou interconversão de aminoácidos. A alanina tem sido bastante encontrada em tecidos sob hipoxia e síntese é derivada de piruvato formado em grandes quantidades pela aceleração da glicólise nas raízes ou por meio de interconversões de outros aminoácidos (Souza & Sodek, 2002). Em raízes a alta variação no conteúdo de aminoácidos pode estar relacionada com a produção de poliamina como putrescina formada através da descarboxilação da arginina (Menegus et al., 1989; Reggiani, 1999).

A **Figura 45** apresenta o comportamento assintótico na relação em estresse hídrico devido à redução do conteúdo de aminoácidos em folhas. O tratamento controle mostra uma tendência de equilíbrio da concentração de aminoácidos entre raiz e parte aérea, isto é consequência da redução gradativa do conteúdo de aminoácidos em raízes, alcançando os mesmos níveis que as folhas. A atividade da redutase do nitrato está relacionada com a produção de aminoácidos. Correia et al., (2005) mostraram a predominância de aminoácidos em folhas em detrimento das raízes em plantas de girassol sob estresse hídrico, isto está relacionado com a menor atividade da redutase do nitrato não fosforilada e concordante de com o papel dos produtos finais da assimilação do nitrato como repressores do gene de transcrição da redutase do nitrato (Scheible et al., 1997).

Em hipoxia, a maior concentração de aminoácidos em raízes se deve a interconversão de aminoácidos livres, a maioria dos autores concordam que a interconversão ajuda a regulação do pH celular em órgãos de plantas sob deficiência de O<sub>2</sub> (Streeter & Thompson, 1972; Fan et al., 1988; Reggiani et al., 1988; Crawford et al., 1994; Fan et al., 1997; Reggiani, 1999), uma característica considerada fundamental para sobrevivência de espécies sob anoxia (Ricard et al., 1994).

## 5. CONCLUSÕES

As gabirobeiras são sensíveis ao estresse hídrico por falta de água, em vista disso, exibem como estratégias de sobrevivência a remobilização de carboidratos solúveis e de reserva da parte aérea para as raízes em vista de aumentar o potencial hídrico da raiz, sustentando o crescimento em direção às zonas mais úmidas do solo. Estas estratégias permitiram que as gabirobeiras escapassem da seca, pois a taxa de assimilação líquida é reduzida nos períodos iniciais do estresse hídrico.

Como estratégias de superarem o estresse hipóxico, as gabirobeiras reduziram a taxa de assimilação líquida e sustentaram o potencial hídrico das folhas com carboidratos solúveis oriundos da remobilização do amido. Provavelmente houve síntese e degradação de polipeptídeos e enzimas em raízes com a mudança do metabolismo aeróbio para anaeróbio.

## 6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZUGARAY, D., ALZUGARAY, C. Primeira enciclopédia de plantas do Brasil. Três livros e fascículos LTDA, São Paulo, p.233-234, 1984.

ANDRADE, A.C.S., RAMOS, F.N., SOUZA, A.F., LOUREIRO, M.B., BASTOS, R. Flooding effects of *Cytherexylum myrianthum* Cham. And *Genipa americana* L.: responses of two neotropical lowland species. Revista Brasileira de Botânica 22: 281-285, 1999.

ANDREEV, V.Y., GENEROZOVA, I.P., VARTAPETIAN, B.B. Energy status and mitochondrial ultrastructure of excised pea root at anoxia and postanoxia. Plant Physiol. Biochem. 29:171-176, 1991.

ARMSTRONG, W., BRAENDLE, R., JACKSON, M.B. Mechanisms of flood tolerance in plants. Acta Botanica Neerlandica, 43: 307-358, 1994.

ARRUDA, G.M.T., CALBO, M.E.R. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore). Acta Botanica Brasilica, V.2, 18: 219-224, 2004.

ASSIS, PC., CARVALHO, R.S., CARNEIRO, M.A.C., REIS, E.F., PINTO, J.F.N. Crescimento inicial de mudas de gabioba (*Campomanesia sp*) em solo esterilizado, adubado e inoculado com fungos micorrízicos arbusculares. XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas, XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo e VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo, Guarapari – ES, 2010.

BARATHI, P.; SUNDAR, D.; REDDY, R.A. Changes in mulberry leaf metabolism in response to water stress. Biologia Plantarum, v.44, p.83-87, 2001.

BARROSO, G.M. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, v. 2, 1991.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A. L. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 1984. v.2, 377p.

BARTA, A.L. Supply and partitioning of assimilates to roots of *Medicago sativa* L. and *Lotus corniculatus* L. under anoxia. Plant Cell Environmental. 10:151-156, 1987.

BATISTA, C.U.N., NEVES, B., MEDRI, M.E., BIANCHINI, E., MEDRI, C. "Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos." Hortscience 22(1): 91-98, 2008.

BERG, M.E. Plantas medicinais na Amazônia. Contribuição ao seu conhecimento sistemático. 2ª ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1993. 207p. CRAVO, A. B. Frutas e ervas que curam. São Paulo, 5 ed, p.108-109, 1994.

BEZERRA NETO, E., BARRETO, L.P. Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas. Recife – UFPE, Editora Universitária da UFRPE, 261p, 2011.

BLUM, A. The effect of heat stress on wheat leaf and ear photosynthesis. Journal Experimental Botany, 37: 111-118, 1986.

BOUNY, J.M., SAGLIO, P.H. Glycolytic flux and hexokinase activities in anoxic maize root tips acclimated by hypoxic pretreatment. Plant Physiology, 111:187-194, 1996.

BRADFORD K.J. Water relations and growth of the flacca tomato mutant in relation to abscisic acid. Plant Physiology 72, 251–255, 1983.

BRADFORD, K.J., YANG, S.F. Physiological responses of plants to waterlogging. HortScience Alexandria, v.16, n.1, p.25-30, 1981.

BRAY, E.A. Plant responses to water deficit. Trends Plant Science 2: 48-54, 1997.

CABRAL, E.L., BARBOSA, D.C.A., SIMABUKURO, E.A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. Acta Botanica Brasilica, 18(2): 241-251, 2004.

CALHEIROS, R.O., CRUCIANI, D.E., ARRUDA, F.B., VOLTAN, R.B.Q., SAKAI, R., PIRES, R.C.M. Efeito do Manejo do Lençol Freático na Adaptação Fisiomorfológica de duas Espécies de Trigo ao Encharcamento. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande -PB, v.4, n.2, 194-202, 2000.

CATHARINO, E.L.M., BERNACCI, L.C., FRANCO, G.A.D.C., DURIGAN, G., METZGER, J.P. Aspectos da composição e diversidade do componente arbóreo das florestas da Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, SP. Biota Neotrop. v.6, n.2, Campinas, 2006.

CHAVES, M.M., MAROCO, J.P., PEREIRA, J.S. Understanding plant response to drought-from genes to the whole plant. Functional Plant Biology, 30:239-64, 2003.

CHAVES, M.M., PEREIRA, J.S., MAROCO, J., RODRIGUES, 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. *Ann Bot (Lond)* 89: 907–916, 2002.

