



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



WALDEMAR VIANA DE ANDRADE JÚNIOR

**“Fava-atanã” (*Parkia gigantocarpa*) SOB ALAGAMENTO: RESPOSTAS
ECOFISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS, MORFOANATÔMICAS E DE
CRESCIMENTO**

**BELÉM
2013**



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



WALDEMAR VIANA DE ANDRADE JÚNIOR

**“Fava-atanã” (*Parkia gigantocarpa*) SOB ALAGAMENTO: RESPOSTAS
ECOFISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS, MORFOANATÔMICAS E DE
CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada á Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de **mestre**.

Orientador: Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho.

Co-Orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto.

BELÉM
2013

Andrade Junior, Waldemar Viana de

Fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*) sob alagamento: respostas ecofisiológicas, bioquímicas, morfoanatômicas e de crescimento / Waldemar Viana de Andrade Junior. – Belém, PA, 2013.

115 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Botânica Tropical) – Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, 2013.

1. Fava-atanã - Alagamento. 2. Lenticelas hipertróficas. 3. Potencial hídrico 4. Álcool desidrogenase. Belém. I. Título .

CDD – 583.74



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



WALDEMAR VIANA DE ANRADE JÚNIOR

**“Fava-atanã” (*Parkia gigantocarpa*) SOB ALAGAMENTO: RESPOSTAS
ECOFISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS, MORFOANATÔMICAS E DE
CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada á Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de **mestre**.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho – Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Gustavo Antônio Ruffeil Alves - 1º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa - 2º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição- 3º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

DEDICATÓRIA

Aos meus ídolos, meus pais, Waldemar Viana de Andrade e Celecina Viana de Andrade.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) e ao Museu Paraense Emílio Goeldi pela oportunidade de realização do estudo;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida e apoio a pesquisa;

A Deus por tudo o que tem me proporcionado;

Agradeço especialmente aos meus pais, Waldemar Viana de Andrade (In memoria) e Celecina Viana de Andrade, por terem me proporcionado o caminho do saber;

A minha esposa Ana Cleide da Costa Silva Andrade, pela paciência, dedicação, compreensão, companheirismo, confiança, oração, incentivo e apoio irrestrito em todos os momentos;

As minhas filhas, Cleidiane da Silva Andrade e Waldeane da Silva Andrade meus eternos amores, pela compreensão nos momentos de ausência;

Aos meus queridos irmãos;

Ao meu sobrinho e amigo Waldemar Henrique pela assistência nas correções gramaticais;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Benedito Gomes, pelo acolhimento, críticas, orientações e valiosas sugestões desde a elaboração do projeto;

Ao meu Co-Orientador, Prof. Dr. Cândido Neto, pelas sugestões, orientações e ajuda nas análises bioquímicas;

Aos Doutores, Moacyr Dias Filho, Hugo Pinheiro, Lázaro Cunha e Roberto Cezar pelas críticas e sugestões;

Ao Dr. Eniel Cruz pela doação de sementes, ajuda e orientações durante a germinação;

A Tatiane Kikuchi pelas sugestões e ajuda na análise morfoanatômica;

Ao meu colega Angelo Cleiton pela ajuda e apoio do início ao fim do experimento;

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

Enfim, agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram com críticas e sugestões construtivas para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT	14
1 CONTEXTUALIZAÇÃO	16
REFERÊNCIAS	23
2 RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E DE CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE <i>Parkia gigantocarpa</i> Ducke SOB ALAGAMENTO	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT	31
2.1 INTRODUÇÃO.....	32
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
2.4 SINTOMATOLOGIA DAS PLANTAS	48
2.5 CONCLUSÃO.....	51
AGRADECIMENTOS	51
REFERÊNCIAS	51
3 RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE <i>Parkia gigantocarpa</i> Ducke SOB ALAGAMENTO	59
RESUMO.....	59
ABSTRACT	60
3.1 INTRODUÇÃO.....	61
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
3.4 CONCLUSÃO	101
AGRADECIMENTOS	101
REFERÊNCIAS	101
CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
ANEXO	111
NORMAS ACTA SCIENTIARUM. SCIENCES.....	112

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADH = álcool desidrogenase

RN = redutase do nitrato

ARN = atividade da redutase do nitrato

APP = área de preservação permanente

AST = aminoácidos solúveis totais

ATP = adenosina tri-fosfato

CST = carboidratos solúveis totais

co = córtex

DC = diâmetro do caule

DPV_{fa} = déficit de pressão de vapor entre folha e ar

E = transpiração

Ep = epiderme

Em = endoderme

Fs = floema secundário

Gb = glicina betaína

gs = condutância estomática

GLN = glutamina

GLU = glutamato

GOGAT = sintase do glutamato

GS = glutamina sintetase

H = altura da planta

K_L = condutividade hidráulica

LDH = lactato desidrogenase

MPa = mega Pascal (1 MPa = 0,1 bar)

MSF = massa seca das folhas e folíolos

MSPA = massa seca da parte aérea

MSR = massa seca da raiz

MST = massa seca total

Mx: metaxilema

NAD⁺ = nicotinamida adenina dinocleotídeo oxidado

NADH = nicotinamida adenina dinocleotídeo reduzido

NF = número de folhas

Nfol = número de folíolos

P: periderme

Pr = periciclo

Prol = prolina

PST = proteínas solúveis totais

Px = protoxilema.

R/PA = razão raiz parte aérea

RFA = radiação fotossinteticamente ativa

sv: sistema vascular

T_{ar} = temperatura do ar

T_{fol} = temperatura foliar;

UR = umidade relativa do ar

xs: xilema secundário

Ψ_{am}= potencial antemanhã

Ψ_x= potencial do xilema foliar

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Altura da parte aérea (A), Diâmetro do caule (B), Número de folhas (C) e Número de folíolos (D) de plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (■) e não alagadas (□) durante cinco períodos de avaliação. Valores seguidos por letras maiúsculas (regime hídrico) e letras minúsculas (tempo de alagamento) iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Barras representam o erro padrão da média de cinco repetições.....40

Figura 2 – Massa seca da parte aérea (A) Massa seca da raiz (B), Massa seca total (C) e Razão massa seca raiz/parte aérea (D) de plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (■) e não alagadas (□) durante cinco períodos de avaliação. Valores seguidos por letras maiúsculas (regime hídrico) e letras minúsculas (tempo de alagamento) iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Barras representam o erro padrão da média de cinco repetições.....43

Figura 3 – Caule de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento. Detalhe das lenticelas hipertróficas (A) e raízes adventícias (B).....44

Figura 4 A-F. *Parkia gigantocarpa*, raiz primária, em crescimento secundário, em seção transversal. Submetida ao tratamento controle (A, B e C) e alagado (D, E e F). (A) vista geral, evidenciando a região periférica, cambial e vascular, notar raio de células parenquimáticas (seta). (B) detalhe da região periférica evidenciando a periderme, região cortical exibindo células esclerificadas (estrela), câmbio vascular (asterisco), além de idioblastos com conteúdo avermelhado (seta) a partir do 12º dia de tratamento. (D e E) estruturas birrefringentes em luz polarizada, evidenciando paredes lignificadas das células esclerificadas do córtex (seta), xilema secundário e grãos de amido ao redor dos vasos-seta-(E). (C) região medular evidenciando protoxilemas (setas). (F) detalhe da lenticela. Abreviaturas: co=córtex, fs: floema secundário, P: periderme, xs: xilema secundário. Escalas: A=150µm; B, C, D, 5=50µm; E=20µm; F=100µm.....46

Figura 5 A-F. *Parkia gigantocarpa*, raiz secundária em seção transversal. Submetida ao tratamento controle (A, B, C) e alagado (D, E e F). (A) vista geral. (B) região periférica, córtex e sistema vascular, mostrando a endoderme (ponta de seta). (C) detalhe da região vascular, evidenciando paredes lignificadas dos vasos em desenvolvimento. (E) detalhe do sistema vascular em luz polarizada. (D) início da formação de lacunas na região do córtex, aos 16 dias de alagamento (setas). (F) detalhe da lacuna em formação (estrela). Abreviaturas: Ep: epiderme, co: córtex, Fl: floema; sv: sistema vascular, En: endoderme, Pr: periciclo, Mx: metaxilema, Px: protoxilema. Escalas: A=200µm; B, D=100µm; 9C, E=50µm; F=20 µm.....47

Figura 6 – Epinastia (A, B, setas), senescência e abscisão foliar (C, D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* aos 4 dias (A), 8 dias (B), 12 dias (C) e 16 dias (D) de alagamento.....51

Figura 7 – Raízes de plantas controle e alagadas de *P. gigantocarpa* aos 16 dias de alagamento.....51

Figura 8 – Lenticelas hipertróficas e raízes adventícias em plantas jovens de *P. gigantocarpa* aos 16 dias de alagamento. Detalhe das raízes adventícias (seta).....51

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Umidade relativa (UR; A), temperatura da folha (T_{fol} ; B), temperatura do ar (T_{ar} ; C), déficit de pressão de vapor entre folha e atmosfera (DPV_{fa} ; D) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) durante o período experimental. As barras verticais representam o desvio-padrão das médias.....73

Figura 2 – Potencial hídrico do antemanhã (Ψ_{am} ; A), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x ; B), condutância estomática (gs; C), taxa de transpiração (E ; D) e condutividade hidráulica (K_L ; E) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....75

Figura 3 – Concentração de nitrato (folha; A), (raiz; B) e atividade da redutase do nitrato (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....81

Figura 4 – Concentração de amônia (folha; A), (raiz; B) e glutamina sintetase (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....85

Figura 5 – Concentração de aminoácidos solúveis totais (folha; A), (raiz; B) e proteínas solúveis totais (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....88

Figura 6 – Concentração de prolina (folha; A), (raiz; B) e glicina betaína (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *Parkia gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....91

Figura 7 – Atividades da álcool desidrogenase (folha; A), (raiz; B) e lactato desidrogenase (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....93

Figura 8 – Concentração de amido (folha; A), (raiz; B), concentração de sacarose (folha; C), (raiz; D) e concentração de carboidratos solúveis totais (folha; E), (raiz; F) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.....97

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 – Propriedades químicas e físicas do solo na profundidade de 0-20 cm.....35

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Propriedades químicas e físicas do solo na profundidade de 0-20 cm.....64

Tabela 2 – Coeficiente de correlação de Pearson entre transpiração (E), condutância estomática (gs), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x) e condutividade hidráulica (K_L) em plantas de *P. gigantocarpa*, nos tratamentos, irrigado (controle) e alagado por 16 dias.....80

Tabela 3 – Coeficiente de correlação de Pearson entre transpiração (E), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), condutividade hidráulica (K_L), condutância estomática (gs), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura foliar (T_{fol}), temperatura do ar (T_{ar}) déficit de pressão de vapor entre folha e ar (DPV_{fa}), prolina folha e folha (Prolf), prolina em raiz (Prolr), glicina betaína em folha (Gbf), glicina betaína em raiz (Gbr), número de folhas (NF) em plantas de *P. gigantocarpa*, nos tratamento, irrigado (controle, C), alagado (A) por 16 dias.....80

Tabela 4 – Coeficiente de correlação de Pearson entre aminoácidos solúveis totais em folha (ASTf), aminoácidos solúveis totais em raiz (ASTr), carboidratos solúveis totais em folha (CSTf), carboidratos solúveis totais raiz em (CSTr), prolina em folha (Prolf), prolina em raiz (Prolr), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Glicina betaína em folha (Gbf), Glicina betaína em raiz (Gbr), amônio em folha (Amf), amônio em raiz (Amr), glutamina sintetase em folha (Gsf) e glutamina sintetase em raiz (Gsr) em plantas de *P. gigantocarpa*, nos tratamentos, irrigado (controle, C) e alagado (A) por 16 dias.....100

RESUMO

Parkia gigantocarpa é uma árvore Neotropical que ocorre naturalmente em mata de terra firme e várzea alta. Para caracterizar as respostas morfoanatômicas, de crescimento, fisiológicas e bioquímicas, plantas jovens de *P. gigantocarpa* foram submetidas experimentalmente a dois regimes hídricos. O alagamento foi imposto em aproximadamente 5 cm de lâmina acima da superfície do solo usando vasos com capacidade de 14 Kg de substrato. Plantas não alagadas (controle) foram irrigadas diariamente, próximo a capacidade de campo. A altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e folíolos, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), razão raiz parte aérea (R/PA), lenticelas hipertróficas, raízes adventícias, lacunas de ar, potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), condutância estomática (gs), transpiração (E), condutividade hidráulica (K_L), concentração de nitrato, nitrato redutase (NR), amônio livre, glutamina sintetase (GS), aminoácidos solúveis totais (AST), proteínas solúveis totais (PST), amido, prolina, glicina betaína (GB), álcool desidrogenase (ADH), lactato desidrogenase (LDH), sacarose e carboidratos solúveis totais (CST) foram avaliados a 0, 4, 8, 12 e 16 dias. O alagamento reduziu significativamente a altura da planta a partir do 8º dia, mas o diâmetro do caule não diferiu entre os tratamentos. A maior redução do número de folhas e folíolos, MSPA, MSR e R/PA ocorreu aos 16 dias nas plantas alagadas. A partir do 4º dia foi visualizada às lenticelas hipertróficas na base do caule das plantas alagadas. Entretanto, as raízes adventícias na base do caule só foram observadas aos 16 dias nas plantas sob alagamento. Neste mesmo período, células parenquimáticas do córtex da raiz secundária das amostras do tratamento alagado iniciaram o processo de formação esquizógeno de pequenas lacunas de ar. A redução significativa do Ψ_x e a K_L foi contínua até o 8º dia nas plantas alagadas. gs e E reduziram continuamente até os 16 dias nas plantas sob alagamento. Concentração de nitrato, NR, GS, AST, PST, amido reduziram significativamente, especialmente, nas folhas das plantas alagadas, atingindo os menores valores aos 16 dias. A concentração de amônio livre, prolina e GB aumentaram acentuadamente, tanto nas folhas quanto nas raízes das plantas saturadas de água. A atividade da ADH foi maior, na raiz e de LDH foi mais acentuado nas folhas das plantas sob saturação hídrica. O alagamento reduziu significativamente a concentração de sacarose nas folhas, mas aos 4 dias ocorreu aumento substancial deste carboidrato nas raízes das plantas alagadas. A concentração

de CST aumentou, especialmente, nas raízes das plantas alagadas. Todas as plantas sobreviveram até o final do experimento. As respostas de crescimento, morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas, apresentadas pelas plantas jovens de *P. gigantocarpa*, sob alagamento durante dezesseis dias, sugerem uma tolerância a esse tipo de estresse.

Palavras-chave: Fava atanã, alagamento, lenticelas hipertróficas, potencial hídrico, álcool desidrogenase.

ABSTRACT

Parkia gigantocarpa is a Neotropical tree that occurs naturally in the woods of solid ground and high floodplain. To characterize the morphological and anatomical responses, growth, physiological and biochemical young plants of *P. gigantocarpa* were experimentally subjected to two water regimes. Flooding was imposed on the blade approximately 5 cm above the soil surface using vassel with 14 kg of substrate capacity. Non-flooded plants (control) were irrigated daily, close to field capacity. Plant height, stem diameter, number of leaves and leaflets, shoot dry matter (SDM), root dry mass (RDM), total dry matter (TDM), root shoot ratio (R/PA), lenticels hypertrophic, adventitious roots, air gaps, predawn water potential (Ψ_{am}), leaf water potential of the xylem (Ψ_x), stomatal conductance (g_s), transpiration (E), hydraulic conductivity (K_L), nitrate concentration, nitrate reductase (NR), free ammonia, glutamine synthetase (GS), total soluble amino acids (TSA), total soluble proteins (TSP), starch, proline, glycine betaine (GB), alcohol dehydrogenase (ADH), lactate dehydrogenase (LDH), and sucrose total soluble carbohydrates (TSC) were assessed at 0, 4, 8, 12 and 16 days. Flooding significantly reduced plant height from the 8th day, but stem diameter did not differ between treatments. The largest reduction in the number of leaves and leaflets, SDM, RDM, TDM and R/PA occurred at 16 days in flooded plants. From the 4th day was displayed to hypertrophic lenticels at the stem base of flooded plants. However, the adventitious roots at the stem base were only observed at 16 days in plants under flooding. In this same period, parenchyma cells of the cortex of the root samples of secondary treatment wetland began the process of training schizogenous small air gaps. A significant reduction in Ψ_x and K_L was continued until the 8th day flooded plants. g_s and E decreased continuously until the 16 days the plants under flooding. Nitrate concentration, NR, free ammonia, GS, TSA, TSP, starch significantly reduced, especially in the leaves of flooded plants, reaching the highest values at 16 days. GB proline and sharply increased both in leaves and in the roots of the plants saturated with water. ADH activity was higher in root and LDH was more pronounced in the leaves of plants under water saturation. Flooding significantly reduced the sucrose concentration in the leaves, but after 4 days, there was substantial increase of this sugar in the roots of flooded plants. The concentration of TSC increased, especially in wetland plant roots. All plants survived until the end of the experiment. Growth responses, morphological and anatomical, physiological and biochemical presented by young plants of *P.*

gigantocarpa under flooding during sixteen days, suggesting a tolerance to this type of stress.

Keywords: Fava-atanã, flooding, hypertrophic lenticels, water potential, alcohol dehydrogenase.

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 RESPOSTAS DE ESPÉCIES ARBÓREAS AO ALAGAMENTO

A Amazônia é conhecida internacionalmente por sua disponibilidade hídrica, pela quantidade e variedade de ecossistemas e grande riqueza de biodiversidade. Além disso, contém a maior extensão de floresta tropical da terra. Ocupando aproximadamente, uma área de 6,4 milhões de quilômetros quadrados (LENTINI et al., 2005; PEREIRA et al., 2010). Segundo dados do IBGE (2004) sessenta por cento da bacia amazônica se encontra em território Brasileiro. Cerca de 8% desse bioma é constituído de áreas alagáveis (CAMPOS, 2002; FERREIRA et al., 2005) o que corresponde aproximadamente 300.000 Km², se caracterizando como a maior floresta inundável do mundo (WITTMANN et al., 2010).

Nas últimas décadas, o alagamento se tornou uma séria ameaça para a sobrevivência de plantas em muitas regiões do mundo, sendo considerado um dos principais fatores abióticos limitantes do crescimento, da distribuição de espécies de plantas, da produtividade agrícola (JACKSON; COLMER, 2005) e especialmente de plantios florestais, e o aumento da frequência e da gravidade das inundações pode ser em parte, resultantes das mudanças climáticas globais (FOLZER et al., 2006). Além disso, o aumento do nível de água dos rios, a quantidade elevada de chuvas (PAROLIN et al., 2004), o manejo deficiente da irrigação, a topografia desfavorável, a drenagem deficiente (GLIESSMAN, 2009), a remoção da cobertura vegetal e a construção de barragens e estradas (BLOM; VOESENEK, 1996) são também fatores que contribuem para a ocorrência de alagamento em ecossistemas naturais.

Estudos conduzidos para investigar o comportamento de plantas arbóreas sob condições de alagamento tem evidenciado que as respostas a esse fator abiótico variam de acordo com a espécie, com a intensidade e duração do estresse. Algumas espécies demonstraram ter relativa tolerância ao alagamento, *Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore (ARRUDA, 2004), *Cecropia pachystachya* Trec. (BATISTA et al., 2008), *Hymenaea courbaril* L.(OLIVEIRA NETO, 2010) e *Hura crepitans* L. (MARTINEZ et al., 2011), enquanto outras tiveram seu crescimento ou até mesmo sua sobrevivência comprometida quando alagadas, *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, (COSTA et al., 2006), *Aegiphila sellowiana* Cham. (MEDRI et al., 2012) e *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (ALVES, 2012).

Tem sido relatado que o alagamento pode causar declínio do potencial hídrico foliar. Como observado, por exemplo, em *Jatropha curcas* L. (GIMENO et al., 2012) e

em *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012). Isso ocorre porque em solos alagados a absorção de água pelas raízes diminui, devido à redução na superfície total desses órgãos (TAIZ; ZEIGER, 2013). O potencial de água foliar indica o seu estado energético, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera (BERGONCI et al., 2000). Desta forma, mensurar o potencial hídrico das folhas pode fornecer informações que permitam identificar o estado hídrico em que se encontram as plantas.