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

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

COELHO de SOUZA, G., AAS, A.P.S., von POSER, G.L., SCHAPOVAL, E.E.S., ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.90, p.135-143, 2004.

CONFORTO, E.C. Respostas fisiológicas ao déficit hídrico em duas cultivares enxertadas de seringueira (“RRIM 600” e “GT 1”) crescidas em campo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.3, p.679-684, 2008.

CORREIA, K.G., NOGUEIRA, R.J.M.C. Avaliação do Crescimento do Amendoim (*Arachis Hypogaea* L.) Submetido a estresse Hídrico. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 4, n. 002. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Brasil, 2004.

COSTA, A.M., GOBBI, E.L., DEMUNER, V.G., HEBLING, S.A. O efeito da inundação do solo sobre o crescimento inicial de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, guapuruvu. *Natureza on line* 4(1): 7-13, 2006.

COTELLE, V., MEEK, S.E., PROVAN, F., MILNE, F.C., MORRICE, N., MACKINTOSH, C. “14-3-3s regulate global cleavage of their diverse binding partners in sugar-starved Arabidopsis cells.” *The EMBO Journal* 19 (12): 2869-76, 2000.

CRAVO, A. B. Frutas e ervas que curam: panacéia vegetal. 4 ed. São Paulo: Hemus, 438p,1994.

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

CRONQUIST, A. A commentary of the definition of order Myrtales. *Ann. Missouri Botanic Gard, Missouri*, v. 71, p. 780-782, 1984.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. Boston: Houghton Mifflin, 396p, 1968.

CRUZ, A.V.M.C., KAPLAN, M.A.C. Uso Medicinal de Espécies das Famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. Revista Floresta e Ambiente, v. 11, n.1, p. 47-52, 2004.

CRUZ, J.L., PELACANI, C.R., FILHO, W.S.S., NETO, M.T.C., COELHO, E.F., DIAS, A.T., PAES, R.A. "Produção e partição de matéria seca e abertura estomática do limoeiro 'Cravo' submetido a estresse salino." Revista Brasileira de Fruticultura 25(3): 528-531, 2003.

DAVIES, F.S., FLORE, J.A. Short-term flooding effects on gas exchange and quantum yield of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). Plant Physiology, 81:289-292, 1986.

DELEU, C., COUSTAUT, M., NIOGRET, M.F., LARHER, F. "Three new osmotic stress-regulated cDNAs identified by differential display polymerase chain reaction in rapeseed leaf discs." Plant, Cell and Environment 22(8): 979-988, 1999.

DESIKAN R, GRIFFITHS R, HANCOCK J, NEILL S. A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 99: 16314–16318, 2002.

DESIKAN, R., GRIFFITHS, R., HANCOCK, J., NEILL, S. A new role for an old enzyme: Nitrate reductase- mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. PNAS, 10, v. 99, n. 25, 16314–16318, 2002.

DHINDSA, R.S., BEWLEY, J.D. "Water Stress and Protein Synthesis: V. Protein Synthesis, Protein Stability, and Membrane Permeability in a Drought-sensitive and a Drought-tolerant Moss." *Plant physiology* 59(2): 295-300, 1977.

DORIGONI, P.A., GHEDINI, P.C., FRÓES, L.F., BAPTISTA, K.C., ETHUR, A.B.M., BALDISSEROTTO, B., BÜRGER, M.E., ALMEIDA, C.E., LOPES, A.V.M., ZÁCHIA, R.A. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no Município de São João Polésine, RS, Brasil. I-relação entre enfermidades e espécies utilizadas. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.4, n.1, p.69-79, 2001.

DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review Plant Physiology, Plant Molecular Biology*, 48: 223–250, 1997.

DREW, M.C. Soil aeration and plant metabolism. *Soil Science*, Baltimore, v. 154, n. 4, p. 259-268, 1992.

DREW, M.C., SISWORO, E.J. The development of waterlogging damage in young barley plants in relation to plant nutrition status and changes in soil properties. *New Phytologist* 82: 301-314, 1979.

DREYER E, COLIN-BELGRAND, M., BIRON P. Photosynthesis and shoot water status of seedlings from different oak species submitted to waterlogging. *Annales de Sciences Forestieres*, 48: 205-214, 1991.

DREYER, E. Compared sensitivity of seedlings from 3 woody species (*Quercus rubor* L., *Quercus rubra* L. and *Fagus silvatica* L.) to water-logging and associated root hypoxia: effects on water relations and photosynthesis. *Annales des Sciences Forestières* 51: 417-429, 1994.

DUBEY, R.S., RANI, M. Influence of NaCl salinity on the behavior of protease. Aminopeptidase and carboxypeptidase in rice seedlings in relation to salt tolerance. *Aust. Plant Physiology*, 17: 215-221, 1990.

DUBOC, E. Desenvolvimento inicial e nutrição de espécies arbóreas nativas sob fertilização, em plantios de recuperação de áreas de Cerrado degradado. 2005. 151 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

DUBOIS, V., MORITZ, T., GARCIA-MARTINEZ, J. Comparison the role of gibberellins and ethylene in response to submergence of two lowland rice cultivars. *Senia & Bomba, Journal Plant Physiology*, 10.1016, 2010.

EL-TAYEB, M.A., AHMED, M.K. “Apoplastic Protein Pattern, Hydrolases and Peroxidase Activity of *Vicia faba* Cultivars as Influenced by Drought.” *International Journal of Agriculture & Biology*, 1560–8530, 2:226–230, 2007.

ESAU, K.. *Anatomia das plantas com sementes*. Edgard Blusher, São Paulo. 2000.

FAN, T.W.M., HIGASHI, R.M., FRENKIEL, T.A., LANE, A.N. Anaerobic nitrate and ammonium in flood-tolerant rice coleoptiles. *Journal Experimental Botany*, 48:1655-1666, 1997.

FAN, T.W.M., HIGASHI, R.M., LANE, A.N. The Investigation on the Effects of Nitrate on Hypoxic Metabolism in Maize Roots. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 266: 1655-1666, 1988.

FERNER, E. Effects of flooding on the carbon metabolism of beech (*Fagus sylvatica*, L.) and oak (*Quercus robur*, L.). Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Ambientais e Florestais, Universidade Albert-Ludwigs, Freiburg im Breisgau, Germany, 2009.

FERRARIO, S., VALADIER, M.H., MOROT-GAUDRY, J.F., FOYER, C.H. Effects of constitutive expression of nitrate reductase in transgenic *Nicotiana plumbaginifolia* L. in response to varying nitrogen supply. *Planta*, 196: 288–294, 1995.

FIGUEIRÔA, J.M., BARBOSA, D.C.A., SIMABUKURO, E.A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. *Acta Botanica Brasilica*, 18 (3): 573-580, 2004.

FISCHLIN, A., MIDGLEY, G.F., PRICE, J.T., LEEMANS, R., GOPAL, B., TURLEY, C. Ecosystems, their properties, goods and services. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, PARRY, M.L., CANZIANI, O.F., PALUTIKOF, J.P., VAN DER LINDEN, P.J., HANSON, C.E., Cambridge University Press, Cambridge; 211-72, 2007.

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*, 74:445-455, 1994.

FOYER, C.H., VALADIER, M.H., MIGGE, A., BECKER, T.W. Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. *Plant physiology*, 117 (1): 283-292, 1998.

FRANCO, A.C. Relações hídricas em plantas do cerrado: As plantas lenhosas do cerrado transpiram livremente? In: Prado, CHBA; Casali, CA. *Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral*. Barueri, editora Manole, 2006.

FREITAS, J.M.N., CARVALHO, K.S., LOBATO, A.K.S., CASTRO, D.S., MAIA, P.S.P., NETO, C.F.O., COSTA, R.C.L. Atividade da Redutase do Nitrato, Conteúdo relativo de Água e teores de Clorofilas Solúveis totais em Folhas de Açazeiro (*Euterpe edulis* Mart.) Submetidas ao Déficit Hídrico e ao Alagamento. Nota

científica, Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, s. 2, p. 924-926, 2007.

FURTINI-NETO, A.E., RESENDE, A.V., VALE, F.R., SILVA, I.R. Liming effects on growth of native woody species from brazilian savannah. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, n.5, 829-837, 1999.

GALANGAU, F., DANIEL-VEDELE, F., MOUREAUX, T., DORBE, M.F., LEYDECKER, M.T., CABOCHE, M. Expression of leaf nitrate reductase genes from tomato and tobacco in relation to light-dark regimes and nitrate supply. Plant Physiology, 88, 383-388, 1988.

GARG, B.K., KATHJU, S., BURMAN, U. Influence of water stress on water relations, photosynthetic parameters and nitrogen metabolism of moth bean genotypes. Biology Plant, 44, 289-292, 2001.

GEMTCHÛJNICOV, I. D. Manual de taxonomia vegetal: plantas de interesse econômico, agrícola, ornamentais e medicinais. São Paulo: Ceres, 368p, 1976.

GIBBS, J., GREENWAY, H. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. Functional Plant Biology, 30:353-353, 2003.

GOMES, A.A., ARAÚJO, A.P., ROSSIELLO, R.O.P. PIMENTEL, C. Acumulação de Biomassa, Características Fisiológicas e Rendimento de Grãos em Cultivares de Feijoeiro Irrigado e sob Sequeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.35, n.10, p.1927-1937, 2000.

GREGÓRIO, T.A., GOBBO, L.G., CARDOSO, J.F., DEMUNER, V.G., HEBLING, S.A. Efeito do alagamento sobre o crescimento inicial de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (Ipê-rosa). Natureza on line, 6 (2): 91-98, 2008.

GRICHKO, V.P., GLICK, B.R. Ethylene and flooding stress in plants. Plant Physiology and Biochemistry 39: 1-9, 2001.

GUAN, L.M., ZHAO, J., SCANDALIOS, J.G. Cis-elements and trans-factors that regulate expression of the maize Cat1 antioxidant gene in response to ABA and osmotic stress: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is the likely intermediary signaling molecule for the response. The Plant Journal 22, 87-95, 2000.

GUY, R.D., WAMPLE, R.L. Stable carbon isotope ratios of flooded and unflooded sunflowers (*Helianthus annuus*). Canadian Journal Botany, 62:1770-1774, 1984.

HAGEMAN, R.H., REED, A.J. Nitrate reductase from higher plants. San Diego: Academic Press, 1980. p.270-280.

HALFORD, N.G., PURCELL, P.C., HARDIE, D.G. Is hexokinase really a sugar sensor in plants? *Trend in Plant Science*, v. 4, 117-120, 1999.

HARE, P.D., CRESS, W.A., STADEN, J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell and Environment*, 21, 535-553, 1999.

HELDT, H.W. *Plant Biochemistry*. 3 Ed. Elsevier, p-275-306, 2005.

HORCHANI, F., O'R'BIA., ASCHI-SMITI, S. Oxygen sensing and plant acclimation to soil flooding. *International Journal of Agricultural Research*, 6(3):227-237, 2011.

HSIAO, T.C. Plant response to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 519-570, 1973.

HSIAO, T.C., O'TOOLE, J.C., YAMBAD, E.B., TURNER, N.C. Influence of osmotic adjustment on leaf tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology*, 75:338-341, 1984.

HUANG, B. JOHNSON, J.W., NESMITH, S., BRIDGE, D.C. Root and shoot growth of wheat genotypes in response to hypoxia and subsequent resumption of aeration. *Crop Science*, 34:1538-1544, 1994.

JACKSON, M.B. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. *Annual Review of Plant Physiology* 36: 145–174, 1985.

JACKSON, M.B., DREW, M.C. Effect of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: Kozlowski TT (Ed) *Flooding and plant growth*. London: Academic Press, pp 47-128, 1984.

JANG, J.C., LEON, P., ZHOU, L., SHEEN, J. Hexokinase as a sugar sensor in higher plants. *Plant Cell*, 9: 5-19, 1997.

JIANG, Y., HUANG, B. Protein Alterations in Tall Fescue in Response to Drought Stress and Abscisic Acid. *Crop Science*, v. 42, p-202-207, 2002.

KAISER, W.M., BRENDLE-BEHNISCH, E. Acid-base modulation of nitrate reductase in leaf tissues. *Planta*, 196, 1–6, 1995.

KAISER, W.M., HUBER, S.C. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. *Journal of Experimental Botany*, v. 52, n. 363, *Plants under Stress Special Issue*, p. 1981-1989, 2001.

KAISER, W.M., HUBER, S.C. Posttranslational Regulation of Nitrate Reductase in Higher Plants. *Plant Physiology*, 106: 817-821, 1994.

KELLEY, P.M., FREELING, M. Anaerobic expression of maize fructose-1,6-diphosphate aldolase. *Journal Biology Chemistry*, 259: 14180–14183, 1984.

KENNEDY, R.A., RUMPHO, M.E., FOX, T.C. Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiology*, 100:1-6, 1992.

KLAFKE, J.Z. Efeitos da *Campomanesia xanthocarpa* em Parâmetros Bioquímicos, Hematológicos e de Estresse Oxidativo em Pacientes Hipercolesterolêmicos. Dissertação de Mestrado da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Santa Maria, RS, Brasil, 2009.

KLEPPER, L., FLESHER, D. E., HAGEMAN, E. H. Generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide for nitrate reduction in green leaves. *Plant Physiology*, Rockville, v.48, p.580-90, 1971.

KNAPP, A.K., BRIGGS, J.M., KOELLIKER, J.K. Frequency and extent of water limitation to primary production in a mesic temperate grassland. *Ecosystems*; 4:19-28, 2001.

KOCH, K.E. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review Plant Physiology, Plant Molecular Biology*, 47: 509-540, 1996.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of wood plants to flooding and salinity. <http://www.heronpublishing.com/tp/monograf/koslowiski.pdf>, 1997.

KOZLOWSKI, T.T., KRAMER, P.J. PALTARDY, S.G. The physiological ecology of woody plants. San Diego, Academic Press, 1991.

KRAMER, P.J. Water relations of plants. New York: Academic Press, cap.6, p.146-186: Development of root system, 1983.