O alagamento também pode causar diminuição na condutância estomática foliar de espécies arbóreas (HERRERA et al., 2008). O fechamento dos estômatos está entre os sintomas iniciais da deficiência de água na zona de raiz e pode promover a diminuição da transpiração (ASHRAF; ARFAN, 2005). Isso acontece para evitar a desidratação de células e tecidos da planta, mantendo assim a turgência foliar por um período maior. Batista et al. (2008), propôs que o fechamento estomático em *C. pachystachya* submetidas ao alagamento, pode ser um mecanismo de tolerância à saturação hídrica apresentado por esta espécie para reduzir a demanda de água e absorção de compostos potencialmente tóxico.

Entretanto, tem sido evidenciado que o fechamento estomático em espécies arbóreas, afeta a difusão do CO₂ para o interior das células, refletindo na redução da taxa de fotossíntese (MIELKE et al., 2003), resultando na menor síntese e translocação de fotoassimilados dos locais de produção (fonte) para os locais de intenso consumo (dreno) (LIN et al., 2006). Isso contribui para a redução do crescimento e das atividades metabólicas das raízes dessas plantas, como mecanismo de tolerância ao alagamento, que, por sua vez, passam a demandar por menos carboidratos, o que provocaria acúmulo desses compostos nas folhas, especialmente na forma de amido (HSU et al., 1999).

O acúmulo de aminoácidos solúveis e sacarose (MERCHANT et al., 2010), carboidratos solúveis (ISLAM; MACDONALD, 2004; HENRIQUE et al., 2010; BERTOLDE et al., 2012), prolina e a glicina-betaína (OLIVEIRA NETO, 2010) devem contribuir para o ajustamento osmótico, ou seja, o acúmulo desses compostos, especialmente no citoplasma, reduz o potencial osmótico das células do tecido foliar, e consequentemente o seu potencial hídrico (JALEEL et al., 2007) resultando num gradiente de potencial hídrico entre parte aérea-raiz-solo, possibilitando a absorção e transporte de água do solo até a parte aérea, contribuindo para a manutenção do turgor celular.

Entretanto, poucos estudos com espécies arbóreas submetidas ao alagamento, têm investigado os osmólitos compatíveis como a prolina e a glicina-betaína e muitas das vezes com resultados contrastantes. Oliveira Neto (2010) observou aumento significativo da prolina e glicina-betaína em raízes e folhas das plantas jovens de *H. courbaril* submetidas ao alagamento. Contrariamente, Alves (2010) verificou redução desses compostos em raízes e folhas de plantas jovens de *T. serratifolia* em condições de alagamento. Isso indica que a importância e a contribuição desses solutos variam com a espécie, demonstrando que esses compostos não funcionam somente como solutos compatíveis, mas podem participar de outras rotas metabólicas. A prolina atua na estabilização de membranas e estruturas subcelulares, fonte de carbono e nitrogênio (SILVA-ORTEGA, et al., 2008). A glicina-betaína seria importante para formar moléculas de piruvato e compostos ligados a síntese de hormônio, como por exemplo, o etileno, além de servir como fonte de carbono (MUNÔZ-CLARES; VELASCO-GARCIA, 2004). Do exposto, fica evidente, que o acúmulo dessas substâncias em plantas sob condições de saturação hídrica, ainda precisam ser esclarecidos.

Em condições de anóxia ocorre diminuição ou parada da respiração aeróbia e nesta circunstância, as vias fermentativas como as fermentações láctica e alcoólica são ativadas e as atividades das enzimas Álcool desidrogenase (ADH) e Lactato desidrogenase (LDH) são induzidas em função da necessidade em sustentar a glicólise e compensar a baixa produção de ATP (SATO et al., 2002). Essas respostas foram evidenciadas, por exemplo, em *Melaleuca cajuputi* Powell (KOGAWARA et al., 2006), *Himatanthus sucuuba* Wood (FERREIRA et al., 2009) e *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012). Estudos têm demonstrado que a indução da síntese de diversas proteínas em plantas submetidas à deficiência de oxigênio, é associada a glicólise e a fermentação (SAIRAM, et al., 2008). Assim, muitas plantas conseguem superar a deficiência de oxigênio, sintetizando polipeptídeos anaeróbicos (ADH e LDH) como forma de compensar a depleção de proteínas aeróbicas (ZABALZA et al., 2009).

Estudos também tem evidenciado que o alagamento pode reduzir a atividade da nitrato redutase (ALLÈGRE et al., 2004; ALVES et al., 2012) e glutamina sintetase (HORCHANI; ASCHI-SMITI, 2010; ALVES et al., 2012), influenciando no balanço de nitrogênio total e de diversos aminoácidos (LIAO; LIN, 2001). A Glutamina sintetase parece exercer um importante controle na concentração de NH_4^+ e a sua inibição poderá resultar em acúmulo deste íon, podendo assim causar a morte da planta

(HORCHANI; ASCHI-SMITI., 2010). No entanto, os efeitos da anóxia em espécies arbóreas envolvendo essas substâncias são escassos na literatura.

Em se tratando de alterações morfológicas decorrentes do alagamento, vários estudos apontam que um grande número de plantas reduz o crescimento das raízes e da parte aérea (MIELKE et al., 2003; POVH et al., 2005; COSTA et al., 2006; MEDRI et al., 2007). Desse modo, diminuição da formação de novas folhas e expansão foliar (KOZLOWSKI, 1984), senescência foliar prematura (PEZESHKI, 2001) e queda das folhas (PAROLIN, 2000) seriam estratégias das plantas submetidas ao alagamento para diminuir a transpiração e evitar a perda de água.

Também tem sido evidenciado que a diminuição da biomassa seca, considerada uma resposta típica das plantas não tolerantes ao alagamento (KOZLOSWKI, 1997), está relacionada especialmente a diminuição das raízes em função da morte e ou inibição do crescimento dessas raízes (MEDRI et al., 1998; KOLB et al., 1998), ou da intensa queda de folhas (HENRIQUE et al., 2010).

A formação de raízes adventícias (LOPEZ; KURSAR, 2003; BATISTA et al., 2008; MARTINEZ et al., 2011; GHANBARY et al., 2012) e lenticelas hipertróficas (DAVANSO-FABRO et al., 2003; LOPEZ; KURSAR, 2003; POVH et al., 2005; BATISTA e al., 2008; MARTINEZ et al., 2011) também tem sido observadas em espécies arbóreas sob condições de alagamento. Mielke et al. (2005) sugeriram que as raízes adventícias e as lenticelas hipertróficas seriam importantes na reabertura dos estômatos em espécies tolerante ao alagamento. Segundo Batista et al. (2008) essas estruturas podem contribuir com a difusão do oxigênio da atmosfera para os tecidos internos, e liberação dos compostos potencialmente tóxicos. O aerênquima é outra estrutura morfoanatômica que pode surgir em plantas arbóreas quando expostas ao alagamento. Por possuir grandes espaços intercelulares, acumula ar, o que contribui para a aeração das raízes (GRAFFMAN et al., 2008). Assim essas estruturas devem manter o metabolismo respiratório parcialmente aeróbico, representando importante estratégia para a sobrevivência de plantas em áreas alagadas (MARQUES, JOLY, 2000). No entanto, os mecanismos através dos quais essas estruturas contribuem para a tolerância ao alagamento de espécies arbóreas ainda carecem de informações.

1.2 DESCRIÇÃO E IMPORTÂNCIA DE *Parkia gigantocarpa* Ducke

1.2.1 Distribuição geográfica

A *P. gigantocarpa*, pertence à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, segundo o sistema de classificação baseado no The Angiosperm Phylogeny Group (APG) II (2003). Esta família possui 650 gêneros e aproximadamente 18.000 espécies, sendo considerada uma das maiores famílias botânica (SOUZA & LORENZI, 2008). Na Amazônia, existem cerca de 17 espécies, em áreas de floresta de terra firme e secundária, além de várzea sazonal (HOPKINS, 1986). É uma espécie arbórea encontrada naturalmente nas Guianas (HOPKINS, 1986) e na Amazônia Peruana (LOUREIRO; SILVA, 1972). No Brasil, sua distribuição geográfica abrange a região Norte: Pará, Amapá, Amazonas (SARQUIS; SECCO, 2005; IGANCI, 2011) e Rondônia (HOPKINS, 1986).

1.2.2 Importância econômica

A *P. gigantocarpa*, conhecida popularmente como “fava-atanã”, tem sido usada para diversos fins: produção de celulose e papel, construção em geral, móveis populares, assoalho, marcenaria, taboados, fabricação de caixotaria, brinquedos, laminados, compensados (CARVALHO, 2010) e como matéria prima para artesanato (LOUREIRO et al., 1977). Em função de seu rápido crescimento vegetativo, 1,40 cm/ano (VIDAL et al., 2002), produção volumétrica de até 25 M³ ha⁻¹. Ano⁻¹, aos 11 anos de idade, uniformidade e baixa mortalidade, esta espécie é apontada como promissora para atividade de reflorestamento e ou recuperação de áreas alteradas, principalmente Áreas de Preservação Permanente, APP's, (PINHEIRO et al., 2007; CARVALHO, 2010).

1.2.3 Características dendrológicas e fenológicas

A madeira da fava atanã é de dureza média e fibrosa e moderadamente densa, 0,70 – 0,75 g/cm³ (LOUREIRO et al., 1977). É uma espécie arbórea, intolerante a sombra (PINHEIRO et al., 2007; GOMES et al., 2010) e perenifólia, podendo alcançar 40 m de altura e 150 cm de DAP (Diâmetro a altura do peito). Apresenta sapopemas basais e tabulares, casca externa ou ritidoma, aparentemente rugosa, devido às lenticelas grandes e proeminentes. As folhas são grandes, medindo de 27 cm a 100 cm de comprimento por 67 cm a 72 cm de largura. Suas folhas, pinas e os folíolos são opostos (raramente subopostos). A fava atanã é uma espécie hermafrodita, com inflorescência

em capítulo oblongo (CARVALHO, 2010). A polinização é feita por morcego, principalmente por espécies de *phyllostomus* discolor e *P. hastatus* (BUTANDACERVERA et al., 1978). O fruto é uma vagem larga, lenhosa e achatada, indeiscente (SARQUIS; SECCO, 2005). Em cada fruto existem de 9 a 19 sementes (CARVALHO, 2010).

As sementes são duras, com tegumento impermeável com alto grau de dormência, e podem ser quebradas por escarificação mecânica ou por tratamento químico (OLIVEIRA et al. 2012). As sementes tem comportamento ortodoxo (CARVALHO, 2010) e são dispersas por mamíferos e pássaros (VIEIRA et al., 1996). Também pode ocorrer dispersão autocórica e barocórica das sementes, além disso, depois de os frutos terem sido transportados pelas águas, ocorre a dispersão hidrocórica, no período de elevação das águas (DUARTE, 1978). A germinação é fanerocotiledonar e epígea (CARVALHO, 2010). A floração ocorre de outubro a dezembro e a frutificação de janeiro a março (SARQUIS; SECCO, 2005), coincidindo com o período chuvoso.

A degradação de ambientes naturais, associada ao mau uso dos recursos naturais causam graves consequências aos ecossistemas, especialmente em APP's. Essas áreas são, constantemente, alteradas e destruídas o que causa elevados níveis de fragmentação e degradação de ecossistemas relacionados à bacia hidrográfica, especialmente por causas antrópicas, como o extrativismo florestal, e a agropecuária associada a queimadas (CORBACHO et al., 2003). Além disso, a implantação de projetos de mineração, de usinas hidrelétricas e nucleares, abertura de estradas, hidrovias e a urbanização acelerada são outros fatores que contribuem para a perda de florestas e assoreamento dos rios, ocasionando alagamento mais frequentes e mudanças climáticas locais e regionais dessas áreas. Diante deste cenário, é crescente a demanda por estudos voltados para a recuperação das APP's envolvendo espécies florestais nativas da Amazônia capazes de tolerar o alagamento.

Apesar da legislação ambiental prever a preservação e a recuperação das APP's, projetos de recomposição florestal dessas áreas ainda são incipientes em função de pouca ou nenhuma informação técnica, especialmente quanto às espécies a serem plantadas em determinadas regiões. Segundo Carvalho (2000), a escolha e a produção das mudas de espécies que satisfaçam programas de reflorestamento são vistos como grandes obstáculos na recuperação das florestas nativas, uma vez que, a maior parte dos estudos está concentrada em espécies de maior interesse econômico.

Apesar da importância econômica, ecológica e ambiental da *P. gigantocarpa* não foram encontrados na literatura estudos sobre seu comportamento ecofisiológicos, bioquímicos e morfoanatômicos, em condições de alagamento. Neste sentido, o conhecimento sobre as características e as estratégias que permitam a sobrevivência das espécies arbóreas submetidas a condições de alagamentos são indispensáveis para trabalhos silviculturais, podendo servir ainda para direcionar estudos e programas sobre a preservação de áreas naturais e restauração ou recuperação de áreas alteradas e ou degradadas.

Assim, o presente estudo objetivou avaliar o comportamento, fisiológico, bioquímico, morfoanatômico e de crescimento vegetativo de plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento. Considerando tais aspectos foram elaboradas as seguintes questões: (1) Plantas jovens de *P. gigantocarpa* toleram o estresse imposto pelo alagamento? (2) O crescimento de *P. gigantocarpa* é alterado pelo alagamento? (3) plantas jovens de *P. gigantocarpa* desenvolvem mecanismos fisiológicos, bioquímicos e morfoanatômicos, a fim de superar condições de alagamento?

Considerando que o alagamento é um período crítico para as árvores aceita-se como hipótese que plantas jovens de *P. gigantocarpa* apresentam diferentes estratégias fisiológicas, bioquímicas morfológicas e anatômicas, para tolerar ambientes submetidos às condições de alagamento.

REFERÊNCIAS

- ALLÈGRE, A.; SILVESTRE, J.; MORARD, P.; KALLERHOFF, J.; PINELLI, E. Nitrate reductase regulation in tomato roots by exogenous nitrate: a possible role in tolerance to long-term root anoxia. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 408, p. 2625–2634, 2004.
- ALVES, G. A. R.; SANTOS FILHO, B. G. DOS.; LOBATO, A. K. DA SILVA. YUEN TAN, D. K.; OLIVEIRA NETO, C. F. DE.; COSTA, R. C. L. DA.; ÁVILA F. W.; MARQUES, D. JOSÉ.; GALATE, R. DOS SANTOS. Water relations, nitrogen compounds and enzyme activities in leaf and root of young Yellow Lapacho (*Tabebuia serratifolia*) plants subjected to flooding. **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 3, p. 216-222, 2012.
- APG II. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.141, n. 4, p. 399-436, 2003.
- 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**. [online], v.18, n.2, p. 219-224, 2004.
- ASHRAF M.; ARFAN M. Gas exchange characteristics and water relations in two cultivars of *Hibiscus esculentus* under waterlogging. **Biologia Plantarum**, v. 49, p. 459-462, 2005.
- BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; MEDRI, E. B.; PIMENTA, C, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta botanica Brasilica**, v. 22, n. 91-98, p. 2008.
- BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M.A.; SANTOS, A.O. 2000. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n. 8, p. 1531-1540.
- BERTOLDE, F.Z. ALMEIDA, A.-A.F. PIROVANI, GOMES, C.P. F.P. AHNERT, D. BALIGAR, V.C. VALLE, R.R. Physiological and biochemical responses of Theobroma cacao L. genotypes to flooding. **Photosynthetica**, v.50, n. 3, p. 447-457, 2012.
- BUTANDA-CERVERA, A.; VÁZQUEZ-YANES, C.; TREJO, L. La polinización quiropterófila: una revision bibliográfica. **Biotica**, v. 3, n.1, p. 29-35, 1978.

BLOM, C.W.P.M.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding: the survival strategies of plants. **TREE** v. 11, n. 7, p. 290-295, 1996.

CAMPOS, U.O. Grande reino da biodiversidade. In: **Amazônia Legal – Programa de Prevenção e Controle de queimadas e Incêndios Florestais na Amazônia**. Proarco, Prevfogo/Ibama, Diretoria de Florestas/Ibama e MMA, 2002.

CARVALHO, P. E. R. Produção de mudas de espécies nativas por semente e a implantação de povoamentos. In: GALVÃO, A. P. M. (Org.). Reflorestamento de imóveis rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais. Brasília: **EMBRAPA**, p. 151-174. 2000.

CARVALHO, P. E. R. Espécies Arbóreas Brasileiras. Brasília. DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: **Embrapa Florestas**, 644P. 2010.

CORBACHO, C., SANCHEZ, J.M.; COSTILLO, E. Patterns of structural complexity and human disturbance of riparian vegetation in agricultural landscapes of a Mediterranean area. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 95, p. 495-507, 2003.

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**, v.4, n.1, p.7-13, 2006. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>. Acesso em: 20 de agosto de 2012.

DUARTE, A.P. Contribuição ao conhecimento da germinação de algumas essências florestais. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 56, p. 439-446, 1978.

FERREIRA, C. S.; PIEDADE, M. T. F.; PAROLIN, P.; BARBOSA, K. M. Tolerância de *Himatanthus sucuuba* Wood. (Apocynaceae) ao alagamento na Amazônia Central. **Acta botanica Brasilica**, v. 19, n. 3, p. 425-429, 2005.

FERREIRA, C. S.; PIEDADE, M. T. F.; FRANCO, A. C.; GONÇALVES, J.F.C.; JUNK W. J. Adaptive strategies to tolerate prolonged flooding in seedlings of floodplain and upland populations of *Himatanthus sucuuba*, a Central Amazon tree, **Aquatic Botany** v. 90, n. 3, p. 246-252, 2009.

FOLZER, H.; DAT. J. F.; CAPELLI, N.; RIEFFEL, D.; BADOT, P-M. Response of sessile oak seedlings (*Quercus petraea*) to flooding: an integrated study. **Tree Physiology**, v. 26, p. 759–766, 2006.

GOMES, J.M.; CARVALHO, J.O.P de.; SILVA, M. G. da.; NOBRE, D. N. V.; TAFFAREL, M.; FERREIRA, J. E. R.; SANTOS, R. N. J. Sobrevivência de espécies arbóreas plantadas em clareiras causadas pela colheita de madeira em uma floresta de terra firme no município de Paragominas na Amazônia brasileira. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 1, p. 171 – 178, 2010.

GRAFFMANN, K., GROSSE, W., JUNK, J.; PAROLIN, P. Pressurized gas transport in Amazonian floodplain trees. **Environmental and Experimental Botany**, v. 62, p. 371-37, 2008.

GIMENO, V.; SYVERTSEN, J P.; SIMÓN, S. I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47–55, 2012.

GOMES, J.M.; CARVALHO, J.O.P de.; SILVA, M. G. da.; NOBRE, D. N. V.; TAFFAREL, M.; FERREIRA, J. E. R.; SANTOS, R. N. J. Sobrevivência de espécies arbóreas plantadas em clareiras causadas pela colheita de madeira em uma floresta de terra firme no município de Paragominas na Amazônia brasileira. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 1, p. 171 – 178, 2010.

GLIESSMAN, Stephen R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 4 ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2009. 659p.

HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; GOULART, P. F. P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E. M. de. **Physiological and anatomical characteristics of Sibipiruna plants under hipoxia**. **Ciência Rural** [online]. v.40, n.1, p. 70-76, 2010.

HERRERA, A.; TEZARA, W.; MARIN, O.; RENGIFO, E. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis in trees of a tropical seasonally flooded forest. **Physiologia Plantarum**, v. 134, p. 41-48, 2008.

HOPKINS, H. C. F. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **Flora Neotropica**. Monograph, v. 43, p. 74-77, 1986.

HORCHANI, F.; ASCHI-SMITI, S. Prolonged root hypoxia effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n.12, p. 1583-1589, 2010.

HSU, Y.; TSENG, M.; LIN, C. The fluctuation of carbohydrates and nitrogen compounds in flooded was-apple trees. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 40, p. 193-198, 1999.

IBGE. 2004. **Mapa de Biomas do Brasil**. <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169&id_pagina=1>. Acesso em 12/10/2012.