KRAMER, P.J., BOYER, J.S. Water Relation of Plants and Soils. Academic Press, London, 1995.

KREUZWIESER, J., SCHEERER. U., RENNENBERG. H. Metabolic origin of acetaldehyde emitted by poplar (*Populus tremula* x *P. alba*) trees. *Journal of Experimental Botany* 50: 757-765, 1999.

LANDRUM, L. R. *Campomanesia*. In: Flora Neotrópica. New York: The New York Botanical Garden, v. 45, p. 7-72, 1986.

LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. Rima Artes e Textos, São Carlos, 2000.

LARCHER, W. *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. 4 Ed. Springer, p-345-351, 2003.

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

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

LEGRAND, C. D., KLEIN, R. M. Mirtáceas: *Campomanesia*, In: REIZ, P.R. Flora ilustrada catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 573-623, 1977.

LENHARD, N.R., SCALON, S.P., NOVELINO, J.O. Crescimento Inicial de Mudanças de Pau Ferro (*Caesalpinia Ferrea* Mart. Ex Tul. Var. *Leiostachya* Benth.) sob Diferentes Regimes Hídricos. *Ciência Agrotecnologia de Lavras*, v. 34, n. 4, p. 870-877, 2010.

LEUNG, J., GIRAUDAT, J. Abscisic acid signal transduction. *Annual Review Plant Physiology, Plant Molecular Biology*, 49, 199-222, 1998.

LIAO, C.T., LIN, C.H. Effect of flooding stress on photosynthetic activities of *Momordica charantia*. *Plant Physiology Biochemistry*, 32:1-5, 1994.

LIAO, C.T., LIN, C.H. Photosynthetic responses of grafted bitter melon seedlings to flooding stress. *Environmental Experimental Botany*, 36:167-172, 1996.

LICHTENTHALER, H. K. The stress concept in plants: an introduction. In: *Stress of Life: from Molecules to Man*. Ed. P. Csermely. *Annals of New York Academy Sciences*, 851, p. 187-198, 1998.

LICHTENTHALER, H. K. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14, 1996.

LICHTENTHALER, H.K., BURKART, S. Photosynthesis and High Light Stress. *Bulg. Journal Plant Physiology*, 25(3-4), 3-16, 1999.

LOBO, P.C., JOLY, C.A. Aspectos ecofisiológicos da vegetação de mata ciliar do sudeste do Brasil. In: Rodrigues RR & Leitão-Filho HF (Eds) *Matas Ciliares: Conservação e Recuperação*. São Paulo: Edusp/ Fapesp, p 143-155, 2000.

LOPES, M.J.C., SOUZA, I.R.P., MAGALHÃES, P.C., GAMA, E.E.G., ALVES, J.D., MAGALHÃES, M.M. Oxidação Protéica e Peroxidação Lipídica em Plantas de Diferentes Ciclos de Seleção do Milho 'Saracura', sob Encharcamento Contínuo. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.4, n.3, p.362-373, 2005.

MACHADO, S., PAULSEN, G.M. Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. *Plant Soil* 233, 179-187, 2001.

MANSFIELD, T. A. & MCAINSH, M. R. 1995. Hormones as regulators of

MANSOUR, M.M.F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biologia Plantarum*, v.43, p.491-500, 2000.

MARUR, C.J., MAZZAFERA, P., MAGALHÃES, A.C. Atividade da Enzima Redutase do Nitrato em Algodoeiro Submetido ao estresse Hídrico e Posterior Recuperação da Turgescência. *Scientia Agricola*, v.57, n.2, p. 277-281, 2000.

MAURENZA, D., MARENCO, R.A., PIEDADE, M.T.F. Efeito da inundação de longa duração sob o crescimento de *Pouteria glomerata* (Sapotaceae), uma arbórea da várzea da Amazônia Central. *Acta Amazonica* v.39 n.3, Manaus, 2009.

MAYNE, M.B., SUBRAMANIAN, M., BLAKE, T.J., COLEMAN, J.R., BLUMWALD, E. Changes in protein synthesis during drought conditioning in roots of jack pine seedlings (*Pinus banksiana* Lamb.). *Tree physiology*, 14(5): 509-19, 1994.

McDONALD, G.K., PAULSEN, G.M. High temperature effects on photosynthesis and water relations of grain legumes. *Plant Soil*, 196, 47–58, 1997.

MEDRI, M.E., FERREIRA, A.C., KOLB, R.M., BIANCHINI, E., PIMENTA, J.A., DAVANSO-FABRO, V.M., MEDRI, C. Alterações morfoanatômicas em plantas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. submetidas ao alagamento *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 29, n. 1, p. 15-22, 2007.

MEGURO, N. E., MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares de café. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.17, p.1725-1731, 1982.

MELO, H.C., CASTRO, E.M., SOARES, A.M., MELO, L.A., ALVES, J.D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de estresse hídrico. *Hoehnea* 34(2): 145-153, 2007.

MENEGUS, F., CATTARUZZA, L., CHERSI, A., FRONZA, G. Differences in the anaerobic lactate-succinate production and in the changes of cell sap pH for plants with high and low resistance to anoxia. *Plant Physiology*, 90:29-32, 1989.

MIELKE, M.S., MATOS, E.M., COUTO, V.B., ALMEIDA, A.A.F., GOMES, F.P., ANTONIO, P., MANGABEIRA, O. "Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding." *Tree Physiology*, 19(4): 905-911, 2005.

MORARD, P., SILVESTRE, J. Plant injury due to oxygen deficiency in the root environment of soilless culture: a review. *Plant and Soil*, 184:243-254, 1996.

MORENO, L.P. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión *Plant responses to water deficit stress. A review. Agronomía Colombiana*, 27(2), 179-191, 2009.

MORS, W.B., RIZZINI, C.T., PEREIRA, N.A. Medicinal Plants of Brazil. 1ª Ed, Michigan, USA: Reference Publications, 501p, 2000.

NETO, E.B., BARRETO, L.P. Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas. Recife, UFRPE, Editora Universitária da UFRPE, 261p, 2011.

NOGUEIRA, R.M.C., MORAES, J.A.P.V., HÉLIO ALMEIDA BURITY, H.A., BEZERRA-NETO, E. Alterações na Resistência à Difusão de Vapor das Folhas e Relações Hídricas em Aceroleiras Submetidas a estresse de Água. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 13:(1), 75-87, 2001.

NOVER, L. Anaerobic stress. In L Nover, D Neumann, K-D ged soils. Advance Agronomy, 24: 29-95, 1989.

OLIVEIRA, L.J., MARIANO-da-SILVA, S., NETTO, A.P.C., SILVA, S.M., MARIANO-da-SILVA, F.M.S. Características agronômicas e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Campomanesia sp.* sob estresse hídrico. Revista Agrarian, Dourados, v.4, n.11, p.43-53, 2011.

OVERMYER, K., TUOMINEN, H., KETTUNEN, R., BETZ, C., LANGEBARTELS, C., SANDERMANN, J.R.H., KANGASJARVI, J. Ozone-sensitive Arabidopsis rcd1 mutant reveals opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulating superoxide-dependent cell death. The Plant Cell, (12):1849–1862, 2000.

PAREECK, A., SOPORY, S.K., BOHNERT, H.J., GOVINDJEE. Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomical Foundation. Springer, p.1-11, 2010.

PELLESCHI S., ROCHER J. P., PRIOUL J.L. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. Plant Cell and Environment, (20), 493-503, 1997.

PERATA, P., POZUETA-ROMERO, J., AKAZAWA, T., YAMAGUCHI, J. Effect of anoxia on starch breakdown in rice and wheat seeds. Planta 188: 611-618, 1992.

PEREIRA, M.R., SOUZA, G.S.F., RODRIGUES, A.C.P., FILHO, A.L.M., KLAR, A.E. Análise de crescimento em clones de eucalipto submetidos a estresse hídrico. Irriga, Botucatu, v.5, n.1, 98-110, 2010.

PERIOTTO, F. Aspectos da Germinação de Sementes, da Emergência de Plântulas e da Morfologia dos Frutos e Sementes de *Campomanesia Pubescens* (Dc.) O. Berg (Myrtaceae). Tese (Doutorado), Universidade Federal de São Carlos, 87 f, 2008.

PESCHKE, V.M., SACHS, M.M. Multiple pyruvate decarboxylase genes in maize are induced by hypoxia. *Molecular Gene Genetic*, 240:206-212, 1993.

PEZESHKI, S.R., PARDUE, J.H., DELAUNE, R.D. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. *Tree Physiology*, 16: 453-458, 1996.

PEZESKI, S.R. Responses of baldcypress (*Taxodium distichum*) seedlings to hypoxia: leaf protein content, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity and photosynthesis. *Photosynthetica*, (30): 59-68, 1994.

PHUNG, H.T. KNIPLING, E.B. Photosynthesis and transpiration of Citrus seedlings under flooded conditions. *Horticultural Science*, (11):131-133, 1976.

PIMENTA, J.A., BIANCHINI, E., MEDRI, M.E. Adaptations to flooding by tropical trees: morphological and anatomical modifications. In: Sacarano, F.R. & A.C. Franco (eds.). *Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the neotropics*. Series *Oecologia Brasiliensis*, v. IV. PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro-RJ, 157-176, 1998.

PIMENTEL, C. *Metabolismo de Carbono na Agricultura Tropical*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, p.106-108, 1998.

PINHEIRO, C., CHAVES, M.M, RICARDO, C.P. Alterations in carbon and nitrogen metabolism induced by water stress in the stems and leaves of *Lupinus albus* L. *Journal of Experimental Botany*, 52 (358): 1063-1070, 2001.

PIRES, J.L.F., SOPRANO, E., BIBIANA, C. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37 (1):41-50, 2002.

PIVA, M.G. *O caminho das plantas medicinais - Estudo etnobotânico*. 1ªEd., Rio de Janeiro: Mondrian, 313-p, 2002.

POGGIANI, F. Aspectos do crescimento e do metabolismo auxínico de espécies do cerrado. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.

POGGIANI, F. Estudo do crescimento e da atividade AIA-oxidásica em algumas espécies do cerrado. In: FERRI, M.G. (ed.), *III Simpósio sobre o cerrado*, Ed. Edgar Blucher e EDUSP, São Paulo, 201-211, 1971.

POTTERS, G., T.P., PASTERNAK, Y., GUISEZ, K.J., PALME, Y.M.A.K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends Plant Science*, 12(3), 99-105, Jansen, 2007.

PRAXEDES, S.C. Efeito do estresse hídrico no metabolismo fotossintético de clones de *Coffea canephora* cv . Conilon com tolerância diferencial à seca. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 2003.

PROVAN, F., LILLO, C. Photosynthetic post-translational activation of nitrate reductase. *Journal of Plant Physiology*, 154, 605-609, 1999.

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

RADHA, R.U., REDDY, A.R. Salt stress responsive polypeptides in germinating seeds and young seedling of indica rice. *Plant Physiology*, 143: 250-253, 1994.

REGEHR, D.L., BAZZAZ, F.A., BOGGESS, W.R. Photosynthesis, transpiration and leaf conductance of *Populus deltoides* in relation to flooding and drought. *Photosynthetica*, 9:52-61, 1975.

REGGIANI, R. Amino acid metabolism under oxygen deficiency. *Phytochemistry*, 2:171-174, 1999.

REGGIANI, R., CANTÚ, C.A., BRAMBILLA, I., BERTANI, A. Accumulation and interconversion of amino acids in rice roots under anoxia. *Plant Cell Physiology*, 29:982-987, 1988.

REID, D.M., BRADFORD, K.J. Effects of flooding on hormone relations. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.), *Flooding and plant growth*. New York: Academic Press, 195- 219, 1984.

RICARD, B., COUÉE, I., RAYMOND, P., SAGLIO, P.H., SAINTGES, V., PRADET, A. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiology Biochemistry*, 32:1-10, 1994.

RICCARDI, F.P., GAZEAU, D. V., ZIVY, M. Protein changes in response to progressive water estresse in maize. Quantitative variation and polypeptide identification. *Plant physiology*, 117(4): 1253-63, 1998.

ROBINSON, S.P., PORTIS, A.R. Involvement of stromal ATP in the light activation of ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygenase in intacted isolated chloroplasts. *Plant Physiology*, 86: 293-298, 1988.

ROCHA, A.M.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):41-46, 1997.

RODRIGUES, M.L, CHAVES, M.M, WENDLER, R. Osmotic adjustment in water stressed grapevine leaves in relation to carbon assimilation. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20: 309-321, 1993.

SÁ, J.S., CRUCIANI, D.E., MINAMI, K. Efeitos de inundações temporárias do solo em plantas de ervilha. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.1, p.50- 54, 2004.

SACHS, M.M. Molecular genetic basis of metabolic adaptation to anoxia in maize and its possible utility for improving tolerance of crops to waterlogging. In: *Interacting Stress on Plants in a Changing Climate*. In: JACKSON, M.B., DAVIES, D.D., LAMBERS, H., (Eds.), Berlin: Springer, 375-395, 1993.

SACHS, M.M., FREELING, M., OKIMOTO, R. The anaerobic proteins of maize. *Cell* 20: 761-767, 1980.

SACHS, M.M., SUBBAIAH, C.C., SAAB, I.N. Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *Journal Experimental Botany*, 47:1-15, 1996.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. *Plant Physiology*. 4.ed. Belmont, USA: Wadsworth Publishing Company, 682p, 1991.

SCHEIBLE, W.R., GONZALEZ-FONTES, A., LAUERER, M., MULLER-ROBER, B., CABOCHE, M., STITT, M. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *Plant Cell* 9: 783–798, 1997.

SCHLÜTER, U., ALBRECHT, G., WIEDENROTH, E.M. Content of water soluble carbohydrates under oxygen deprivation in plants with different flooding tolerance. *Folia Geobot. Phytotax.* 31:57-64, 1996.