IGANCI, J.R.V. *Parkia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB078941>>. Acesso em 05/12/ 2012.

ISLAM, M. A.; MACDONALD, S. E. Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. **Trees**, v. 18, p.35–42, 2004.

JALEEL, CA.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; PANNEERSELVAM, R. Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. **Comptes Rendus Biologies**. v. 330, n. 9, p. 674-83, 2007.

JACKSON, M.B. COLMER, T.D. Response and adaptation by plants to flooding stress. **Annals of Botany**, v.95, n.4, p.501-505, 2005.

KOLB, R. M.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E. PIMENTA, J. A.; GILONI, P. C.; CORREA, G. T. Anatomia ecológica de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith e Downs (Euphorbiaceae) submetida ao alagamento. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, p. 305-312, 1998.

KOGAWARA, S.; YAMANOSHITA, T.; NORISADA, M.; MASUMORI, M.; KOJIMA, K. Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. **Tree Physiology**, v. 26, p.1413–1423, 2006.

KOZLOWSKI TT Responses of woody plants to flooding. In: KOZLOWSKI TT (Ed) Flooding and Plant Growth. London: **Academic Press**, p. 129-163, 1984.

LENTINI, M.; PEREIRA, D.; CELENTANO, D.; PEREIRA, R. Fatos florestais da Amazônia. Belém: Imazon (Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia), 2005. 141p.

LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, v.25, p.148-157, 2001.

LOPEZ, O. R.; KURSAR, T. A. Does flood tolerance explain tree species distribution in tropical seasonally flooded habitats? **Oecologia**, v. 136, p. 193–204, 2003.

LOUREIRO, A.A.; SILVA, M.F. Contribuição ao estudo dendrológico de 5 *Parkias* (Leguminosae) da Amazônia. **Acta Amazônica**, v.2, n.2, 1972.

LOUREIRO, A.A.; SILVA, M.F. da; ALENCAR, J.C. **Essências madeireiras da Amazônia**. [s.l.]: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 265p. 1977.

MARQUES, M. C M., JOLY C. A. Germinação e crescimento de *calophyllum brasiliense clusiaceae*), uma espécie típica de florestas inundadas. **Acta Botanica. Brasilica**, v. 14, n. 1, p. 113-120. 2000.

MARTINEZ, G. B.; MOURÃO, M.; BRIENZA JUNIOR, S. Respostas Morfofisiológicas de Plantas de açacu (*Hura crepitans* L.) provenientes de várzeas do rio Amazonas: Efeito da anóxia do solo. **Revista Árvore**, v.35, n.6, p.1155-1164, 2011.

MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; DELGADO, M.F.; CORREA, G.T. Aspectos morfo-anatômicos e fisiológicos de *Peltophorum dubium* (Spr.) Taub. submetida ao alagamento e à aplicação de etrel. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, p. 1-13, 1998.

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

MEDRI, C.; PIMENTA, J. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN S.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E. O alagamento do solo afeta a sobrevivência, o crescimento e o metabolismo de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? Soil flooding affects the survival, growth and metabolism of *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 123-134, 2012.

MERCHANT, A.; PEUKE, A. D.; KEITEL, C.; MACFARLANE, C.; WARREN, C. R.; ADAMS, M. A. Phloem sap and leaf $\delta^{13}\text{C}$, carbohydrates, and amino acid concentrations in *Eucalyptus globulus* change systematically according to flooding and

water deficit treatment. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 6, p. 1785–1793, 2010.

MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.F.; GOMES, F.B.; AGUILAR, M.A.G.; MANGABEIRA, P.A.O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 221-231, 2003.

MIELKE, M.S.; MATOS, E. M.; COUTO, V. B.; ALMEIDA, A. F. GOMES, F. P.; MANGABEIRA, P. A. O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding. **Acta botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, p. 905-911, 2005.

MUNÔZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA. R. Genio y figura de la betaína aldehído Deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, v. 28, p. 203-223, 2004.

OLIVEIRA NETO, C.F. Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) submetidos à deficiência hídrica e ao alagamento. Belém, 2010. 93p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

OLIVEIRA, A. K. M. DE.; RIBEIRO, J. W. F.; PEREIRA, K. C. L.; RONDON, E. V.; BECKER, T. J. A.; BARBOSA, L. A. Superação de dormência em sementes de *Parkia gigantocarpa* (FABACEAE – MIMOSIDAE). **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 533-540, 2012.

PAROLIN, P.; WITTMAN, F.; SCHONGART, J.; PIEDADE, M. T. Amazonian várzea forests: adaptive strategies of trees as tools for forest management. **Ecología Aplicada**, v. 3 n. 1-2, p. 180-184, 2004.

PEREIRA, D., SANTOS, D., VE-DOVETO. M., GUIMARÃES J., VERÍSSIMO, A. Fatos florestais da Amazônia. Belém, PA: **Imazon**, 124p. 2010.

PINHEIRO, K.A.O.; CARVALHO, J.O.P.; QUANZ, B.; FRANCEZ, L.M. B.; SCHWARTZ, G. Fitossociologia de uma área de preservação permanente no leste na Amazônia: indicação de espécies para recuperação de áreas alteradas. **Revista Floresta**, v.37, p. 175-187, 2007.

POVH, J. A.; RUBIN FILHO, C. J.; MOURÃO, K. S. M.; DIAS PINTO, D. Respostas morfológicas e anatômicas de plantas jovens de *Chorisia speciosa* A. St.Hil.

(Bombacaceae) sob condições de alagamento. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.27, n.3, p.195-202, 2005.

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

SARQUIS, R.S.F.R.da.; SECCO R. S. da. As espécies de *Parkia*, *pseudopiptadenia* e *Stryphnodendron* (“faveiras”) no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, moju, Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**. Série. Ciências Naturais. Belém, v. 1, n. 3, p. 67-86, 2005.

SILVA-ORTEGA, C.O.; OCHOA-ALFARO, A.E.; REYES-AGUERO, J.A.; SANTA CRUZ, G.A.; JIMÉNEZ-BREMONT, J.F. Salt stress increases the expression of P5CS gene and induces proline accumulation in cactus pear. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 82-92, 2008.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 819p.

VIDAL, E.; VIANA, V. M.; BATISTA, J. L. F. Crescimento de floresta tropical três anos após colheita de madeira com e sem manejo florestal na Amazônia oriental. **Scientia forestalis**, n. 61, p. 133-143, 2002.

VIEIRA, I.C.G.; GALVÃO, N.; ROSA, N.A. Caracterização morfológica de frutos e germinação de sementes de espécies arbóreas nativas da Amazônia. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.12, n.2, 1996.

ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J.T.; FROELICH, A.; OLIVER, S.N.; FAIX, B.; GUPTA, K.J.; SCHMÄZLIN, E.; IGAL, M.; ORCARAY, L.; ROYUELA, M.; GEIGENBERGER, P. Regulation of respiration and fermentation to control the plant internal oxygen concentration. **Plant Physiology**, v. 149, p.1087-1098, 2009.

WITTMANN, F., SCHÖNGART, J., BRITO, J. M., OLIVEIRA WITTMANN, A., PIEDADE, M. T. F., PAROLIN, P. (2010). **Manual of trees from Central Amazonian várzea floodplains: taxonomy, ecology and use**. Manaus: Editora INPA.

CAPÍTULO 1

2. RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E DE CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE *Parkia gigantocarpa* Ducke SOB ALAGAMENTO

Waldemar Viana de Andrade Júnior, Benedito Gomes Santos Filho, Cândido Ferreira Oliveira Neto.

RESUMO

Parkia gigantocarpa é uma árvore Neotropical que ocorre naturalmente em mata de terra firme e várzea alta. Para caracterizar as respostas morfoanatômicas e de crescimento, plantas jovens de *P. gigantocarpa* foram submetidas experimentalmente a dois regimes hídricos. O alagamento foi imposto em aproximadamente 5 cm de lâmina acima da superfície do solo usando vasos com capacidade de 14 Kg de substrato. Plantas não alagadas (controle) foram irrigadas diariamente, próximo a capacidade de campo. A altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e folíolos, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), razão raiz parte aérea (R/PA), lenticelas hipertróficas, raízes adventícias e lacunas de ar foram avaliados a 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Segmentos de raízes primárias e secundárias foram observados ao microscópio de luz. O alagamento reduziu significativamente a altura da planta a partir do 8º dia. O diâmetro do caule não diferiu entre os tratamentos. A maior redução do número de folhas e folíolos, MSPA, MSR, MST e R/PA ocorreu aos 16 dias nas plantas alagadas. A partir do 4º dia foi visualizada às lenticelas hipertróficas na base do caule das plantas alagadas, entretanto o desenvolvimento de raízes adventícias na base do caule somente foi observada aos 16 dias nas plantas sob alagamento. Neste mesmo período, as células parenquimáticas localizadas próximo à periferia e a endoderme do córtex das amostras do tratamento alagado iniciaram o processo de formação esquizógeno de pequenas lacunas de ar. Sugere-se que essas estruturas morfoanatômicas contribuíram para a sobrevivência de todas as plantas até o final do experimento, o que conferem tolerância de *P. gigantocarpa* às condições de alagamento.

Palavras-chave: lenticelas hipertróficas, raízes adventícias, lacunas de ar.

ABSTRACT

Parkia gigantocarpa is a Neotropical tree that occurs naturally in the woods of solid ground and high floodplain. To characterize the morphological and anatomical responses and growth of seedlings *P. gigantocarpa* were experimentally subjected to two water regimes. Flooding was imposed on the blade approximately 5 cm above the soil surface using vases with 14 kg of substrate capacity. Non-flooded plants (control) were irrigated daily, close to field capacity. Plant height, stem diameter, number of leaves and leaflets, shoot dry matter (SDM), root dry mass (RDM), total dry matter (TDM), root shoot ratio (R/PA), hypertrophic lenticels, adventitious roots and air gaps were measured at 0, 4, 8, 12 and 16 days. Primary and secondary roots segments were observed by light microscope. Flooding reduced significantly plant height from the 8th day. The stem diameter did not differ between treatments. The largest reduction in the number of leaves and leaflets, SDM, RDM, TDM and R/PA occurred at 16 days in flooded plants. From the 4th day was visualized hypertrophic lenticels the stem base of the plants flooded, however the development of adventitious roots on the stem base was only observed in plants at 16 days under flooding. In this same period, the parenchyma cells located near the periphery of the cortex and endoderm samples flooded treatment initiated the process of training schizogenous small air gaps. It is suggested that these structures morphoanatomic contributed to the survival of all plants by the end of the experiment, which confers tolerance to *P. gigantocarpa* to study conditions.

Keywords: Hypertrophic lenticels, adventitious roots, air gaps.

2.1 INTRODUÇÃO

Parkia gigantocarpa Ducke (fava atanã) é uma árvore encontrada principalmente em florestas tropicais úmidas, abrangendo naturalmente áreas de terra firme, secundária e várzea sazonal, especialmente, na região Norte da Amazônia (HOPKINS, 1986). Nos últimos anos a fava-atanã tem despertado interesse dos pesquisadores no que se refere à superação da dormência das sementes e produção de mudas (OLIVEIRA et al., 2012), e atividades comerciais madeireira na Amazônia (VIDAL et al., 2002; CARVALHO, 2010). Além disso, em função de seu rápido crescimento, boa produção volumétrica, uniformidade e baixa mortalidade têm sido apontadas como das espécies promissoras para reflorestamento e ou recuperação de áreas alteradas, especialmente em APP's (CARVALHO, 2010).

O alagamento do solo é um fator abiótico comum em várias regiões e é capaz de limitar o crescimento e a sobrevivência de certas espécies de plantas. Isso ocorre porque o excesso de água no solo promove a redução de oxigênio para o sistema radicular prejudicando o desenvolvimento das plantas, pois ocorre mudança da rota metabólica aeróbia para anaeróbia, contribuindo para a redução de energia e consequentemente a capacidade de absorção e transporte de água e nutrientes para a parte aérea (LIAO; LIN, 2001).

As respostas das plantas a saturação de água no solo são complexas e podem variar dependendo da espécie, da altura da lâmina d'água, do tempo de alagamento e da fase de desenvolvimento da planta (COLMER; VOESENEK, 2009; OLIVEIRA; JOLY, 2010). Parolin (2002), avaliando espécies de áreas alagadas da Amazônia central menciona que o rápido crescimento caulinar na fase inicial da vida da planta seria uma maneira de aumentar a altura para sobreviver aos efeitos do alagamento. Entretanto, redução do crescimento das raízes e da parte aérea (MEDRI et al., 2007), epinastia, senescência, abscisão das folhas (KATZ et al., 2005) e diminuição da biomassa (CHEN, et al., 2002) tem sido frequentemente evidenciadas em espécies arbóreas submetidas ao alagamento, comprometendo a sobrevivência das mesmas. Sendo assim, a produção de matéria seca, por exemplo, mais elevada em plantas submetidas ao alagamento, a princípio poderia indicar uma maior tolerância a esse estresse.

Neste sentido, como forma de tolerar o estresse imposto pela saturação hídrica e manter o metabolismo, determinadas espécies de plantas podem desenvolver alterações morfoanatômicas, como a hipertrofia de lenticelas (KOLB; JOLY, 2009; SHIMAMURA et al., 2010.), a produção de raízes adventícias (BATISTA et al., 2008;

GREGÓRIO et al., 2008; KOLB; JOLY, 2009; OLIVEIRA; JOLY, 2010; EZIN et al., 2010), e a formação de aerênquima (BOURANIS et al., 2006, SAIRAM et al., 2008; GRAFFMAN et al., 2008; ASHRAF, 2012).

Estudos apontam que as lenticelas hipertróficas e as raízes adventícias, podem se interligar a canais de aerênquima permitindo o transporte de oxigênio da parte aérea para o sistema radicular possibilitando a manutenção da respiração aeróbica (KOLB; JOLY, 2009), além de contribuírem para a liberação de compostos potencialmente tóxicos associados à anaerobiose, tais como etanol, etileno e acetaldeído (KOZLOWSKI, 1997). Outra importante contribuição dessas estruturas seria a reabertura dos estômatos e a manutenção de altas taxas fotossintéticas em espécies tolerantes ao alagamento, como sugerido por Mielke et al. (2005).

O aerênquima é outra modificação morfoanatômica que pode surgir em plantas arbóreas quando expostas ao alagamento e por possuir grandes espaços intercelulares, acumula ar, o que também contribui para a aeração das raízes (GRAFFMAN et al., 2008). Tem sido relatado que o desenvolvimento do aerênquima do tipo esquizógeno origina-se da separação de células e dos espaços intercelulares em função do arranjo diferencial das células que compõe o tecido, sem que haja morte celular (EVANS, 2003), enquanto o lisígeno resultaria da hidrólise da parede celular, e eventual lise celular resultando em espaços vazios cheios de ar entre as células vivas que permaneceram (VISSER & VOESENEK, 2004). Entretanto, os mecanismos através dos quais essas estruturas contribuem para a tolerância ao alagamento de espécies arbóreas ainda carecem de informações.

Atualmente, muitos projetos de reflorestamento, implementados especialmente em áreas de preservação permanente (APP's), usam espécies arbóreas nativas em estágio jovens de desenvolvimento. No entanto, em muitos casos ocorre a morte de um número considerável de indivíduos. Neste sentido, a (re) vegetação de áreas alteradas, especialmente em áreas próximas aos recursos hídricos, com uso de espécies arbóreas que desenvolvem estratégias de adaptação em condições de estresse por alagamento pode permitir o sucesso do plantio. Embora a fava atanã, tenha sido recomendada para recomposição de áreas alteradas, especialmente em APP's, pouco ou quase nada se conhece sobre seu comportamento morfoanatômico e de crescimento em condições de alagamento. Sendo assim, o entendimento de como as plantas jovens de *P. gigantocarpa* respondem ao alagamento temporário do sistema de raiz torna-se

relevante para subsidiar projetos de recomposição de áreas alteradas, especialmente aquelas relacionadas aos recursos hídricos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi conhecer as respostas morfoanatômicas e de crescimento de plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidos às condições de alagamento.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém, PA, Brasil, (01°28'03"S, 48°29'18"W) no período de 23/07/2012 a 23/09/2012. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

2.2.2 Formação das mudas

Para a formação das mudas de Fava atañã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) foram utilizadas sementes coletadas na Fazenda Rio Capim, 03°41'07,2"S, 48°38'04.0"W, pertencente a Cikel Brasil Verde Madeiras Ltda., localizada no município de Paragominas - PA, distante cerca de 320 km de Belém - PA.

As sementes foram previamente escarificadas com esmeril elétrico na região lateral próxima ao hilo e imediatamente foram semeadas em bandejas de plástico, com capacidade de 5L, contendo areia e serragem esterilizada misturadas na proporção de 1:1. Após a emergência, as mudas foram repicadas para sacos de polietileno preto-opaco de 25 cm de altura x 15 cm de diâmetro com perfurações laterais, contendo como substrato uma mistura de (i) terra preta, constituída do solo latossolo amarelo, textura média, previamente seco ao ar e retiradas as impurezas através dos processos de peneiramento e catação, (ii) serragem curtida e (iii) esterco de boi na proporção de 3:2:1, respectivamente.

As mudas foram mantidas em viveiro durante 02 meses. Após este período as plantas jovens foram selecionadas uniformemente considerando altura, diâmetro do caule, número de folhas e número de folíolos e posteriormente foram transferidas para vasos plásticos com capacidade de 14 Kg, contendo o mesmo substrato usado na repicagem. Em seguida os vasos com as plantas jovens foram levados para a casa de vegetação onde passaram por um período de aclimação de 45 dias.

2.2.3 Tratamentos utilizados e condução das plantas

No final do período de aclimação cinquenta plantas jovens de fava-atanã, com cerca de 4 meses de idade, foram submetidas a dois regimes hídricos: (i) irrigado diariamente (vinte e cinco plantas) para repor a água perdida por evapotranspiração, feita individualmente para cada vaso, levando em consideração as pesagens diárias do conjunto (vaso + planta + solo), (plantas controle) e (ii) alagadas (vinte e cinco plantas), manutenção da lâmina d'água de cerca de 5 cm acima do nível do solo. As plantas dos tratamentos controle e alagadas permaneceram 16 dias nessas condições. Os vasos contendo as plantas jovens sob alagamento foram vedados para evitar a drenagem da água. Os vasos foram etiquetados para a identificação de cada tratamento e tempo ao longo do experimento.

Os resultados das análises de solo realizadas no Laboratório de Solos da EMBRAPA Amazônia Oriental não indicaram a necessidade de nenhuma correção.

Tabela 1. Propriedades químicas e físicas do solo na profundidade de 0-20 cm.

ANÁLISE QUÍMICA									
pH	N	MO	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al
H ₂ O	%	g/Kg	-----mg/dm ³ -----			-----cmol _c /dm ³ -----			
5,1	0,29	96,16	120	263	252	2,4	4,0	0,2	5,61
ANÁLISE DE MICRONUTRIENTES									
		Cu	Mn	Fe	Zn				
		-----Mg/Kg-----							
		3,0	14,7	195,1	13,2				
ANÁLISE GRANULOMÉTRICA									
Areia grossa			Areia fina			Silte		Argila total	
485			164			232		120	

2.2.4 Variáveis Estudadas

2.2.4.1 Variáveis de crescimento

As avaliações foram realizadas em plantas controle e sob alagamento nos tempos de 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Foram mensurados: (1) Altura da Planta (H): Medida da superfície do solo até o ápice da planta, através do uso de uma trena. Os dados foram expressos em cm. (2) Diâmetro do caule (DC): Medida na base do caule a 4 cm de altura em relação ao colo, utilizando um paquímetro digital 200 mm de Digimes. Os dados foram expressos em cm. (3) Número de folhas (NF) e folíolos (Nfol): foram obtidos através da contagem, considerando aquelas que já apresentavam seu formato final. (4) Massa seca das diferentes partes da planta e total: Em cada período de avaliação, as plantas de cada tratamento (controle e alagadas), após a retirada dos vasos,

foram levadas ao Laboratório de Fisiologia Vegetal, onde foram separadas em raiz (lavadas em água corrente para retirar todos os resíduos de solo e secas em papel absorvente) e parte aérea e acondicionada, separadamente, em sacos de papel de massa conhecida para posterior secagem em estufa de ventilação forçada à 65°C até obtenção da massa constante.