SETTER, T.L., ELLIS, M., LAURELES, E.V., ELLA, E.S., SENADHIRA, D., MISHRA, S.B., SARKARUNG, S., DATTA, S. Physiology and genetics of submergence tolerance in rice. *Annals of Botany* 79: 67-77, 1997.

SHAO, H.B., L.Y. CHU., C.A., JALEEL, Y., ZHAO, C.X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *C.R. Biol.* 331, 215-225, 2008.

SHARP R.E., SILK W.K., HSIAO, T.C. Growth of the maize primary root at low water potentials. I. Spatial distribution of expansive growth. *Plant Physiology*, 87, 50–57, 1988.

SHARP, R. E. “Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress.” *Plant, cell and Environment*, 25(2): 211-222, 2002.

SHARP, R.E., HSIAO, T.C., SILK, W.K. Growth of the maize primary root at low water potentials. II. The role of growth and deposition of hexose and potassium in osmotic adjustment. *Plant Physiology* 93, 1337-1346, 1990.

SHARP, R.E., POROYKO, V., HEJLEK, L.G., SPOLLEN, W.G., SPRINGER, G.K., BOHNERT, H.J., NGUYEN, H.T. Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *Journal of Experimental Botany*, v.55, n.407, 2004.

SHIMAMURA, S., YAMAMOTO, R., NAKAMURA, T., SHIMADA, S., KOMATSU, S. Stem hypertrophic lenticels and secondary aerenchyma enable oxygen transport to roots of soybean in flooded soil. *Annals of Botany* 106: 277–284, 2010.

SHINOZAKI, K. Y K. YAMAGUCHI-SHINOZAKI. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal Experimental of Botany*, 58(2), 221-227, 2007.

SIAHSAR, B.A., SIMIN, S., ALLAHDOO, M. Polypeptide electrophoretic pattern of *Matricaria chamomilla* and *Anthemis nobilis* under salt and Fe-deficiency stress. *Journal of Biotechnology*, 10 (54): 11182-11185, 2011.

SILVA R.S.S., DEMUNER, A.J., BARBOSA, L.C.A., CASALI, V.W.D., NASCIMENTO, E.A., PINHEIRO, A.L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SILVA, I.R., NETO, A.E.F., CURI, N., VALE, F.R. Crescimento Inicial de Quatorze Espécies Florestais Nativas em Resposta à Adubação Potássica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.32, n.2, p.205-212, 1997.

SILVA, S.R.S, DEMUNER, A.J., BARBOSA, L.C.A., CASALI, V.W.D., NASCIMENTO, E.A., PINHEIRO, A.L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SILVEIRA, J. A. G. et al. Alterações no metabolismo do nitrogênio e acumulação de prolina em plantas jovens de cajueiro submetidas a estresse salino. In: *Anais Congresso Brasileiro de Fruticultura*, Fortaleza – CE, 156p, 2000

SILVEIRA, J.A.G., COSTA, R.C.L., OLIVEIRA, J.T.A. "Drought-Induced Effects and Recovery of Nitrate Assimilation and Nodule Activity in Cowpea Plants Inoculated With *Bradyrhizobium spp.* Under Moderate Nitrate Level. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32 (3): 187-194, 2001.

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.

SMIRNOFF, N., CRAWFORD, R.M.M. Variation in the structure and response to flooding of root aerenchyma in some wetland plants. *Annals of Botany*, 51: 237-249, 1983.

SMIRNOFF, N., STEWART, G.R. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Plant Physiology*, 64:133-140, 1985.

SOFO, A., DICHIO, B., XILOYANNIS, C., MASIA, A. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia plantarum*, 121 (1): 58-65, 2004.

SOUSA, A.C.F., SODEK, L. The metabolic response of plants to oxygen deficiency. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14(2):83-94, 2002.

SPOLEN W.G., SHARP R.E., SAAB I.N. & WU Y. Regulation of cell expansion in roots and shoots at low water potentials. In *Water Deficits. Plant Responses from Cell to Community* (eds Smith, J.A.C. & Griffiths, H.), p. 37–52. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK, 1993.

SPRINGER, B., WERR, W., STARLINGER, P., BENNETT, C.D., ZOKOLICA, M., FREELING, M. The shrunken gene on chromosome 9 of *Zea mays* L. is expressed in various plant tissues and encodes an anaerobic protein. *Molecular Gene Genetic*, 205:461–468, 1986.

STREETER, J.G., THOMPSON, J.F. In vivo and in vitro studies on  $\gamma$ -aminobutyric acid metabolism with the radish plant (*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiology*, 49:579-584, 1972.

SUBBIAH, C.C., SACHS, M.M. Altered paths of sucrose synthase phosphorylation and localization precede callose induction and root tip death in anoxic maize seedlings. *Plant Physiology*, 125: 585-594, 2001.

TAIZ, L., ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 4 Ed. Porto Alegre-RS, p738-748, 766-770, 2009.

TANG, Z.C., KOZLOWSKI, T.T. Some physiological and growth responses of *Betula papyrifera* seedling to flooding. *Physiology Plantarum*, 55: 415-420, 1982.

TEZARA, W., MITCHELL, V., DRISCOLL, S.P., LAWLOR, D.W. Effects of water deficit and its interaction with CO<sub>2</sub> supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. *Journal Experimental of Botany*, v.53 (375): 1781-1791, 2002.

TOPA, M.A., CHEESEMAN, J.M. Effects of root hypoxia and a low P supply on relative growth, carbon dioxide exchange rates and carbon partitioning in *Pinus serotina* seedlings. *Plant Physiology*, 86:136-144, 1992.

TURNER, N.C. Adaptation to water deficits: A changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13:175-190, 1986.

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.

VALILLO, M.I., GARBELOTTI, M.L., OLIVEIRA, E., LAMARDO, L.C.A. Características Físicas e Químicas dos Frutos do Cambucizeiro (*Campomanesia Phaea*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, v.27, n. 2, p. 241-244, 2005.

VAN DER WEELE, C.M., SPOLLEN, W.G., SHARP, R.E., BASKIN T.I. Growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings under water estress studied by control of water potential in nutrient agar media. *Journal of Experimental Botany*, 51, 1555–1562, 2000.

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

VANLERBERGHE, G.C., FEIL, R., TURPIN, D.H. Anaerobic metabolism in the N-limited green alga *Selenastrum minutum*. I. Regulation of carbon metabolism and succinate as a fermentation product. *Plant Physiology*. 94:1116- 1123, 1990.

VANLERBERGHE, G.C., TURPIN, D.H. Anaerobic metabolism in the N-limited green alga *Selenastrum minutum*. II. Assimilation of ammonium by anaerobic cells. *Plant Physiology*. 94:1124-1130, 1990.

VARTAPETIAN, B.B., ANDREEVA, I.N., NURITDINOV, N. Plant cells under oxygen stress. In: HOOK, D.D., CRAWFORD, R.M.M., (eds.), *Plant life in anaerobic environments*, Annals Arbor Science, 13-88, 1978.

VARTAPETIAN, B.B.; JACKSON, M.B. Plant adaptation to anaerobic stress. *Annals of Botany*, London, v.79 (Supplement A):p.3-20, 1997.

VENEKAMP, J. H. Regulation of cytosol aciditify in plants under conditions of drought. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 76, p. 112- 117, 1989.

VIEIRA, R.F., MARTINS, M.V.M. Recursos genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilação de dados. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, Botucatu, v.3, n.1, p.13-26, 2000.

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

VOESENEK, L.A.C.J., RIJNDERS, J.H.G.M., PEETERS, A.J.M., VAN DE STEEG, H.M.V., DE KROON, H. Plant hormones regulate fast shoot elongation under water: from genes to communities. *Ecology* 85: 16-27, 2004.

VU, C.V., YELENOSKY, G. Photosynthetic responses of citrus trees to soil flooding. *Plant Physiology.*, 81:7-14, 1991.

WAMPLE, R.L., DAVIS, R.W. Effect of flooding on starch accumulation in chloroplasts of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Physiology*, 73:195-198, 1983.

WAMPLE, R.L., REID, D.M. The role of endogenous auxins and ethylene in formation of adventitious roots and hypocotyl hypertrophy in flooded sunflower plants (*Helianthus annuus*). *Physiologia Plantarum*, 45:219-226, 1979.

water balance. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 598-616.

WATERS, I., KUIPER, P.J.C., WATKIN, E., GREENWAY, H. Effects of anoxia on wheat seedlings. In: *Interaction between anoxia and other environmental factors*. *Journal Experimental of Botany*, 42:1427-1435, 1991.

WATERS, I., MORRELL, S., GREENWAY, H., COLMER, T.D. Effects of anoxia on wheat seedlings. In: *Influence of O<sub>2</sub> supply prior to anoxia on tolerance to anoxia, alcoholic fermentation, and sugar levels*. *Journal Experimental of Botany*, 42: 832-841, 1991.

WESTGATE, M.E., BOYER, J.S. Osmotic adjustment and the inhibition of leaf, root, stem and silk growth at low water potentials in maize. *Planta*, 164, 540–549, 1985.

WU, Y., SHARP, R.E., DURACHKO, D.M., COSGROVE, D.J. Growth maintenance of the maize primary root at low water potentials involves increases in

cell wall extension properties, expansin activity and wall susceptibility to expansins. *Plant Physiology*, 111, 765–772, 1996.

XU, Z., GUANGSHENG, Z., SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. *Plant signaling & behavior*, 5 (6): 649-54, 2010.

XU, Z.Z., ZHOU, G.S. Effects of water stress and high nocturnal temperature on photosynthesis and nitrogen level of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Plant and Soil*, 269 (1-2): 131-139, 2005.

YAMAMOTO, F. & KOSLOWSKI, T.T. Effect of flooding of soil on growth, stem anatomy, and ethylene production of *Thuja orientalis* seedlings. *IAWA Bulletin*, 8:21-29, 1987.

YAMAMOTO, F., SAKATA, T., TEREZAWA, K.. Growth, morphology, stem anatomy, and ethylene production in flooded *Alnus japonica* seedlings. *IAWA Journal*, 16:47-59. 1995.

YEMM, E.W., COCKING, E.C. The determination of amino acid with ninhydrin. *Analyst*, 80(2):209-213, 1955.

YEMM, E.W., WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal*, London, v.57, p.508-514, 1954.

YORDANOV, I., VELIKOVA, V., TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimatation, and stress tolerance. *Photosynthetica*, v.38, p.171-186, 2000.

ZHANG, S.Q., OUTLAW, Y.W.H.. Abscisic acid introduced into the transpiration stream accumulates in the guard cell apoplast and causes stomatal closure. *Plant Cell Environment*, 24, 1045- 1054, 2001.

ZHU, J.K, SCUMAKER, K.S., XIONG, L.. Cell signalling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* 14, 165-183, 2002.

ZRENNER, R., STITT, M. Comparison of the effect of rapidly and gradually developing water-stress on carbohydrate metabolism in spinach leaves. *Plant, Cell and Environment*, 14, 939–946, 1991.



## 7. ANEXO I

### 7.1 Fotos das Gabirobeiras submetidas aos tratamentos estresse hídrico, controle e hipoxia.



Foto 1: Gabirobeira submetida ao tratamento controle no período inicial (0 dia).



Foto 2: Gabirobeira submetida ao tratamento controle no período inicial (0 dia).



Foto 3: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 6 dias.



Foto 4: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 6 dias.



Foto 5: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 6 dias.



Foto 6: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 9 dias.



Foto 7: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 9 dias.



Foto 8: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 9 dias.



Foto 9: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 12 dias.



Foto 10: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 12 dias.



Foto 11: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 12 dias.



Foto 12: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 15 dias.



Foto 13: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 15 dias.



Foto 14: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 15 dias.



Foto 15: Gabirobeira submetida ao estresse hídrico durante 18 dias.



Foto 16: Gabirobeira submetida ao tratamento controle durante 18 dias.



Foto 17: Gabirobeira submetida à hipoxia durante 18 dias.

## 7.2 Retas Padrão

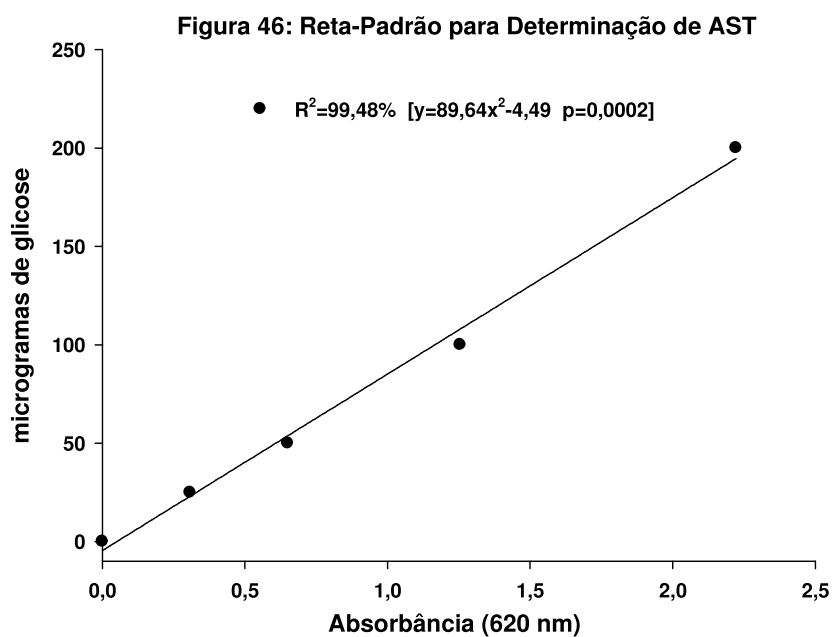


Figura 46: Retas-padrão utilizada na determinação de açúcares solúveis totais (AST) nas amostras de folhas e raízes de gabriobeiras.