Cada parte da planta foi pesada em uma balança analítica para determinação da massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA; calculado como a soma das massas secas do caule, folhas e folíolos) e massa seca total (MST). Com os valores dos pesos das massas secas da raiz e da parte aérea foi calculada a razão entre massa seca da raiz/ parte aérea (R/PA).

2.2.4.2 Morfológicas

As alterações morfológicas, senescência foliar, abscisão foliar, formação de lenticelas hipertróficas e raízes adventícias na base do caule, observadas visualmente nas plantas alagadas, foram anotadas diariamente a partir do quarto dia após o alagamento do solo.

2.2.4.3 Anatômicas

Para análise das características anatômicas, ao final de cada período de avaliação (0,4, 8, 12 e 16 dias), foi seccionado de cada indivíduo, com o auxílio de lâminas de barbear, um segmento de 0,5 cm de raiz primária (retirado a 4 cm abaixo do colo) e da raiz secundária (retirado a 4 cm de seu ápice), totalizando cinco amostras de cada tratamento (MEDRI et al., 2011).

Os segmentos foram fixados em FAA (formaldeído, ácido acético e etanol 50%) por 24 horas (JOHANSEN, 1940), sob vácuo, desidratados em série butílica terciária (JOHANSEN, 1940) e incluídos em parafina. Seções transversais foram realizadas com 12 µm de espessura, em micrótomo rotativo de avanço automático Leica®, coradas com azul de astra e safranina (GERLACH, 1969) e montadas em resina sintética Permount®, totalizando 25 lâminas para o tratamento controle e 25 lâminas para o tratamento sob alagamento.

As imagens fotográficas foram obtidas com auxílio de câmera digital *Olympus* de oito *megapixels* e as fotomicrografias através de câmera fotográfica digital *Cannon Power shop A640*, acoplada ao microscópio de luz Zeiss, modelo *Axiolab*, e microscópio de luz polarizada, acoplado a câmera *Motic*, 5000 *megapixel*, ambos em

diferentes magnitudes e alocados no Laboratório de Microscopia da Coordenação de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi. A terminologia usada na descrição anatômica está de acordo com Davanzo-Fabro et al. (1998) e Medri et al. (2007).

2.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial do tipo 2 x 5 (condições hídricas x tempo, 0, 4, 8, 12 e 16 dias), consistindo de dois tratamentos (Irrigado e alagado) com 5 (cinco) repetições, totalizando 50 unidades experimentais, distribuídas ao acaso. Cada unidade amostral foi composta de uma planta/vaso.

Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Foi calculado também o desvio – padrão das médias de cada tratamento, sendo as análises estatísticas realizadas usando-se o programa SWNTIA (EMBRAPA, Campinas-SP, 1995).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O alagamento provocou redução na altura e no diâmetro das plantas jovens de *P. gigantocarpa*, comparada ao controle (Figura 1). Em relação à altura das plantas a análise estatística demonstrou diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$) não mostrando, no entanto, diferenças significativas entre os tempos de avaliação e interação entre esses fatores ($P < 0,05$). Aos 16 dias as plantas controle e alagadas apresentaram 34,34 e 32,86 cm, com crescimento de 4,30% menor das plantas alagadas em relação ao controle (Figura 1). Considerando o diâmetro do caule, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, entre os tempos de avaliação e nem interação entre esses fatores ($P < 0,05$) (Figura 1).

O menor crescimento de *P. gigantocarpa* foi similar ao encontrado em outras espécies arbóreas neotropicais como *Lithraea molleoides* Engl. (MEDRI et al., 2007), *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk. (MAURENZA et al., 2012), *Hura crepitans* L. (MARTINEZ et al., 2011) e *A. sellowiana* (MEDRI et al., 2012).

O alagamento, em geral, reduz o crescimento (LOPES–KURSAR, 2003; PAROLIN; WITTMANN, 2010) e a sobrevivência da planta (KABRICK et al., 2012) em função da baixa produção de ATP ocasionado pela anaerobiose do solo. Nessas condições ocorre redução do metabolismo, morte e ou baixo crescimento do sistema

radicular (GLENZ et al., 2006). Entretanto, a limitação do crescimento seria uma das estratégias que as plantas desenvolvem para economizar energia e resistir ao período de alagamento do solo (COLMER; VOESENEK, 2009). Estas afirmações vêm ao encontro dos resultados encontrados neste trabalho. Muitas espécies neotropicais consideradas tolerantes a saturação hídrica tiveram redução no crescimento quando submetidas ao alagamento, desta forma a diminuição do crescimento não pode ser considerada como fator de intolerância ao alagamento (PAROLIN et al., 2004; PAROLIN; WITTMANN, 2010).

Estudo realizado por Kabrick et al. (2012) em seis espécies arbóreas, verificaram alta sobrevivência, porém com redução significativa do crescimento das plantas quando submetidas ao alagamento. Assim, a redução do crescimento em *P. gigantocarpa* não foi um fator limitante para a sobrevivência desta espécie pelo menos durante o período do experimento.

O diâmetro do caule foi pouco afetado pelo alagamento, possivelmente, o tempo de estresse não foi suficiente para promover alterações no crescimento ou a espécie é tolerante a este tipo de estresse.

Batista et al. (2008) trabalhando com plantas jovens de *C. pachystachya* verificaram que o alagamento por 30 dias não provocou efeito sobre o diâmetro da base do caule das plantas alagadas em comparação as não alagadas, sugerindo que esta espécie tolera a anaerobiose não necessitando de oxigênio vindo da parte aérea e segundo, que a espécie já é bem suprida de espaços aéreos nesta região mesmo sem estar em condições de alagamento. Resultados similares em relação ao diâmetro do caule também foram obtidos por Maurenza et al. (2009) que, avaliando o crescimento de *P. glomerata*, observaram que o diâmetro do caule não foi afetado pelo alagamento por um período de 180 dias e por Medri et al. (2012) em plantas jovens de *A. sellowiana* alagadas por 50 e 80 dias.

Quanto ao número de folhas foram observadas diferenças significativas entre os regimes hídricos ($P < 0,001$) e interação entre tratamento e período de avaliação ($P < 0,05$), no entanto, não houve diferença significativa entre os tempos de avaliação ($P < 0,05$). As plantas controle e sob alagamento apresentaram aos 16 dias 22,4 e 16,8 folhas, respectivamente, com um decréscimo de 25% nas plantas alagadas em relação ao controle (Figura 1). O alagamento afetou o número de folíolos (Figura 1), mostrando diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$) e interação entre os dois regimes e tempo de avaliação ($P < 0,01$), sem diferenças entre os períodos avaliados ($P < 0,05$).

As plantas controle e alagadas apresentaram 455,2 e 319,6 folíolos, respectivamente, aos 16 dias. Havendo, portanto, redução de 29,78% nos tratamentos alagados em comparação ao controle.

Sabe-se que há uma interdependência entre o sistema radicular e a parte aérea. Assim, mudança da rota aeróbia para anaeróbia em raízes de plantas exposta ao alagamento leva a baixa produção de energia (ALAM et al., 2011), acarretando menor absorção de nutrientes minerais (GREENWAY; GIBBS, 2003), o que resulta na deficiência nutricional e de ATP na parte aérea, ocasionando, clorose, senescência e abscisão das folhas mais velhas (GLENZ et al., 2006). Essas folhas entram em senescência prematura em função da realocação de elementos móveis do floema, como o nitrogênio, fosforo e potássio, para as folhas mais jovens (TAIZ; ZEIGER, 2013). A biosíntese de etileno na parte aérea, ocasionada pelo o alagamento, também induz a epinastia, acentuando a senescência e abscisão foliar (KATZ et al., 2005). Os resultados obtidos neste estudo suportam essas afirmações.

Visto que neste trabalho ocorreu significativo coeficiente de correlação positivo ($P < 0,01$) entre o número de folhas e a transpiração (Tabela 3; Capítulo 2), pode-se inferir que a redução no número de folhas em *P. gigantocarpa* seria uma resposta da planta ao alagamento como forma de diminuir a transpiração e manter o seu *status* hídrico.

Herschbach et al. (2005) observaram redução de 10 e 26% após 10 e 15 dias, respectivamente, no número de folhas nas plantas jovens de (*Populus tremula* x *P. alba*) alagadas em comparação ao controle. O mesmo comportamento foi observado por Maurenza et al. (2012) avaliando o crescimento de *P. glomerata*, onde verificaram redução de 45% no número de folhas nas plantas alagadas em relação ao controle. Ghanbary et al. (2012), trabalhando com plantas jovens de *Alnus subcordata* C.A.Mey, também verificaram redução significativa no número de folhas das plantas alagadas em comparação ao controle.

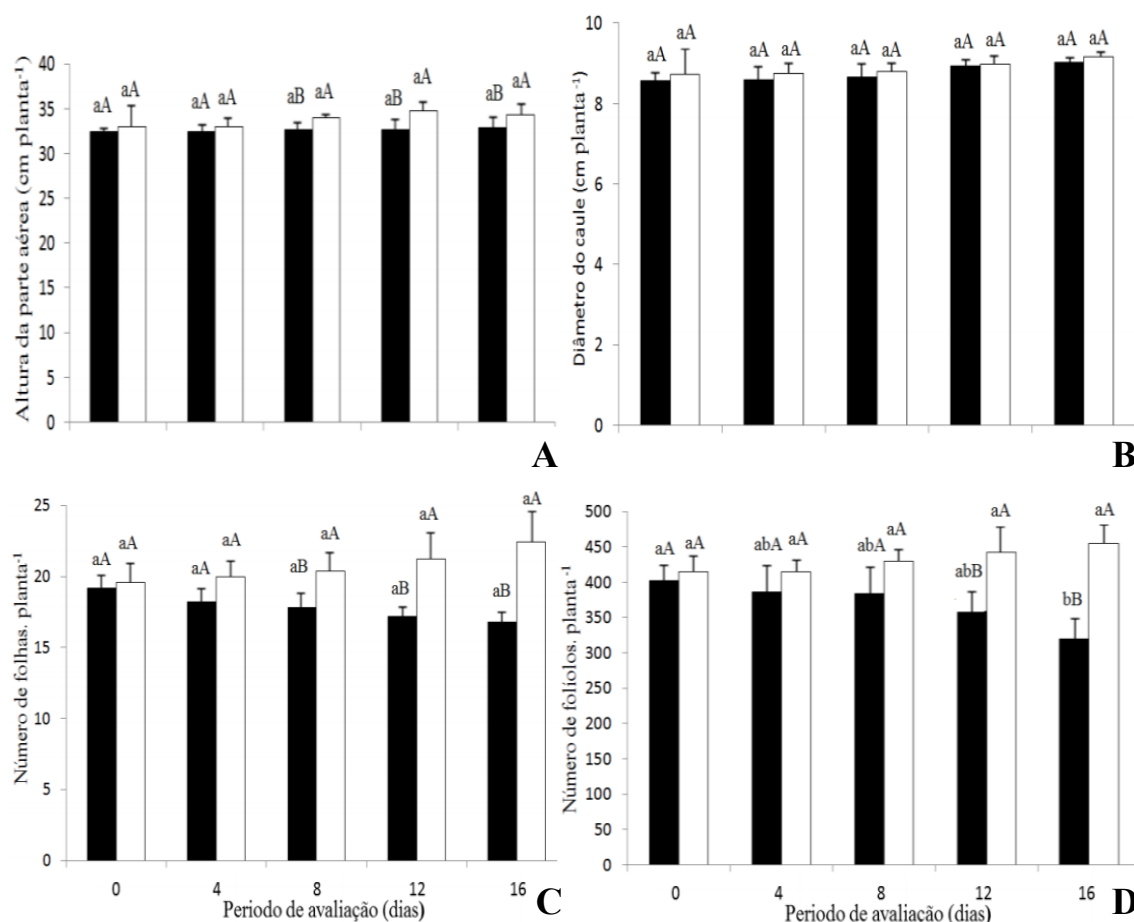


Figura 1. Altura da parte aérea (A), Diâmetro do caule (B), Número de folhas (C) e Número de folíolos (D) de plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (■) e não alagadas (□) durante cinco períodos de avaliação. Valores seguidos por letras maiúsculas (regime hídrico) e letras minúsculas (tempo de alagamento) iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Barras representam o erro padrão da média de cinco repetições.

Para a variável massa seca da parte aérea foi verificado diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,001$) e interação entre os regimes hídricos e período de avaliação ($P < 0,05$), sem diferença significativa entre os períodos avaliados ($P < 0,05$). Foram obtidos valores de 7,79 e 6,69 g/planta nos tratamentos controle e alagado, respectivamente, aos 16 dias, com decréscimo de 14,12% na MSPA das plantas alagadas em relação ao controle (Figura 2).

O mesmo comportamento foi observado para a massa seca da raiz com variação significativa entre os regimes hídricos e interação entre tratamento e tempo ($P < 0,001$), não havendo diferença significativa entre os períodos avaliados ($P < 0,05$). Os valores observados foram de 1,61 e 1,13 g/planta nos tratamentos controle e em condições de alagamento, respectivamente, aos 16 dias, correspondendo um decréscimo de 29,81% nas plantas alagadas quando comparadas ao controle (Figura 2).

A massa seca total variou significativamente entre os tratamentos ($P < 0,001$), período de avaliação ($P < 0,05$) e interação entre esses fatores ($P < 0,001$). As plantas controle e alagadas apresentaram 9,41 e 7,82 g/planta respectivamente, aos 16 dias, com uma redução de 16,89% nas plantas submetidas ao alagamento (Figura 2).

A razão massa seca raiz/parte aérea diferiu significativamente entre os regimes hídricos ($P < 0,01$) e interação entre tratamento e tempo ($P < 0,05$), sem diferença significativa entre os períodos de avaliação ($P < 0,05$). As plantas controle apresentaram 0,20 g/planta e as alagadas 0,16 g, aos 16 dias, correspondendo um decréscimo de 20% nas plantas alagadas em relação ao controle (Figura 2).

A redução da biomassa tem sido evidenciada em muitas espécies arbóreas submetidas ao alagamento, como em *L. molleoides* (MEDRI et al., 2007), *P. glomerata* (MAURENZA et al., 2012), *A. subcordata* (GHANBARY et al., 2012) e *J. curcas* (GIMENO et al., 2012).

Tem sido relatado que o crescimento das raízes é significativamente inibido em condições de alagamento (SAIRAM et al., 2008). Isso ocorre porque em solos saturados de água há diminuição ou a falta de oxigênio para as raízes (PAROLIN, 2009) gerando redução da atividade metabólica e de ATP o que restringe o fornecimento de energia para o crescimento da raiz (LIAO; LIN, 2001). O excesso de Fe^{+2} e Mn^{+2} , o acúmulo de substâncias fitotóxicas como dióxido de carbono e etileno, que são comuns em solos alagados (SHABALA, 2010), e a redução da translocação de carboidratos podem causar inibição do crescimento ou morte das raízes (SLEWINSKI-BRAUN, 2010), levando a diminuição da absorção de água, oxigênio, macro e micronutrientes das plantas estressadas, o que resultou no decréscimo acentuado da massa seca do sistema de raiz de *P. gigantocarpa* submetida ao alagamento (Figura 2). No entanto, a redução da massa seca deste órgão para esta espécie não foi limitante para a sua sobrevivência durante o período de alagamento.

Os resultados obtidos neste trabalho em relação à massa seca da raiz estão de acordo com os encontrados em *Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul. var. *leiostachya* Benth (LENHARD et al., 2010), *Heliocarpus popayanensis* Kunth (PISICCHIO et al., 2010) e *A. subcordata* (GHANBARY et al., 2012) quando estas espécies foram submetidas ao alagamento das raízes.

Tem sido evidenciado que o fechamento estomático em plantas arbóreas sob alagamento seria responsável pela redução da fotossíntese (MIELKE et al., 2003) resultando na menor produção de fotoassimilados (LIN et al., 2006). Este fato pode ter

contribuído com a diminuição da massa seca da parte aérea das plantas de *P. gigantocarpa*. Da mesma forma, em função da hipóxia ou anóxia nas raízes podem ocorrer alterações na massa seca da parte aérea devido à redução da absorção e translocação de nutrientes para as folhas (LIN et al., 2006). Sendo assim, a sobrevivência da planta em condições de alagamento é dependente de um balanço na distribuição de fotoassimilados entre as suas várias partes (BATISTA et al., 2008).

A menor razão raiz parte aérea nas plantas alagadas de *P. gigantocarpa* (Figura 2) indica que o crescimento do sistema radicular foi muito mais fortemente reduzido do que a parte aérea. Fato que pode ter contribuído para a menor absorção e transporte de água e, conseqüentemente, para a redução da condutância estomática, como observado neste estudo. Segundo Kozlowski (1997), as raízes são os órgãos mais diretamente afetados pelo alagamento, sendo tipicamente mais reduzidos que a parte aérea, em função da redução do oxigênio resultar na baixa produção de energia para sustentar os processos metabólicos.

A redução da massa seca total nas plantas alagadas pode ter ocorrido em função da diminuição da altura da planta (Figura 1 A), do número de folhas (Figura 1 C) e da massa seca da raiz (Figura 2 B). Mielk et al. (2003) trabalhando com plantas jovens de *Genipa americana* no período de 63 dias de alagamento, atribuíram como as principais causas da redução da massa seca total a queda acentuada na gs e a taxa de fotossíntese das plantas alagadas em relação as plantas irrigadas. Maurenza et al. (2012) trabalhando com plantas jovens de *P. glomerata* submetidas ao alagamento por 180 dias, observaram redução significativa de massa seca da parte aérea e massa seca total e Gimeno et al. (2012) também observaram redução significativa de massa seca da parte aérea, raiz e massa seca total em plantas jovens de *J. curcas* submetidas ao lagamento por 10 dias.

Ghanbary et al. (2012), trabalhando com plantas jovens de *A. subcordata*, verificaram que a massa seca da parte aérea, raiz e massa seca total foram significativamente menores nas plantas submetidas ao alagamento que nas plantas controle. Entretanto, contrariamente ao presente estudo, estes autores observaram aumento significativo na razão massa seca raiz/parte aérea das plantas alagadas em relação ao controle.

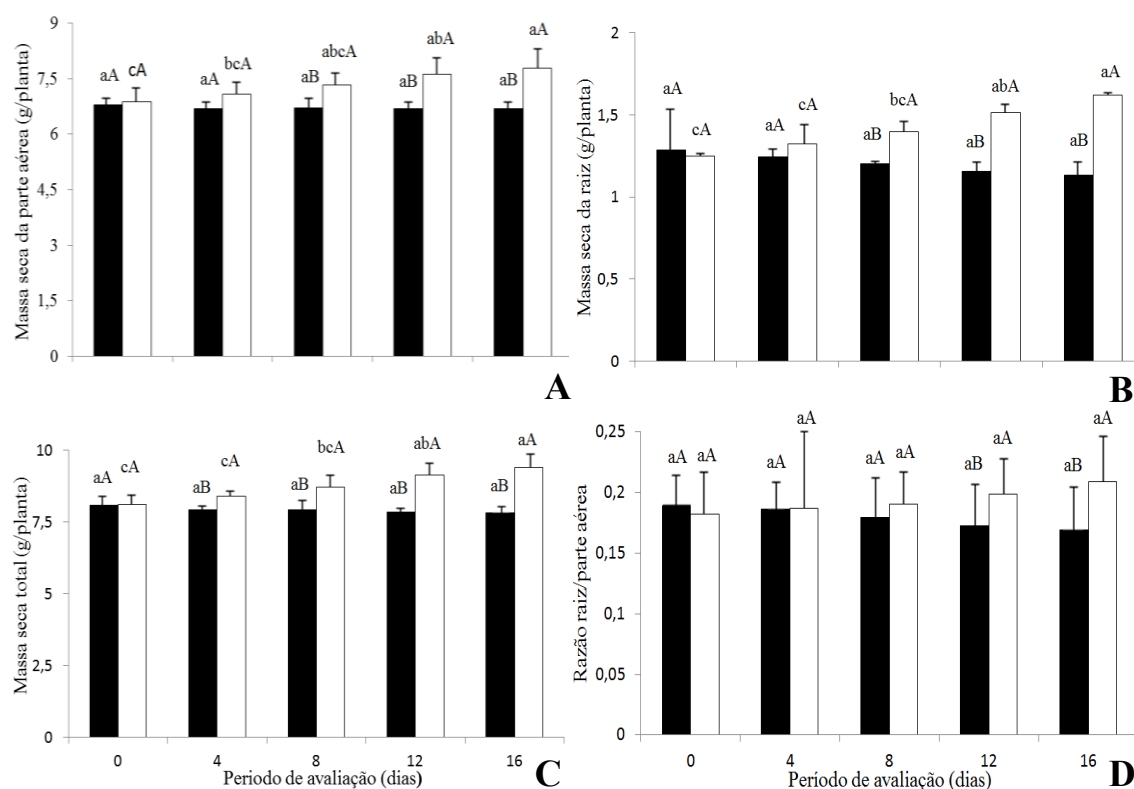


Figura 2. Massa seca da parte aérea (A) Massa seca da raiz (B), Massa seca total (C) e Razão massa seca raiz/parte aérea (D) de plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (■) e não alagadas (□) durante cinco períodos de avaliação. Valores seguidos por letras maiúsculas (regime hídrico) e letras minúsculas (tempo de alagamento) iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Barras representam o erro padrão da média de cinco repetições.

Aos quatro dias de alagamento, 60% das plantas de *P. gigantocarpa* apresentaram lenticelas hipertróficas de cor esbranquiçada na base do caule (Figura 3 A), atingindo 100% das plantas a partir do oitavo dia. Outra característica observada foi o desenvolvimento de raízes adventícias na base do caule somente aos 16 dias em 40% das plantas alagadas (Figura 3 B).

Bertolde et al. (2012) trabalhando com dois genótipos de *T. cacao*, um tolerante ao alagamento (TSA-792) e outro não tolerante ou suscetível ao alagamento (TSH-774) observaram a formação de lenticelas hipertróficas no TSA-792 após 3 dias de alagamento enquanto no TSH-774, somente após 20 dias de alagamento.

Esses resultados demonstram que as lenticelas hipertróficas não aparecem somente nas espécies tolerantes, mas o seu aparecimento nos períodos iniciais de saturação hídrica pode ter sido um fator importante para a sobrevivência das plantas. Assim, o surgimento dessas estruturas aos quatro dias de alagamento em *P. gigantocarpa* pode ter auxiliado na tolerância das plantas durante o período em que foram submetidas ao estresse (16 dias), haja vista que todas as plantas alagadas sobreviveram.

Isso pode ter ocorrido pelo fato das lenticelas hipertróficas possibilitarem a entrada de oxigênio atmosférico da parte aérea para as raízes, como sugerido por (SHIMAMURA et al., 2010; BRACHO-NUNEZ et al., 2012; ASHRAF, 2012). Além disso, relata-se que essas estruturas poderiam eliminar compostos produzidos como subprodutos do metabolismo anaeróbico, como o etanol, CO_2 e CH_4 (ASHRAF, 2012).

A formação de lenticelas hipertróficas também foi relacionada à sobrevivência das plantas ao alagamento por Davanzo-Fabro et al. (2003), trabalhando com plantas jovens de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb por 56 dias sob alagamento, Povh et al. (2005) em *Chorisia speciosa* ST. HIL mantidas sob alagamento por 30, 60 e 100 dias, Medri et al. (2007) em *Lithraea molleoides* Engl alagadas por 35 dias, Batista e al. (2008), estudando plantas jovens de *C. pachystachya* submetidas ao alagamento por 30 dias, Martinez et al. (2011) em *H. crepitans* sob saturação hídrica por 90 e 120 dias

Por outro lado, Lopez e Kursar (2003) verificaram que o surgimento expressivo de lenticelas hipertróficas em plantas jovens de *V. surinamensis* (Rol. ex Rottb.) Warb e *Anacardium excelsum* (Balb. ex Kunth) Skeels submetidas ao alagamento por 90 dias, não foram correlacionadas com a tolerância das plantas ao alagamento.

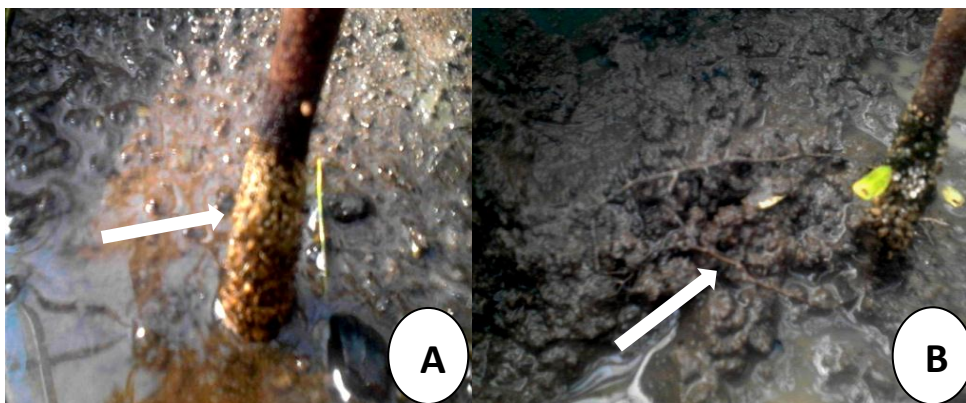


Figura 3. Caule de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento. Detalhe das lenticelas hipertróficas (A) e raízes adventícias (B).

A formação de raízes adventícias é citada como uma estratégia de tolerância que possibilita a sobrevivência e ou recuperação do crescimento de plantas em condições de alagamento (EZIN et al., 2010). Isso ocorre porque essas raízes podem melhorar a absorção de água, oxigênio e nutrientes como forma de compensar a redução do sistema radicular original (GONG et al., 2007; EZIN et al., 2010).

Para Rättsch e Haase (2007) e Kolb e Joly (2009), as raízes adventícias são estruturas importantes em plantas sob alagamento por se conectarem a espaços intercelulares parenquimatosos, facilitando o transporte de oxigênio da parte aérea para

o sistema radicular. Além disso, a formação das mesmas também tem sido associada com a maior tolerância das plantas ao alagamento e a produção de etileno (STEFFENS et al., 2006), as quais foram observadas em *Pachira aquatica* Aublet e *A. excelsum* (LOPEZ; KURSAR, 2003), *C. speciosa* (POVH et al., 2005), *C. pachystachya* (BATISTA et al., 2008), *P. glomerata* (MAURENZA et al., 2009) *H. crepitans* (MARTINEZ et al., 2011) e *A. sellowiana* (MEDRI et al., 2011), *Alnus subcordata* (GHANBARY et al., 2012) durante o período em que as plantas foram submetidas ao alagamento.

Povh et al. (2005) relacionaram o surgimento das raízes adventícias aos 60 dias de alagamento em *C. speciosa* ao aparecimento das lenticelas hipertróficas que ocorreram aos 30 dias nas plantas alagadas. Entretanto, Islam e Macdonald (2004), trabalhando com plantas jovens de *P. mariana* e *L. laricina* verificaram o surgimento das raízes adventícias, mas não foi observado o surgimento das lenticelas hipertróficas nas plantas alagadas por após 16 dias.

Gregório et al. (2008) atribuíram a alta mortalidade das plântulas de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) quando submetidas ao alagamento a não formação de raízes adventícias que poderiam facilitar a difusão do oxigênio. No entanto, não foi observada a formação de raízes adventícias ou o seu desenvolvimento foi insignificante em plantas de *V. surinamensis* e *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC (LOPEZ; KURSAR, 2003), *Copernicia prunifera* (MILL) H. E. MOORE (ARRUDA; CALBO, 2004) e em *L. molleoides* (MEDRI et al., 2007) sob condições de alagamento, mas sobreviveram a tal período de estresse.

Neste estudo, devido a formação de raízes adventícias terem sido visualizadas somente no final do experimento em 40% das plantas alagadas, essas raízes parece não ter sido importante para a sobrevivência das plantas jovens de fava-atanã pelo período em que foram submetidas ao alagamento. Visto que, na maioria dessas plantas alagadas não foram visualizadas raízes adventícias, mas sobreviveram aos 16 dias de alagamento. Este fato pode ser atribuído a formação de outras estruturas como as lenticelas hipertróficas na base do caule das plantas alagadas, como observada neste trabalho.

Com relação à anatomia das raízes primárias e secundárias de *P. gigantocarpa*, submetidas ao alagamento do solo, de modo geral, quando comparada às mantidas em solo com capacidade de campo, durante o período experimental, não apresentaram diferenças estruturais significativas.

A raiz primária, em crescimento secundário, apresenta contorno cilíndrico (Figura 4 A), exibindo uma periderme com camadas de células tabulares com conteúdo denso e avermelhado quando coradas com safranina (Figuras 4 A e B), assim como a presença de lenticelas em ambos os tratamentos (Figura 4 F).

O córtex é constituído por células parenquimáticas, com paredes lignificadas e grupos de células esclerificadas, tanto na periferia, quanto próximo ao floema (Figura 4 B e D). Nesta região, ainda ocorrem idioblastos com conteúdo avermelhado e cristais prismáticos (Figura 4 B), que se tornaram mais evidentes a partir dos 12º dia, em ambos os tratamentos. O câmbio apresentou-se ativo e bidirecional, com floema e xilema secundários bem desenvolvidos (Figuras 4 A e B), além de abundantes grãos de amido ao redor dos vasos metaxilemáticos, os quais foram evidenciados em luz polarizada, nas raízes primárias sujeitas ao alagamento (Figura 4 E). Ao centro, foi observado elementos de protoxilema (Figura 4 C).

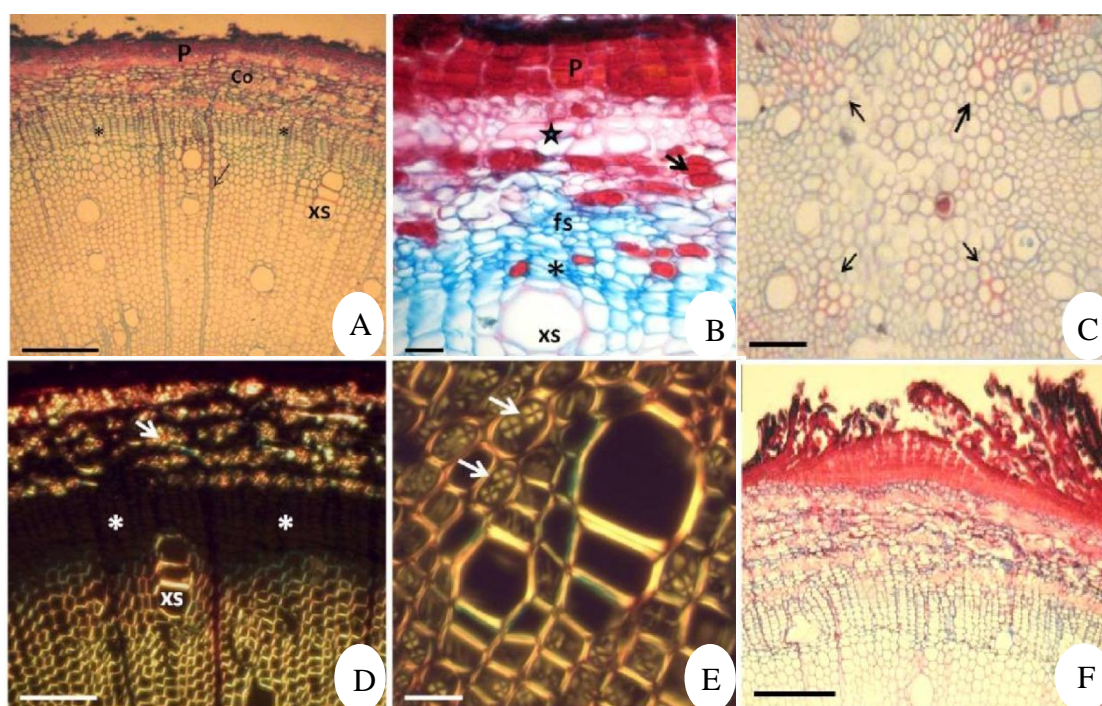


Figura 4 A-F. *Parkia gigantocarpa*, raiz primária, em crescimento secundário, em seção transversal. Submetida ao tratamento controle (A, B e C) e alagado (D, E e F). (A) vista geral, evidenciando a região periférica, cambial e vascular, notar raio de células parenquimáticas (seta). (B) detalhe da região periférica evidenciando a periderme, região cortical exibindo células esclerificadas (estrela), câmbio vascular (asterisco), além de idioblastos com conteúdo avermelhado (seta) a partir do 12º dia de tratamento. (D e E) estruturas birrefringentes em luz polarizada, evidenciando paredes lignificadas das células esclerificadas do córtex (seta), xilema secundário e grãos de amido ao redor dos vasos-seta-(E). (C) região medular evidenciando protoxilemas (setas). (F) detalhe da lenticela. Abreviaturas: co=córtex, fs: floema secundário, P: periderme, xs: xilema secundário. Escalas: A=150µm; B, C, D, 5=50µm; E=20µm; F=100µm.

As raízes secundárias apresentam contorno circular em estrutura primária (Figura 5 A), com três regiões distintas: epidérmica, córtex e vascular. A camada

epidérmica é unisseriada, constituída por células heterodimensionais e recoberta por uma cutícula delgada. No córtex ocorrem cerca de 10-11 camadas de células parenquimáticas (Figura 5 B). Nesta região as células parenquimáticas localizadas próximo à periferia e a endoderme das amostras do tratamento alagado apresentaram, aos 16 dias, o início do processo esquizógeno de pequenas lacunas de ar (Figuras 5 D e F), onde os espaços intercelulares se mostraram visivelmente conspícuos. Foi visualizado também que a endoderme apresentou conteúdo amarelado *in natura* e avermelhado quando corado com safranina (Figura 5 C), circundando o cilindro vascular. Este por sua vez, apresentou-se diferenciado (Figura 5 E). Associado ao floema e xilema foi observado idioblastos com conteúdo avermelhado (Figura 5 C).

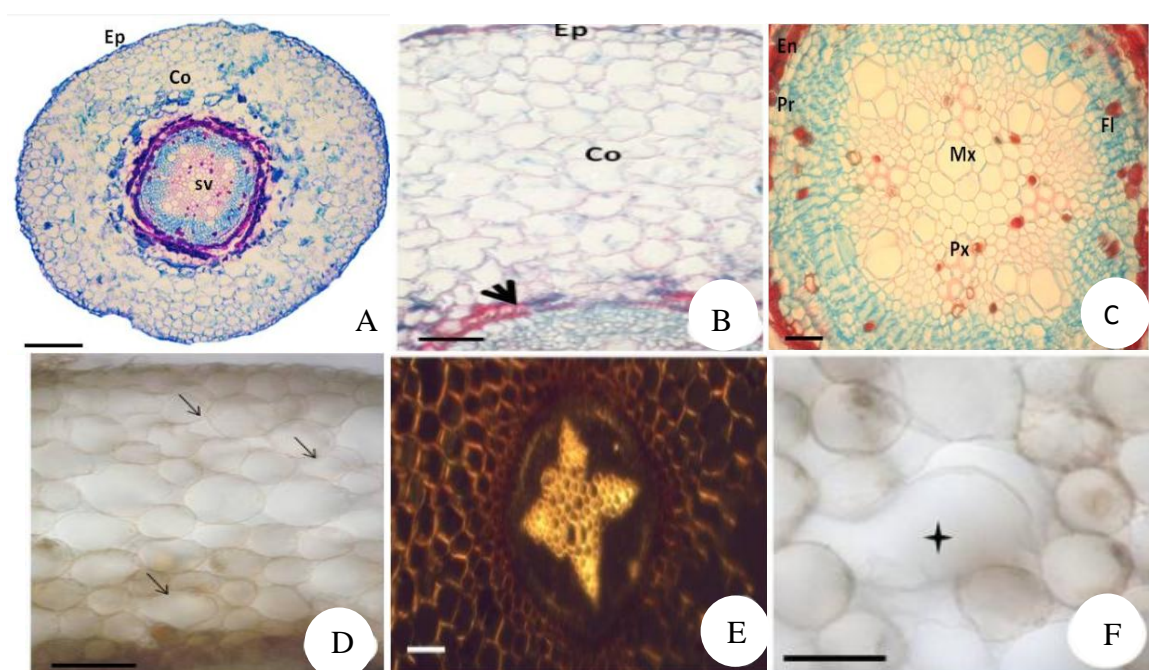


Figura 5 A-F. *Parkia gigantocarpa*, raiz secundária em seção transversal. Submetida ao tratamento controle (A, B, C) e alagado (D, E e F). (A) vista geral. (B) região periférica, córtex e sistema vascular, mostrando a endoderme (ponta de seta). (C) detalhe da região vascular, evidenciando paredes lignificadas dos vasos em desenvolvimento. (E) detalhe do sistema vascular em luz polarizada. (D) início da formação de lacunas na região do córtex, aos 16 dias de alagamento (setas). (F) detalhe da lacuna em formação (estrela). Abreviaturas: Ep: epiderme, co: córtex, Fl: floema; sv: sistema vascular, En: endoderme, Pr: periciclo, Mx: metaxilema, Px: protoxilema. Escalas: A=200µm; B, D=100µm; 9C, E=50µm; F=20 µm.

As plantas jovens de *P. gigantocarpa* não formaram aerênquima nas raízes primárias e secundárias durante o experimento. Contudo, foi observado o início de um processo esquizógeno formando pequenas lacunas de ar no parênquima cortical das raízes secundárias com 16 dias (Figura 5 D e F) de saturação hídrica do solo, o que deve ser uma resposta da planta a redução do oxigênio. O desenvolvimento de espaços intercelulares em raízes de plantas sob solo saturado de água pode aumentar a aeração dos tecidos radiculares (GRAFFMAN et al., 2008) e a difusão de gases nas raízes, bem

como entre a raiz e a parte aérea (BOURANIS et al., 2006; BAILEY-SERRES; VOESENEK, 2008), além de possibilitar a eliminação de produtos tóxicos produzidos nas raízes em função da fermentação (VISSER; PIERIK, 2007), favorecendo assim, a sobrevivência da planta em condições de hipóxia ou anóxia (BAILEY-SERRES; VOESENEK, 2008).

A formação de espaços intercelulares no tecido parenquimático cortical de raízes também foi observada aos 35 dias em *Lithraea molleoides* Engl. (MEDRI et al., 2007), 30 dias em *Cecropia pachystachya* Trécul (BATISTA et al., 2008) e 50 e 80 dias em *Aegiphila sellowiana* Cham. (MEDRI et al., 2011) sob saturação hídrica.

As raízes primárias e secundárias de *P. gigantocarpa*, em geral, não apresentaram alterações estruturais e biométricas significativas na região periférica, cortical e vascular no tratamento controle e alagado. Entretanto, foi verificado a ocorrência de abundantes grãos de amido ao redor dos vasos xilemáticos secundário das raízes primárias das plantas alagadas.

Resultados similares em relação ao acúmulo de amido foram obtidos por Calvo-Polanco et al. (2012) em raízes de plantas jovens de *L. Laricina* submetidas ao alagamento. Segundo esses autores, grandes quantidades de amido na raiz seriam necessários para fornecer energia suficiente a esses órgãos para suportar o seu crescimento e as funções metabólicas básicas sob condições alagadas. Para Gérard et al. (2009) o acúmulo de amido seria uma adaptação metabólica de espécies arbóreas tolerantes ao alagamento.

2.4 SINTOMATOLOGIA DAS PLANTAS

Sintomas de estresse ao alagamento, como epinastia, senescência foliar, abscisão das folhas mais velhas, redução do sistema radicular, formação das lenticelas hipertróficas e raízes adventícias foram visualizados durante o período experimental (Figura 6, 7 e 8). Tem sido evidenciado que grande número de plantas sob situações de alagamento reduzem o crescimento e o desenvolvimento de diferentes partes como estratégia de sobrevivência a essa condição.