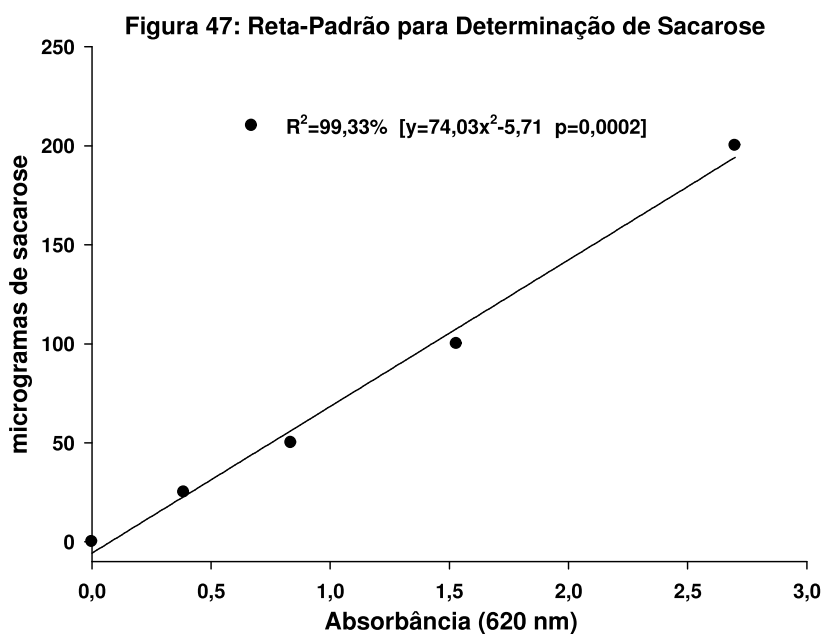


Figura 47: Retas-padrão utilizada na determinação de açúcares sacarose nas amostras de folhas e raízes de gabriobeiras.

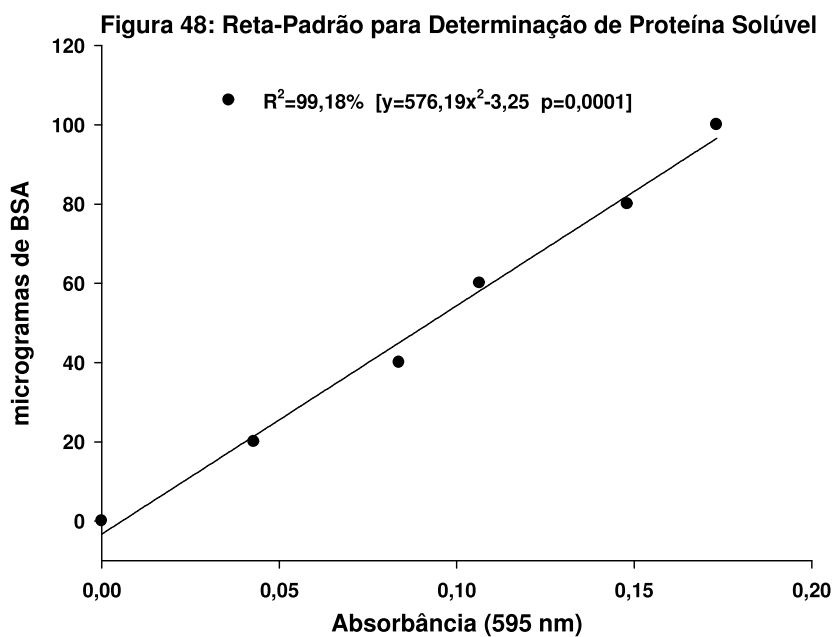


Figura 48: Reta-padrão utilizada na determinação de proteína solúvel nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras.

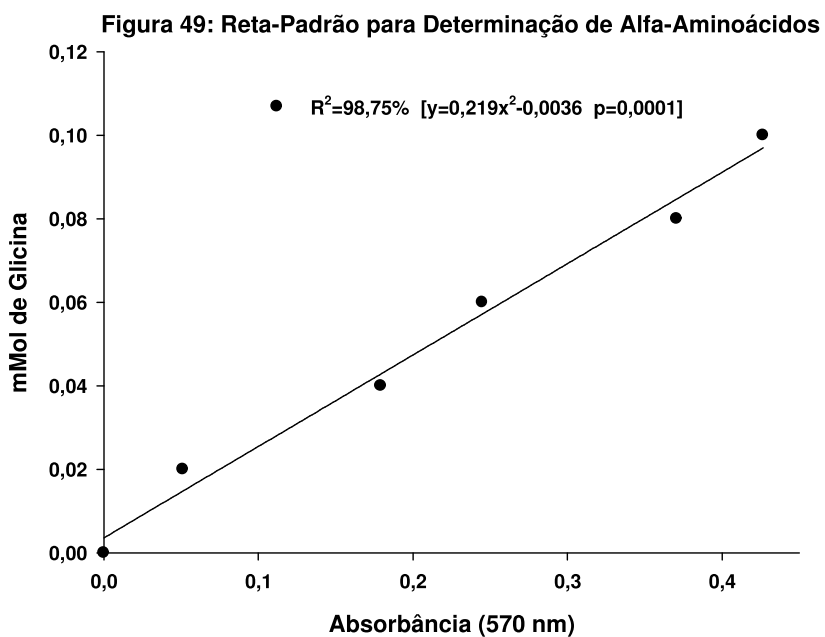


Figura 49: Reta-padrão utilizada na determinação de alfa-aminoácidos nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras.

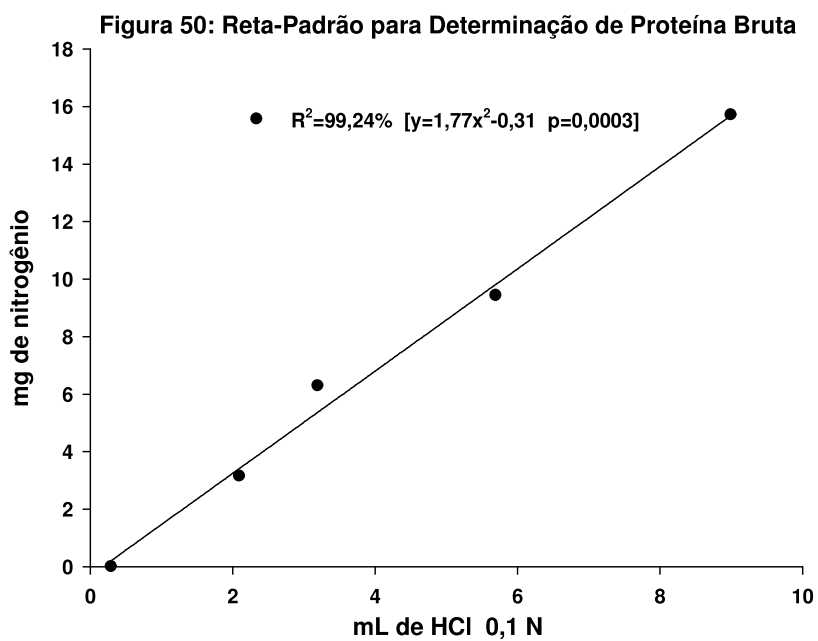


Figura 50: Reta-padrão utilizada na determinação de proteína bruta nas amostras de folhas e raízes de gabirobeiras.