Após quatro dias de alagamento começaram aparecer os primeiros sintomas de estresse, como a epinastia (Figura 6 A), que pode estar relacionada à produção do etileno. Neste período, também teve início a abscisão foliar e surgimento das lenticelas hipertróficas de cor esbranquiçada na base do caule (Figura 8 A). Com oito dias as

plantas continuaram a apresentar sinais de epinastia e abscisão foliar que se acentuaram aos 12 (Figura 6 C) e 16 dias (Figura 6 D). Neste último período, apareceram as raízes adventícias na base do caule (Figura 8 B). A intensa queda das folhas (Figura 6 D), especialmente as mais velhas, e a morte e ou inibição do crescimento das raízes (Figura 7 B) deve ter influenciado na diminuição da biomassa seca (Figura 2), na redução do potencial hídrico (Figura 2 A, B; Capítulo 2), condutância estomática (Figura 2 C; Capítulo 2), transpiração (Figura 2 D; Capítulo 2) e condutividade hidráulica (Figura 2 E; Capítulo 2).

A redução do sistema de raiz de *P. gigantocarpa* também deve ter causado alterações bioquímicas como a menor absorção de nitrato que deve ter afetado o metabolismo do nitrogênio, ocasionando a redução da nitrato redutase (Figura 3; Capítulo 2), glutamina sintetase (Figura 4; Capítulo 2), aminoácidos e proteínas solúveis totais das plantas alagadas (Figura 5; Capítulo 2). A redução nas variáveis fisiológicas devem ter provocado alterações no aparato fotossintético, resultando na redução do amido e sacarose das plantas sob alagamento (Figura 8; Capítulo 2). O aumento da prolina e glicina betaína (Figura 6; Capítulo 2), atividades da álcool desidrogenase e lactato desidrogenase (Figura 7; Capítulo 2) são outras alterações bioquímicas que também foram evidenciadas neste estudo e podem estar relacionadas as alterações morfofisiológicas e de crescimento citadas anteriormente.

Por outro lado, todas as plantas de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento sobreviveram até o final do experimento. Visto que o alagamento do solo reduz a disponibilidade de oxigênio para as raízes, a formação das raízes adventícias e, especialmente, as lenticelas hipertróficas devem ter sido importantes na captação de oxigênio e difusão desse gás da parte aérea para as raízes, possibilitado maior aeração dos tecidos da raiz, além de ter influenciado na fisiologia da planta, evitando maiores quedas de potencial hídrico (Figura 2 A, B; Capítulo 2), condutância estomática (Figura 2 C; Capítulo 2), transpiração (Figura 2 D; Capítulo 2) e condutividade hidráulica (Figura 2 E; Capítulo 2), permitindo a sobrevivência das plantas, até os 16 dias.

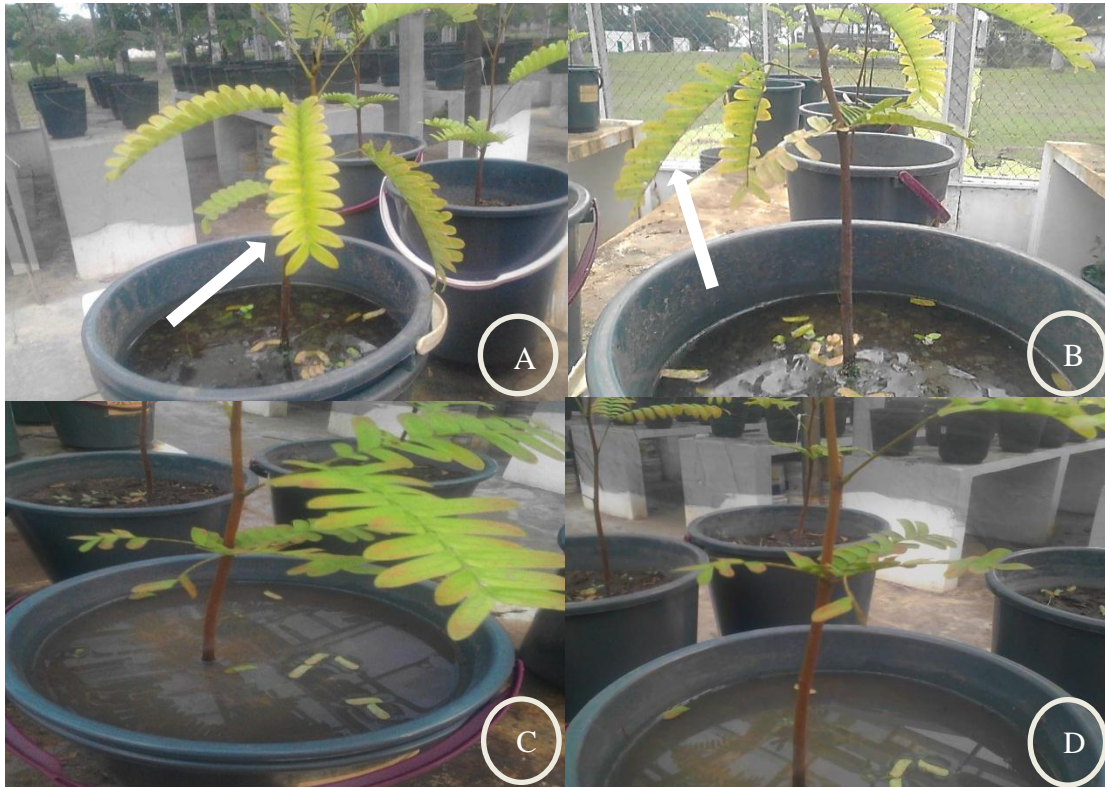


Figura 6. Epinastia (A, B, setas), senescência e abscisão foliar (C, D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* aos 4 dias (A), 8 dias (B), 12 dias (C) e 16 dias (D) de alagamento.



Figura 7. Raízes de plantas controle e alagadas de *P. gigantocarpa* aos 16 dias de alagamento.



Figura 8. Lenticelas hipertróficas e raízes adventícias em plantas jovens de *P. gigantocarpa* aos 16 dias de alagamento. Detalhe das raízes adventícias (seta).

2.5 CONCLUSÃO

O alagamento induziu a redução da altura, número de folhas, folíolos, MSPA, MSR, MST, razão R/PA;

O alagamento do solo induziu o aparecimento de lenticelas hipertróficas na base do caule, raízes adventícias e início do processo de formação esquizógeno de pequenas lacunas de ar no parênquima cortical da raiz secundária, estas estruturas são frequentemente associadas com a capacidade de sobrevivência sob condições de anóxia nas raízes em função da maior aeração destes órgãos, o que permite inferir a tolerância desta espécie ao alagamento do solo durante o período experimental;

O alagamento do solo durante dezesseis dias acarretou reduções no crescimento das plantas jovens de *P. gigantocarpa*, mas não afetou a sobrevivência dos indivíduos, sugerindo que essa espécie foi capaz de tolerar a saturação hídrica do solo pelo menos ao longo desse período.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

- ALAM, I.; SHARMIN, S.; A. KIM, K. H.; KIM, Y.G.; LEE, J. J.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Comparative proteomic approach to identify proteins involved in flooding combined with salinity stress in soybean. **Plant Soil**, v. 346, p. 45-62, 2011.
- 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**. [online]. v.18, n.2, p. 219-224, 2004.
- ASHRAF, M. A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.
- ATWELL, B.J.; DREW, M.C.; JACKSON, M.B. The influence of oxygen deficiency on ethylene synthesis, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid levels and aerenchyma formation in roots of *Zea mays*. **Physiologia Plantarum**, v.12, p. 15-22, 1988.

COLMER, T.D.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding tolerance: suites of plants traits in variable environments. **Functional Plant Biology**, v. 36, p. 665-681, 2009.

BAILEY-SERRES J.; VOESENEK L.A.C.J. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 313–339, 2008.

BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; MEDRI, E. B.; PIMENTA, C, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta botânica Brasilica**, v. 22, n. 91-98, p. 2008.

BERTOLDE, F.Z.; ALMEIDA, A.-A.F.; PIROVANI, C.P. GOMES, F.P.; AHNERT, D.; BALIGAR, V.C.; VALLE R.R. Physiological and biochemical responses of *Theobroma cacao* L. genotypes to flooding. **Photosynthetica**, v. 50, n. 3, p. 447-457, 2012.

BOURANIS, D.L.; CHORIANOPOULOU, S.N.; KOLLIAS C.; MANIOU, P.; PROTONOTARIOS, V.E.; SIYIANNIS, V.F.; HAWKESFORD, M.J. Dynamics of aerenchyma distribution in the cortex of sulfate -deprived adventitious roots of maize. **Annals of Botany**, v. 97, p. 695-704, 2006.

BRACHO-NUNEZ, A.; KNOTHE, N. M.; COSTA, W. R.; LIBERATO, M. A. R.; KLEISS, B.; ROTTENBERGER S.; PIEDADE, M. T. F.; KESSELMEIER, J. Root anoxia effects on physiology and emissions of volatile organic compounds (VOC) under short-and long-term inundation of trees from Amazonian floodplains. **Springer Plus**, v. 1, n. 9, 2012.

CALVO-POLANCO, M.; SEÑORANS, J.; ZWIAZEK, J. J. Role of adventitious roots in water relations of tamarack (*Larix laricina*) seedlings exposed to flooding. **Plant Biology**, p. 12-99, 2012.

COLMER, T.D.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding tolerance: suites of plants traits in variable environments. **Functional Plant Biology**, v. 36, p. 665-681, 2009.

DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, M E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A. Tolerância à inundação: Aspectos da anatomia ecológica e do desenvolvimento da *Sesbania virgata* (CAV.) Pers. (Fabaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, p. 475-482, 1998.

DAVANSO, V.M.; SOUZA, L.A.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A. BIANCHINI, E. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellaneda* Lor. Ex Griseb.

(Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 375-384, 2002.

DAVANSO-FABRO, V.M.; MEDRI, M.E.; SOUZA, L.A.; COLLI, S. *Tabebuia avellaneda* Lor. Ex Griseb. (Bignoniaceae) submitted at the flooding and the “Ethrel” and silver nitrate application. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, p. 57-64, 2003.

EMBRAPA. **SWNTIA (Programa Estatístico)**. Campinas, Centro Nacional de Pesquisa Tecnológica em Informática para a Agricultura - CNPTIA (Campinas, SP).

EVANS, D. E. Tansley review Aerenchyma formation. **New Phytologist**, v. 161, p. 35-49, 2003.

EZIN, V.; DE LA PENA, R.; AHANCHEDE, A. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 1, p. 131-142, 2010.

GHANBARY, E.; TABARI, M.; GONZÁLEZ, E.; ZARAFSHAR, M. Morphophysiological responses of *Alnus subcordata* (L.) seedlings to permanent flooding and partial submersion. **International Journal of environmental sciences**, v. 2, n. 3, 2012.

GÉRARD, B.; ALAOUÏ-SOSSÉ B.; BADOT, PM. Flooding effects on starch partitioning during early growth of two oak species. **Trees Struct Funct**, v. 23, p. 373-380, 2009.

GERLACH, D. Botanische Mikrotechnik, Eine Einführung. **Georg Thieme Verlag, Stuttgart**, 1969.

GIMENO, V.; SYVERTSEN, J P.; SIMÓN, S. I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47-55, 2012.

GLENZ, C.; CHLAEPFER R.; IORGULESCU, I.; KIENAST, F. Flooding tolerance of Central European tree and shrub species. **Forest Ecology and Management**, v. 235, p. 1-13, 2006.

GRAFFMANN, K.; GROSSE, W.; JUNK, J.; PAROLIN, P. Pressurized gas transport in Amazonian floodplain trees. **Environmental and Experimental Botany**, v. 62, n. 3, p. 371-37, 2008.

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**, v. 6, n. 2, p. 91-98, 2008.

GREENWAY, H.; GIBBS, J. Review: Mechanisms of anoxia tolerance in plants. II. Energy requirements for maintenance and energy distribution to essential processes. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 999-1036, 2003.

HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; GOULART, P. F. P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E. M. Physiological and anatomical characteristics of Sibipiruna plants under hipoxia. **Ciência Rural**, v. 40, n.1, p. 70-76. 2010.

HERSCHBACH, C.; MULT, S.; KREUZWIESER, J.; KOPRIVA, S. Influence of anoxia on whole plant sulphur nutrition of flooding-tolerant poplar (*Populus tremula* x *P.alba*). **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 167-175, 2005.

HOPKINS, H. C. F. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **Flora Neotropica**. Monograph, v. 43, p. 74-77, 1986.

HORCHANI, F.; HAJRI, R.; KHAYATI, H.; ASCHI-SMITI, S. Physiological Responses of Tomato plants to the Combined Effect of Root Hypoxia An NaCl-salinity. **Journal of Phytology**, v. 2, n.11, p. 36-46, 2010.

ISLAM, M. A.; MACDONALD, S. E. Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. **Trees**, v. 18, p.35-42, 2004.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523p.

KABRICK, J. M.; DEY D. C.; VAN SAMBEEK, J. W.; COGGESHALL, M.V.; JACOBS, D. F. Quantifying flooding effects on hardwood seedling survival and growth for bottomland restoration. **New Forests**, v. 43, p. 695-710, 2012.

KATZ, E.; RIOV, J.; WEISS, D.; GOLDSCHMIDT, E. E. The climacteric-like behaviour of young, mature and wounded citrus leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 415, p. 1359-1367, 2005.

KOLB, R.M.; JOLY, C.A. Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: metabolic, morphological and growth responses. **Flora**, v. 204, p. 528-535, 2009.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v.1 p.1-29, 1997.

LENHARD, N. R.; SCALON, S. P. Q.; NOVELINO, J. O. CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE PAU FERRO (*Caesalpinia ferrea* MART. ex Tul. var. *leiostachya* Benth.) SOB DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS. **Ciência Agrotécnica**, v. 34, n. 4, p. 870-877, 2010.

LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**. v.25, p.148-157, 2001.

LIN, K-H.; CHAO, P-Y.; YANG, C-M.; CHENG, W-C.; LO, H-F.; CHANG, T-R. The effects of flooding and drought stresses on the antioxidant constituents in sweet potato leaves. **Botanical Studies**, v. 47, p. 417-426, 2006.

LOPEZ, O. R.; KURSAR, T. A. Does flood tolerance explain tree species distribution in tropical seasonally flooded habitats? **Oecologia**, v. 136, p. 193-204, 2003.

MARTINEZ, G. B.; MOURÃO, M.; BRIENZA JUNIOR, S. Respostas Morfofisiológicas de Plantas de açacu (*Hura crepitans* L.) provenientes de várzeas do rio Amazonas: Efeito da anóxia do solo. **Revista Árvore**, v. 35, n. 6, p. 1155-1164, 2011.

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, p. 519 -526, 2009.

MAURENZA, D.; MARENCO, R. A.; PAROLIN, P. PIEDADE. M. T. F. Physiological responses to flooding and light in two tree species native to the Amazonian floodplains. **Aquatic Botany**, v. 96, p. 7-13, 2012.

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

MEDRI, C.; MEDRI, M. E.; RUAS, E. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN, S.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A. Morfoanatomia de órgãos vegetativos de plantas juvenis de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae) submetidas ao alagamento do substrato. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 2, p. 445-454, 2011.

MEDRI, C.; PIMENTA, J. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN, S.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E. O alagamento do solo afeta a sobrevivência, o crescimento e o metabolismo de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? Soil flooding affects the survival, growth and metabolism of *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 123-134, 2012.

MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.F.; GOMES, F.B.; AGUILAR, M.A.G.; MANGABEIRA, P.A.O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 221-231, 2003.

MIELKE, M.S.; MATOS, E. M.; COUTO, V. B.; ALMEIDA, A. F. GOMES, F. P.; MANGABEIRA, P. A. O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding. **Acta botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, p. 905-911, 2005.

OLIVEIRA, V.C.; JOLY, C.A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth responses. **Trees – Structure and Function**, v. 24, p. 185-193, 2010.

OLIVEIRA, A. K. M. DE.; RIBEIRO, J. W. F.; PEREIRA, K. C. L.; RONDON, E. V.; BECKER, T. J. A.; BARBOSA, L. A. Superação de dormência em sementes de *Parkia gigantocarpa* (FABACEAE – MIMOSIDAE). **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 533-540, 2012.

PAROLIN, P. Submergence tolerance vs. escape from submergence: two strategies of seedling establishment in Amazonian floodplains, **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, n. 2, p. 177-186, 2002.

PAROLIN, P.; DE SIMONE, O.; HAASE, K.; WALDHOFF, D.; ROTTENBERGER, S.; KUHN, U.; KESSELMEIER, J.; KLEISS, B.; SCHMIDT, W.; PIEDADE, M. T F.; JUNK, W. J. Central Amazonian floodplain forests: tree adaptations in a pulsing system. **The Botanical Review**, v. 70, n. 3, p. 357-380, 2004.

PAROLIN, P. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. **Annals of Botany**, v. 103, p. 359-376, 2009.

PAROLIN, P.; WITTMANN, F. 2010. Struggle in the flood – Tree responses to flooding stress in four tropical floodplain systems. **AoB Plants**, 2010. Disponível em: <<http://aobpla.oxfordjournals.org/content/2010.toc>>. Acesso em: 15 dez. 2012.

PEZESHKI, S.R. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 46, p. 299-312, 2001.

PISICCHIO, C. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; SERT, M. A.; DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, M. E. *Heliocarpus popayanensis* Kunth (Malvaceae) tolera a hipoxia do substrato?. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 2, p. 201-209, 2010.

POVH, J. A.; RUBIN FILHO, C. J.; MOURÃO, K. S. M.; DIAS PINTO, D. Respostas morfológicas e anatômicas de plantas jovens de *Chorisia speciosa* A. St.Hil. (Bombacaceae) sob condições de alagamento. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 27, n.3, p.195-202, 2005.

RÄTSCH, G.; HAASE, K. Internal root aeration and anatomic prerequisites of three tree species of the Amazonian inundation forest. **Amazoniana**, v. 19, n. 185-197, 2007.

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

SHABALA, S. Physiological and cellular aspects of phytotoxicity tolerance in plants: the role of membrane transporters and implications for crop breeding for waterlogging tolerance. **New Phytologist** (2010). Disponível em: <http://www.plantstress.com/articles/up_waterlogging_files/waterlogging-toxicity.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2012.

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

SLEWINSKI, T.L.; BRAUN, D.M. Current perspectives on the regulation of whole-plant carbohydrate partitioning. **Plant Science**, v. 178, p. 341-349, 2010.

STEFFENS, B.; WANG J.; SAUTER M. Interactions between ethylene, gibberellin and abscisic acid regulate emergence and growth rate of adventitious roots in deepwater rice. **Planta**, v. 223, p. 604-612, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 819p.

VIDAL, E.; VIANA, V. M.; BATISTA, J. L. F. Crescimento de floresta tropical três anos após colheita de madeira com e sem manejo florestal na Amazônia oriental. **Scientia forestalis**, n. 61, p. 133-143, 2002.

VISSER, Eric J.W. VOESENEK Laurentius A.C.J. Acclimation to soil flooding – sensing and signal-transduction. **Plant and Soil**, v. 254, p. 197-214, 2004.

VISSER, E.; PIERIK, R. Inhibition of root elongation by ethylene in wetland and non-wetland plant species and the impact of longitudinal ventilation. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, p. 31-38, 2007.

YIN, C.; PANG, X.; CHEN, K. the effects of water, nutrient availability and their interaction on the growth, morphology and physiology of two poplar species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, p. 196-203, 2009.

CAPÍTULO 2

3. RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE *Parkia gigantocarpa* Ducke SOB ALAGAMENTO

Waldemar Viana de Andrade Júnior, Benedito Gomes Santos Filho, Cândido Ferreira Oliveira Neto.

RESUMO

Parkia gigantocarpa é uma árvore Neotropical que ocorre naturalmente em mata de terra firme e várzea alta. Para avaliar a magnitude das respostas fisiológicas e bioquímicas, plantas jovens de *P. gigantocarpa* foram submetidas experimentalmente a dois regimes hídricos. O alagamento foi imposto em aproximadamente 5 cm de lâmina acima da superfície do solo usando vasos com capacidade de 14 Kg de substrato. Plantas não alagadas (controle) foram irrigadas diariamente, próximo a capacidade de campo. Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), condutância estomática (g_s), transpiração (E), condutividade hidráulica (K_L), concentração de nitrato, nitrato redutase (NR), amônio livre, glutamina sintetase (GS), aminoácidos solúveis totais (AST), proteínas solúveis totais (PST), amido, prolina, glicina betaína (GB), álcool desidrogenase (ADH), lactato desidrogenase (LDH), sacarose e carboidratos solúveis totais (CST) foram avaliados a 0, 4, 8, 12 e 16 dias. A redução significativa do Ψ_x e a K_L foi contínua até o 8º dia nas plantas alagadas, tendendo a estabilização a partir deste período. A g_s e a E foram reduzidas continuamente até os 16 dias nas plantas sob alagamento. A concentração de nitrato, NR, amônia livre, GS, AST, PST, amido reduziram significativamente, especialmente, nas folhas das plantas alagadas. O alagamento aumentou acentuadamente a prolina e GB, principalmente, nas folhas. A atividade da ADH foi significativamente maior na raiz das plantas alagadas, especialmente, no 16º dia. Neste mesmo período a atividade da LDH atingiu os maiores valores, principalmente, nas folhas das plantas saturadas de água. O alagamento reduziu significativamente a concentração de sacarose nas folhas e aumentou nas raízes, mas apenas para os primeiros 4 dias. A concentração de CST aumentou, especialmente, nas raízes das plantas alagadas. Os resultados obtidos indicam que as plantas jovens de fava atanhã foram capazes de tolerar o período em que foram submetidas ao alagamento.

Palavras-chave: Potencial hídrico, prolina, álcool desidrogenase.

ABSTRACT

Parkia gigantocarpa is a Neotropical tree that occurs naturally in the woods of solid ground and high floodplain. To assess the magnitude of the physiological and biochemical, young plants of *P. gigantocarpa* were experimentally subjected to two water conditions. Flooding was imposed on the blade approximately 5 cm above the soil surface using vases with 14 kg of substrate capacity. Non-flooded plants (control) were irrigated daily, close to field capacity. Predawn water potential (Ψ_{am}), leaf water potential of the xylem (Ψ_x), stomatal conductance (g_s), transpiration (E), hydraulic conductivity (K_L), nitrate concentration, nitrate reductase (NR), free ammonia, glutamine synthetase (GS), total soluble amino acids (TSA), total soluble proteins (TSP), starch, proline, glycine betaine (GB), alcohol dehydrogenase (ADH), lactate dehydrogenase (LDH), sucrose and total soluble carbohydrates (TSC) were evaluated 0, 4, 8, 12 and 16 days. A significant reduction in Ψ_x K_L and was continued until the 8th day flooded plants, tending to stabilize from this period. The g_s and E were reduced continuously until the 16 days the plants under flooding. The concentration of nitrate, NR, free ammonia, GS, AST, PST, starch significantly reduced, especially in the leaves of flooded plants. Flooding markedly increased proline and GB, mainly in the leaves. ADH activity was significantly higher in the roots of flooded plants, especially in the 16th day. In this same period, the LDH activity reached the highest values mainly in plant leaves saturated with water. Flooding significantly reduced the sucrose concentration in leaves and increased in roots, but only for the first 4 days. The concentration of TSC increased, especially in wetland plant roots. The results indicate that fava atanã young plants were able to tolerate the period during which were subjected to flooding.

Keywords: Water potential, proline, alcohol dehydrogenase.

3.1 INTRODUÇÃO

Devido às mudanças climáticas globais, existem previsões de eventos climáticos extremos, como as chuvas excessivas, que poderão afetar a duração e a intensidade do alagamento em determinadas regiões (IPCC, 2007; NOBRE; SAMPAIO; SALAZAR, 2007).

A ausência de oxigênio no solo devido o alagamento, reduz o sistema de raiz e o crescimento da parte aérea das árvores afetando negativamente os processos fisiológicos de muitas plantas, incluindo a condutância estomática, a fotossíntese e a condutividade hidráulica da raiz e consequentemente a síntese e translocação de fotoassimilados (KOZLOWSKI, 1977; PARENT et al., 2008). A diminuição da condutância estomática (gs) é uma das primeiras respostas ao estresse ambiental (CENTRITO et al., 2003), mesmo em espécies arbóreas relativamente tolerantes ao alagamento, como em *Cecropia pachystachya* Trec. (BATISTA et al., 2008), sendo, portanto, a estratégia mais eficiente para restringir ou reduzir as perdas de água pelas folhas via transpiração.

O fechamento estomático pode contribuir para a preservação do potencial hídrico foliar, que de outra forma diminui devido à redução da condutividade hidráulica das raízes (KREUZWIESER et al., 2004). Assim, o fechamento estomático, a redução da transpiração e a manutenção do potencial hídrico foliar, são estratégias desenvolvidas pelas plantas em condições de alagamento que podem inibir a dessecação (DAVANSO, et al., 2002).

Os carboidratos solúveis totais (CST) como a sacarose, glicose ou frutose são de particular importância por causa de sua relação direta com a respiração (ISLAM; MACDONALD, 2004). Entretanto, em plantas sob condições de alagamento essas substâncias podem ser alteradas nas raízes e parte aérea. O aumento desses compostos nas folhas, por exemplo, ocorre devido o acúmulo de amido (HSU et al., 1999) ou à diminuição na sua translocação, que é severamente reduzida por numerosas espécies não tolerantes (BERTOLDE et al., 2010). Nas raízes, a mudança mais importante nessas condições é a dissimilação da glicose respiratória em glicose fermentativa com baixa produção de energia (DREW, 1997), resultando na diminuição da absorção de nutrientes para as plantas (ROCHA et al., 2010), interferindo, por exemplo, na absorção de nitrato, que ocasiona alterações na atividade da redutase do nitrato (ARN) e glutamina sintetase (GS) influenciando no metabolismo do nitrogênio total e diversos aminoácidos (LIAO; LIN, 2001), proteínas e enzimas (SAIRAM, et al., 2008).

A GS parece exercer um importante controle na concentração de NH_4^+ e na síntese de aminoácidos e consequentemente de proteínas celulares e a sua inibição poderá resultar em acúmulo de NH_4^+ , podendo assim causar a morte da planta (HORCHANI; ASCHI-SMITI., 2010).

Por outro lado, estudos têm demonstrado que em plantas submetidas à deficiência de oxigênio, os processos de decomposição de açúcar, como a glicólise e a fermentação estão associados a indução da síntese de diversas proteínas de estresse (ALAM et al., 2011). Enzimas da via fermentativa como a lactato desidrogenase (LDH), a piruvato descarboxilase (PDC) e álcool desidrogenase (ADH) são sintetizadas nessas condições (ZABALZA et al., 2009) e a atividade dessas enzimas pode ser indicativo de uma possível resposta de adaptação da planta ao alagamento, ainda que não se conheça qual a extensão da contribuição e como elas se relacionam em baixo teor de O_2 (DENNIS et al., 2000).

Embora tenha sido relatado que a glicina betaína (ASHRAF; FOOLAD, 2007) e a prolina desempenham papel importante no ajustamento osmótico de plantas submetidas a situações de estresse hídrico e salino (JALEEL et al., 2007), informações sobre os efeitos dessas substâncias em plantas sob alagamento ainda é limitado e precisam ser esclarecidos.

Nos últimos anos a recuperação de áreas alteradas vem se tornando um grande desafio para os gestores ambientais. Neste sentido, identificar espécies tolerantes ao alagamento, incluindo espécies arbóreas com potencial econômico e ambiental, pode ser uma alternativa viável para a recomposição destas áreas.

Parkia gigantocarpa (fava atanã) é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente na Amazônia Brasileira. Em função de seu rápido crescimento, uniformidade, baixa taxa de mortalidade e potencial econômico e ecológico é apontada como espécie promissora para recuperação de áreas alteradas ou degradadas, especialmente aquelas de preservação permanente. Além disso, pode ser usada em sistemas de silvicultura. No entanto, não há informações sobre o seu comportamento ecofisiológicos e bioquímicos em situações de alagamento. Assim, o entendimento sobre o comportamento de espécies arbóreas especialmente na fase inicial de seu desenvolvimento em condições de alagamento podem subsidiar projetos de reflorestamento de áreas alteradas.

Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar a magnitude das respostas ecofisiológicas e bioquímicas de plantas jovens de *Parkia gigantocarpa* Ducke em condições de alagamento.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local do experimento

O experimento e as análises bioquímicas foram realizados, respectivamente, em casa de vegetação e no Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencentes ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém, PA, Brasil, (01°28'03"S, 48°29'18"W) no período de 23/07/2012 a 23/09/2012.

3.2.2 Formação das mudas

Para a formação das mudas de Fava atañã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) foram utilizadas sementes coletadas na Fazenda Rio Capim, 03°41'07,2"S, 48°38'04.0"W, pertencente a Cikel Brasil Verde Madeiras Ltda., localizada no município de Paragominas - PA, distante cerca de 320 km de Belém - PA.

As sementes foram previamente escarificadas com esmeril elétrico na região lateral próxima ao hilo e imediatamente foram semeadas em bandejas de plástico, com capacidade de 5L, contendo areia e serragem esterilizada misturadas na proporção de 1:1. Após a emergência (8 dias depois do semeio), as mudas foram repicadas para sacos de polietileno preto-opaco de 25 cm de altura x 15 cm de diâmetro com perfurações laterais, contendo como substrato uma mistura de (i) terra preta, constituída do solo latossolo amarelo, textura média, previamente seco ao ar e retiradas as impurezas através dos processos de peneiramento e catação, (ii) serragem curtida e (iii) esterco de boi na proporção de 3:2:1, respectivamente

As mudas foram mantidas em viveiro durante 02 meses. Após este período as plantas jovens foram selecionadas uniformemente considerando altura, diâmetro do caule, número de folhas e número de folíolos e, posteriormente, foram transferidas para vasos plásticos com capacidade de 14 Kg, contendo o mesmo substrato usado na repicagem. Em seguida, os vasos com as plantas jovens foram levados para a casa de vegetação onde passaram por um período de aclimação de 45 dias.

3.2.3 Tratamentos utilizados e condução das plantas

No final do período de aclimação, cinquenta plantas jovens de fava-atanã, com cerca de 4 meses de idade, foram submetidas a dois regimes hídricos: (i) irrigado diariamente (vinte e cinco plantas) para repor a água perdida por evapotranspiração, feita individualmente para cada vaso, levando em consideração as pesagens diárias do conjunto (vaso + planta + solo), (plantas controle) e (ii) alagadas (vinte e cinco plantas), manutenção da lâmina d'água de cerca de 5 cm acima do nível do solo. As plantas dos tratamentos controle e alagadas permaneceram 16 dias nessas condições. Os vasos contendo as plantas jovens sob alagamento foram vedados para evitar a drenagem da água. Os vasos foram etiquetados para a identificação de cada tratamento e tempo ao longo do experimento.

Os resultados das análises de solo realizadas no Laboratório de Solos da EMBRAPA Amazônia Oriental não indicaram a necessidade de nenhuma correção.

Tabela 1. Propriedades químicas e físicas do solo na profundidade de 0-20 cm.

ANÁLISE QUÍMICA									
pH	N	MO	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al
H ₂ O	%	g/Kg	-----mg/dm ³ -----			-----cmol _c /dm ³ -----			
5,1	0,29	96,16	120	263	252	2,4	4,0	0,2	5,61
ANÁLISE DE MICRONUTRIENTES									
		Cu	Mn	Fe	Zn				
		-----Mg/Kg-----							
		3,0	14,7	195,1	13,2				
ANÁLISE GRANULOMÉTRICA									
Areia grossa			Areia fina			Silte		Argila total	
485			164			232		120	

3.2.4 Variáveis estudadas

3.2.4.1 Ambientais

As variáveis ambientais, como a temperatura e a umidade relativa do ar, foram determinadas ao longo das medições de trocas gasosas, utilizando-se um termo-higrômetro (mod. 5203, Incoterm, RS, Brasil). O déficit de pressão de vapor d'água entre a folha e a atmosfera (DPV_{FA}) foi estimado matematicamente, segundo Landsberg (1986), levando-se em conta a temperatura do ar (T_{ar}), umidade do ar (UR) e a temperatura da folha (T_{fol}) em cada período de avaliação.

3.2.4.2 Biofísicas

A determinação da temperatura da folha (T_{fol}), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) foram obtidas através do porômetro portátil de equilíbrio dinâmico

(mod. Li 1600, Licor, Nebraska, USA) sob luz e CO₂ ambientais. A radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foi determinada utilizando-se um sensor quântico acoplado ao porômetro.

Como amostra, foram selecionados folíolos medianos do terceiro par de folhas maduras completamente expandidas, contados a partir do ápice. As medições foram realizadas nos tempos, 0, 4, 8, 12 e 16 dias, sempre no horário das 10:00 h as 12:00 h, coincidindo com a retirada das amostras para as análises bioquímicas.

O potencial hídrico foi determinado na antemanhã (Ψ_{am}), entre 4:30 e 5:30h e entre 10:00 h e 12:00 h (potencial hídrico do xilema, Ψ_x), utilizando-se uma Bomba de Pressão de Scholander (mod. PMS Instrument Co, Corvalles, USA), Conforme descrito por Turner (1981). As medições foram realizadas nos tempos 0, 4, 8, 12 e 16 dias.

A condutividade hidráulica foi calculada de acordo com Hubbard et al. (1999) e Donovan et al. (2000), utilizando-se a seguinte formula:

$$K_L = (g_s \times DPV_{fa}) / (\Psi_{am} - \Psi_x)$$

Onde:

K_L : Condutividade hidráulica;

g_s : Condutância estomática;

DPV_{fa} : déficit de pressão de vapor d'água entre a folha e a atmosfera

Ψ_{am} : potencial hídrico de antemanhã

Ψ_x : potencial hídrico do xilema

3.2.4.3 Bioquímicas

3.2.4.3.1 Determinação das concentrações de nitrato

Foi utilizado o método de Cataldo et al., (1975). Amostras de 50 mg de folhas e raízes previamente liofilizadas, foram pesadas e adicionadas em tubos de ensaio contendo 5,0 mL de água destilada, e estes incubados em banho-maria por 30 minutos a 100 °C. Em seguida, este quantitativo foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos e retirado o sobrenadante.

A reação foi preparada em tubo de ensaio contendo 100 µL do extrato + 200 µL de solução de ácido salicílico 5 % (p/v), em ácido sulfúrico concentrado. Após vigorosa agitação em agitador do tipo vortex, os tubos foram adicionados lentamente 4700 µL de NaOH 2N. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso até atingirem a temperatura ambiente por cerca de 20 minutos.

Após este processo, foram feitas leituras em espectrofotômetro na absorvância de 410 nm. O branco foi feito usando no ensaio água deionizada em substituição ao extrato. A concentração de nitrato foi obtida a partir de uma curva padrão com concentrações crescentes de NO_3^- (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 $\mu\text{mol mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em $\text{mmol de NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1} \text{ MS de tecido}$.

3.2.4.3.2 Determinação da Atividade da Redutase do Nitrato (ARN)

O método empregado foi o método *in vivo* preconizado por Hageman; Hucklesby (1971). Foram pesados, aproximadamente, 200 mg de discos das raízes e das folhas de 0,5 cm de diâmetro. As amostras foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH=7,5; contendo isopropanol 1% (v/v), KNO_3 mM e estes cobertos com papel alumínio (tratamento escuro). Em seguida, os tubos foram evacuados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Posteriormente, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos, na ausência de luz.

Em tubos de ensaio tipo pirex, foram adicionados alíquotas de 1 mL de tampão fosfato + 2 mL do extrato diluído + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de N-1 naftiletlenodiamina dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5 mL. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso por 15 minutos. A leitura foi no espectrofotômetro à 540 nm contra o branco (3,0mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO_2^- no meio de reação, sendo expressa em $\mu\text{moles de NO}_2^- \cdot \text{g.MF}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, a partir de uma curva-padrão obtida com KNO_2 p.a (Sigma).

3.2.4.3.3 Determinação das Concentrações de Amônio livre

Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das raízes e das folhas em pó, e colocados em tubos de ensaio de 15 mL, adicionando-se 5 mL de água destilada e levados ao banho-maria por 30 min a 100 °C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) e os sobrenadantes coletados para obtenção do extrato total.

Nos tubos de ensaio foram acrescentados 400 μL de extrato total + 2,5 mL da solução A (5 g de fenol + 0,025 g de nitroprussiato de sódio/ 500 mL de água destilada) e homogeneizado em vortex, acrescentando mais 2,5 mL da solução B (2,5 g de NaOH

+ 12,6 mL de hipoclorito de sódio/ 500 mL de água destilada) e foram agitados novamente em vortex, levando-os ao banho-maria por 20 min a 37 °C. Após esse período foram removidos do “banho-maria” e deixados em repouso por 40 min, em seguida, levados para fazer a leitura no espectrofotômetro a 625 nm e usando-se água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes como branco.

As concentrações de amônio livre foram estimadas a partir da curva-padrão construída com $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mmol de NH_4^+ / Kg de MS. Para isso utilizou-se o método descrito por (WEATHERBURN, 1967).

3.2.4.3.4 Determinação das Concentrações de Glutamina Sintetase (GS)

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

A reação foi preparada em tubo de ensaio, com 600 μL de tampão de reação TRIS-HCl 0,25 M, pH 7 + 200 μL de glutamato de sódio 0,3 M, pH 7 + 200 μL de ATP 30 mM, pH 7 + 200 μL de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 M + 500 μL de extrato de folhas + 200 μL de solução de hidroxilamina (NH_2OH 1,0 M + NaOH 1,0 M na proporção 1:1). Foi misturado rigorosamente, em vortex e incubado em banho-maria à 30°C, por 30 minutos. Em seguida, foram removidos os tubos do banho-maria e adicionados 500 μL de solução férrica [$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 % (p/v) em HCl 0,2 M + ácido tricloroacético (TCA.) 24 % (p/v) + HCl 50 % (v/v) na proporção 1:1:1] e centrifugado em centrífuga de mesa a 7.000 g, durante 10 minutos.

A leitura foi feita em espectrofotômetro a 540 nm, usando-se água destiladas + reagentes (exceto solução de hidroxilamina) como branco. A atividade da glutamina sintetase (GS) foi determinada a partir da curva padrão de γ - glutamil-hidroximato e os resultados foram expressos mmoles de γ - glutamil-hidroximato/ kg MS de tecido/hora. A atividade da glutamina sintetase foi determinada pelo método “in vitro” segundo (KAMACHI et al., 1991).

3.2.4.3.5 Determinação das concentrações de aminoácidos solúveis totais (AST)

A concentração de aminoácidos solúveis totais (AST) foi determinada segundo método descrito por Peoples et al., (1989). Foram pesados 50mg de tecido vegetal liofilizado das folhas e raízes, e colocados em tubos de ensaio com 5mL de água deionizada, fechados hermeticamente e incubados em banho-maria a 100°C, durante 30 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 6.000 x g, por 10 minutos.

Após a extração o sobrenadante foi coletado e desenvolvido a reação para dosagem dos aminoácidos. Alíquotas de 0,1 mL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio e acrescidas água destilada. Em seguida 0,250mL de uma solução tamponada, pH 5,0, contendo 0.2 mol.L⁻¹ de citrato; 0,250 mL do reagente de ninhidrina (KCN 0,1 mmol.L⁻¹ e ninhidrina 5% em methoxy etanol) foi adicionado. Após misturar em vortex os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em “banho-maria”, no qual permaneceram pelo tempo de 15 minutos à temperatura de 100 °C.

Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo, momento em que foram adicionados 1,5 mL de uma solução de etanol 50% (v/v). Após isso, os tubos permaneceram por 20 minutos em temperatura ambiente e, em seguida, foram efetivadas leituras em espectrofotômetro, a 570nm, sendo os teores de aminoácidos livres totais, determinado com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de uma mistura padronizada de L – glutamina.

3.2.4.3.6 Determinação das concentrações das proteínas solúveis totais (PST)

As concentrações de proteínas solúveis totais foram determinadas segundo o método de Bradford (1976). Foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL 100 mg de pó da matéria seca (MS) das raízes e das folhas em 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25 mM pH 7,6). Em seguida os tubos, devidamente lacrados, ficaram sobre o processo de agitação durante 2 horas no agitador de mesa. Após esse processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 minutos). Em seguida, foram colocados nos tubos de ensaios 100 µL do sobrenadante após a centrifugação + 2,5 mL do reagente de Bradford.

Após este processo os tubos manualmente foram agitados delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Com 15 min de repouso as leituras foram realizadas no espectrofotômetro a 595 nm, contra o branco que encerra 100 µL de água + 2,5 mL do reagente de Bradford. As concentrações de proteínas solúveis totais foram estimadas a partir da curva-padrão construída com soro albumina bovina p.a (Sigma). Os resultados foram expressos em mg proteína/g MS.

3.2.4.3.7 Determinação das Concentrações de Prolina

Foram pesados 50 mg de massa seca das raízes e das folhas (MS) em pó e, em seguida, levados para tubos de ensaio de 15 mL onde foram adicionados 5 mL de água destilada e colocados em “banho-maria” durante 30 min a 100 °C. Após a extração, as amostras foram centrifugadas durante 20 minutos em centrífuga de bancada (1.000 rpm), logo após o processo de centrifugação, foram retirados 1 mL do sobrenadante coletado de cada amostra e transferido imediatamente para os tubos de ensaios, nos quais foram adicionados + 1,0 mL de ninhidrina ácida + 1,0 mL de ácido acético glacial (99,5%) (os tubos foram fechados hermeticamente) e agitados em vortex e colocados novamente em “banho-maria” a 100 °C por 1 hora.

Em seguida, a reação com banho de gelo e adicionando 2,0 mL de tolueno e agitado vigorosamente em vortex por 20 s (o tolueno extraiu a substância cromófora formando um complexo colorido = róseo para vermelho). Assim que atingiu a temperatura ambiente, realizou-se o processo de aspiração com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de plástico a fase não-aquosa (cromóforo + tolueno = parte superior). A leitura foi efetivada em espectrofotômetro a 520 nm usando tolueno como branco. As concentrações de prolina foram determinadas a partir da curva-padrão com L-prolina p.a (Sigma) e os resultados foram expressos em μmol prolina/g MS. Para isso, foi utilizado o método descrito por (BATES; WALDREN; TEARE, 1973).

3.2.4.3.8 Determinação das Concentrações de Glicina Betaína (Gb)

Foram transferidos 25 mg de massa seca das folhas e das raízes para tubos eppendorfs de 2 mL, sendo adicionados 2 mL de água destilada e agitado por 4 h no “shacker” a 25 °C (extração a frio), e centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos a 25 °C, após a centrifugação, foi coletado o sobrenadante para obtenção do extrato aquoso e descartado o precipitado. No eppendorfs de 2 mL foram adicionados 250 μL do extrato aquoso +250 μL de H_2SO_4 2N (diluição da amostra 1:2) e os eppendorfs permanecerão durante 1h no banho de gelo (na geladeira de - 0 a 4 °C), e adicionado 200 μL de KI-I_2 gelado, mantido durante 16h a 0 °C (banho de gelo na geladeira - 0 a 4 °C). O processo de centrifugação foi de 15 minutos, 10.000 rpm a 0 °C. Foi eliminado o sobrenadante.

Foi lavado o precipitado 2 vezes com 2 mL de H_2SO_4 1N gelado com centrifugações por 5 minutos, 10.000 rpm, 0 °C para cada lavagem (não agitar

enquanto estiver lavando). Após as lavagens, foi dissolvido o precipitado em 3 mL de 1,2-dicloroetano agitando vigorosamente e realizando-se diluições 1:6 (diluição para a curva) ou testadas outras maiores (1:12, 1:24 ou 1:48 para as amostras - a diluição vai depender da quantidade de glicina-betaína precipitada). Assim, depois de 2 a 2,5 h de descanso, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 365 nm, usando-se água destilada + reagentes, como branco. Durante todo o ensaio foram mantidas as amostras entre as temperaturas de 0 °C a 4 °C. Para os cálculos, uma curva padrão de glicina-betaína foi preparada e os resultados foram expressos em mmol.Kg⁻¹ MS. O método utilizado foi segundo (GRIEVE; GRATAN, 1983).

3.2.4.3.9 Atividades da álcool desidrogenase (ADH) e lactato desidrogenase (LDH)

Para a extração das enzimas, os tecidos vegetais foram homogeneizados em meio extrator, com a seguinte composição em mol.m⁻³: tampão Tris-HCl (pH 6,8), 50; Na⁺ 110; EDTA, 1; tiamina pirofosfato (TPP), 0.5; Mg⁺², 2,5 e ditioneitol (DTT), 2. Em seguida, foram centrifugados a 20000 g por 10 minutos a 4 °C. Alíquotas de 100 mL do sobrenadante foram adicionadas à mistura de incubação específica para cada enzima, cujo volume final será de 3 mL. A mistura de incubação para a álcool desidrogenase foi composta em mol.m⁻³ por tampão Tris-HCl (pH 8,9), 50; ditioneitol (DTT) 2; bNAD 0,25; e 100 mL de etanol a 96%. A reação foi quantificada na direção da oxidação do etanol (BERTANI et al., 1980).

A mistura de incubação para a lactato desidrogenase foi composta em mol.m⁻³ por tampão Tris-HCl (pH 9,9), 50; glicina, 100; sulfato de hidrazina, 5; e 100 mL de lactato de sódio, 60. A reação foi quantificada na direção da oxidação do lactato (HOFFMAN; HANSON, 1986). Após três minutos a 25 °C, as 38 atividades das enzimas foram quantificadas a 340 nm, utilizando-se NAD + H⁺ como padrão.

3.2.4.3.10 Determinação das concentrações de amido

Foi utilizado o método descrito por Dubois et al., (1956). Foi feita uma extração etanólica de 50 mg da massa seca das raízes e das folhas em 5,0 mL de etanol 80%, por 30 min a 80 °C), depois foi feita uma nova extração com 5,0 mL de HClO₄ 30% por 30 minutos a 25 °C. A partir da primeira e da segunda extração foram levadas para centrifugar (2000 rpm por 10 minutos) e coletados os sobrenadantes.

Os sobrenadantes de cada extração foram unidos e aferidos ao volume para 10 mL com água destilada para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram

colocados 100 μ L do sobrenadante + 400 μ L de H₂O destilada e posteriormente agitando-os em vortex, em seguida adicionando-se 0,5 mL de fenol 5% e agitando no vortex, logo depois foi adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado e novamente agitado os tubos em vortex e levado após 20 min de repouso ao espectrofotômetro a 490 nm. Para o cálculo das concentrações de amido foi utilizado uma curva-padrão de glicose e os resultados mmol de glicose/g de resíduo.

3.2.4.3.11 Determinação das concentrações de sacarose

A determinação das concentrações de sacarose foi realizada segundo o método de Van Handel (1968). Foram pesados 30 mg de massa seca das raízes e das folhas, e homogeneizadas em tubos de eppendorf de volume de 2,0 mL, contendo 1,5 mL de solução de MCW (metanol, clorofórmio e água; 12:5:3 v/v/v), e agitado em agitador de massa durante 30 minutos a temperatura ambiente. O homogeneizado foi centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos e coletado o sobrenadante, e os resíduos foram novamente extraídos com igual volume de MCW, seguindo-se uma nova centrifugação e coleta dos sobrenadantes, na qual os mesmos foram reunidos para obtenção do extrato total.

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

A quantificação da amostra foi realizada tomando-se alíquotas de 100 μ L da fase aquosa adequadamente diluída adicionando 100 μ L de KOH 30%. Após a vigorosa agitação a mistura foi aquecida a 100 °C por 10 minutos e, após resfriamento, foi adicionado imediatamente 3,0 mL de solução de antrona 0,2 %, em ácido sulfúrico e a mistura ficou sob agitação e aquecida a 40 °C por 20 minutos. Após resfriamento, as amostras foram agitadas por 10 segundos e foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 620 nm. Para os cálculos, uma curva padrão de sacarose foi preparada e os resultados serão expressos em mg de sacarose/g MS.

3.2.4.3.12 Determinação das concentrações de carboidratos solúveis totais (CST)

Foi utilizado o método descrito por Dubois et al., (1956). Foram pesados 50 mg de massa seca (MS) das raízes e das folhas, e colocadas em tubos de ensaio de 15 mL e homogeneizados com 5 mL de água destilada e colocados em banho-maria por 30 min a 100 °C. Os tubos de ensaio supracitados foram retirados do “banho-maria” e levados para extração das amostras através da centrifugação em centrífuga de bancada (1.000 rpm) durante 10 minutos, em que, foram retirados uma alíquota de 100 mL do sobrenadante (realizando o teste de diluição) junto com 400 mL de H₂O em tubos de ensaio e sob agitação e homogeneização através do vortex.

Depois disso, foram adicionados 0,5 mL de fenol 5% e agitando novamente vortex e adicionado uniformemente e de uma única vez no centro do tubo (com pipeta graduada) 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado. Assim, foram agitados os tubos e colocados na bancada para repouso por 20 minutos e sua leitura foi feita no espectrofotômetro a 490 nm, tendo como o branco a utilização de água destilada (em substituição ao extrato) + reagentes, que foram colocados na seguinte proporção de 0,5 mL de água destilada + 0,5 mL de fenol 5% + 2,5 mL de H₂SO₄. Para o cálculo das concentrações de carboidratos solúveis totais foi utilizado uma curva-padrão de glicose e os resultados serão expressos mmol de glicose/ g MS.

3.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial (2 x 5), constando de dois tratamentos (irrigado e alagado) e cinco tempos (0, 4, 8, 12 e 16 dias), com cinco repetições, totalizando 50 unidades experimentais. Cada unidade amostral foi composta de uma planta/vaso.

Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Foram determinadas correlações para estimar o grau de relação entre as variáveis biofísicas, ambientais, bioquímicas e de crescimento. Foram realizadas análise de regressão entre as variáveis estudadas. Foi calculado também o desvio – padrão das médias de cada tratamento. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o programa SWNTIA (EMBRAPA, Campinas-SP, 1995).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Condições experimentais

Para as variáveis ambientais, não ocorreu diferença significativa entre os regimes hídricos e nem interação significativa entre tratamento e tempo ($P < 0,05$) (Figura 1). No entanto, foi observado que UR, T_{fol} , T_{ar} , e a DPV_{fa} variaram significativamente entre os diferentes dias do experimento ($P < 0,001$), independente do tratamento (Figura 1 A, B, C e D).

As curvas de T_{fol} e T_{ar} (Figura 1B, C) tiveram comportamentos semelhantes, com variação média de 31,0 e 34,6 °C e 31,0 e 34,5 °C, respectivamente. As menores médias destas variáveis foram registradas aos 4 e 8 dias do experimento. Neste mesmo período, foi observado a maior UR, com valores de 76,06 e 68,06% (Figura 1 A). O DPV_{fa} mostrou valores que variaram de 0,28 a 0,47 KPa (Figura 1 D), apresentando os menores valores nos dias de menores T_{fol} e T_{ar} e maior UR. A RFA apresentou valores que variaram de 317, 3 e 445, 3 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, sendo os menores valores registrados aos 8 e 16 dias (Figura 1 E).

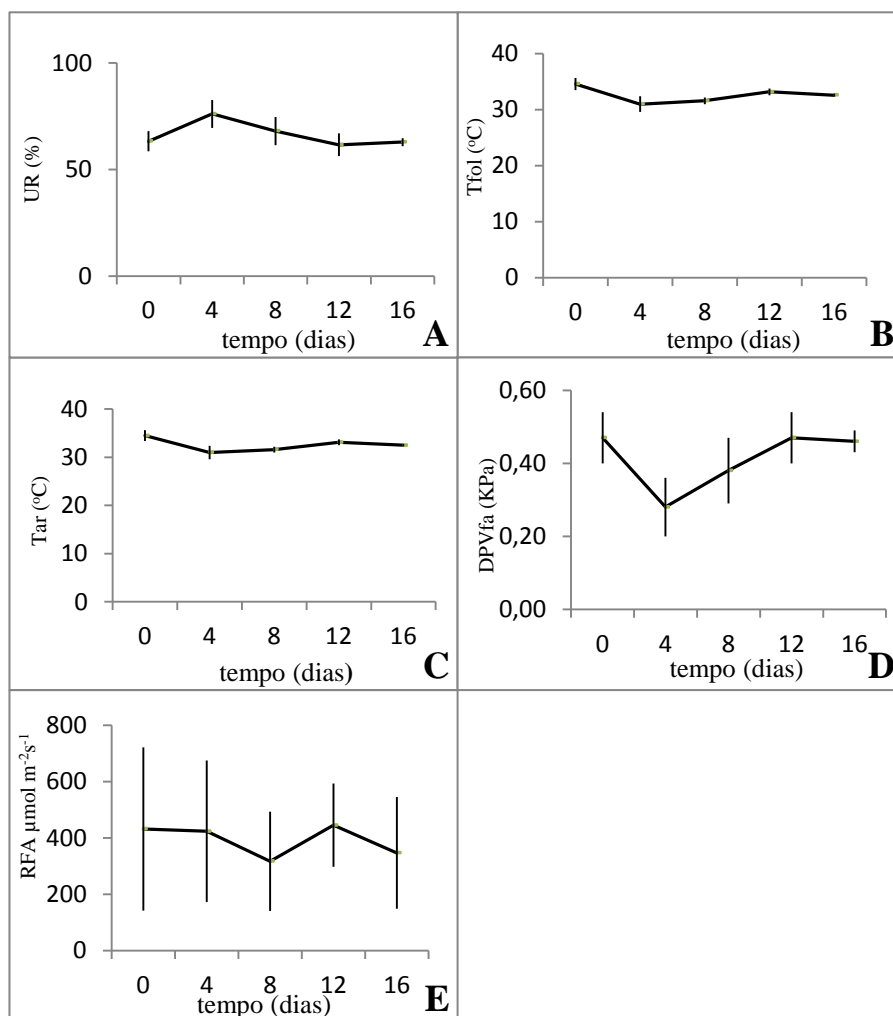


Figura 1. Umidade relativa (UR; A), temperatura da folha (T_{fol} ; B), temperatura do ar (T_{ar} ; C), déficit de pressão de vapor entre folha e atmosfera (DPV_{fa} ; D) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) durante o período experimental. As barras verticais representam o desvio-padrão das médias.

3.3.2 Potencial hídrico foliar, condutância estomática, transpiração e condutividade hidráulica.

Na avaliação do Ψ_{am} e do Ψ_x foi evidenciada diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$) e entre os períodos avaliados ($P < 0,001$) mostrando ainda interação entre estes fatores ($P < 0,001$) (Figura 2 A, B). O Ψ_{am} (4:30–5:30h) nas plantas controle e sob alagamento foi de $-0,28$ e $-0,40$ MPa, respectivamente, com decréscimo de 42,85% nas plantas alagadas quando comparada ao controle. Nos horários de 10:00 as 12:00 o Ψ_x foi de $-0,84$ e $-1,69$ MPa, respectivamente, mostrando decréscimo de 101,19% nas plantas alagadas em comparação ao controle.

A avaliação da condutância estomática mostrou diferença significativa entre os regimes hídricos ($P < 0,001$), entre o tempo de avaliação ($P < 0,01$) e interação entre estes fatores ($P < 0,001$) (Figura 2 C). Os valores foram de $0,33$ e $0,068 \text{ mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ nas plantas controle e alagadas, respectivamente, com redução de 79,39% no tratamento alagado em relação ao controle.

Em relação a taxa de transpiração foi observado diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$), entre o período de avaliação ($P < 0,001$) e interação entre estes fatores ($P < 0,001$) (Figura 2 D). Nas plantas controle e alagadas os valores foram de $7,83$ e $2,14 \text{ mol.m}^2.\text{s}^{-1}$, respectivamente, havendo decréscimo de 72,67% nas plantas alagadas em comparação ao controle.

Para a variável, condutividade hidráulica, ocorreu uma interação significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$) e entre o os tempos avaliados ($P < 0,05$), havendo ainda interação significativa entre estes fatores ($P < 0,001$). Nas plantas controle e alagadas os valores foram de $0,29$ e $0,02 \text{ mol.m}^2.\text{s}^{-1}\text{Mpa}^{-1}$, respectivamente, havendo decréscimo de 93,1% nas plantas alagadas em comparação ao controle (Figura 2 E).

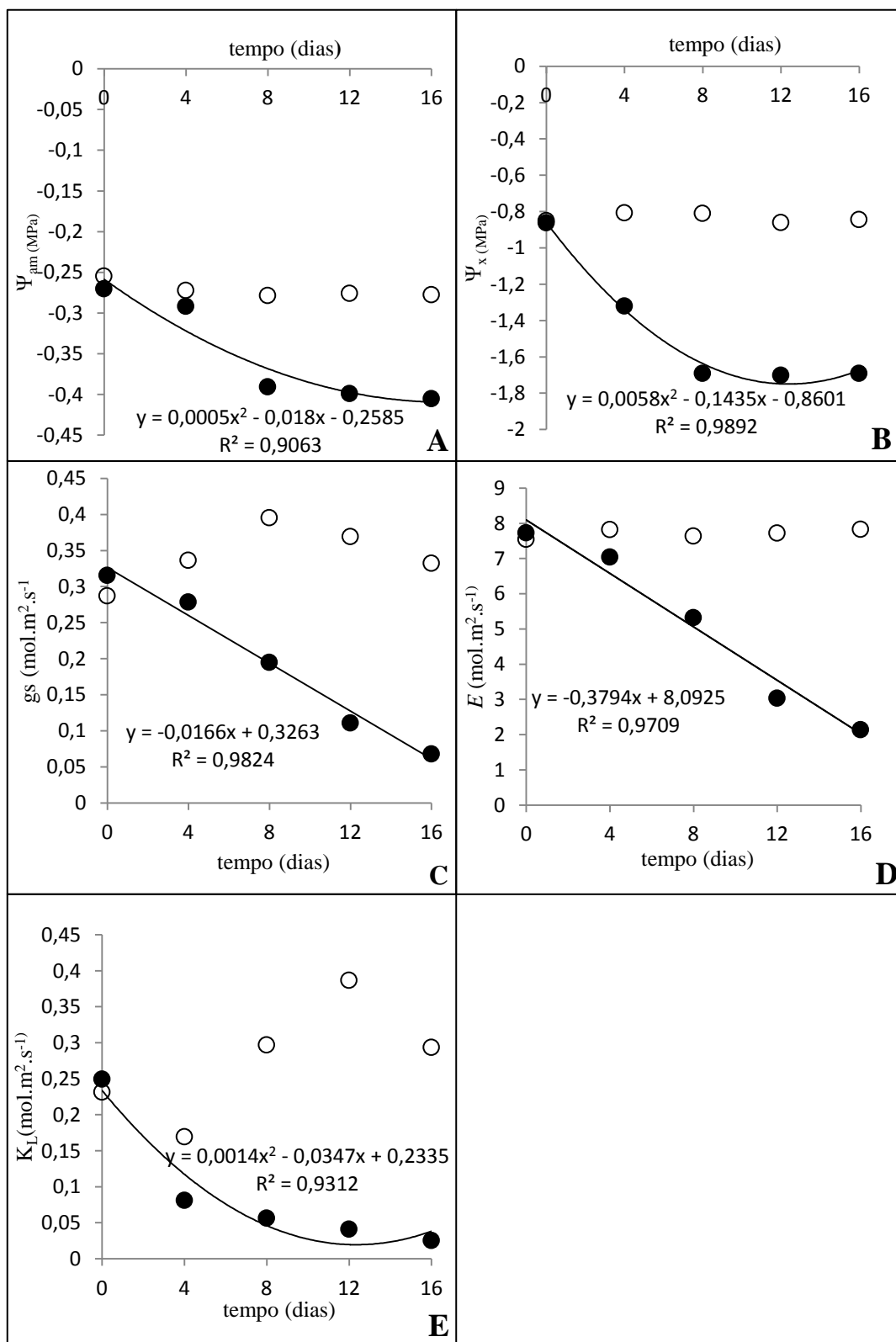


Figura 2. Potencial hídrico do antemanhã (Ψ_{am} ; A), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x ; B), condutância estomática (g_s ; C), taxa de transpiração (E ; D) e condutividade hidráulica (K_L ; E) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

A redução do Ψ_x foi observada em muitos estudos (ISLAM; MACDONALD, 2004; FOLZER et al., 2006; ISLAM et al., 2010; GIMENO et al., 2012; ALVES, et al., 2012) e tem sido atribuída a diminuição da respiração aeróbia e consequentemente a queda de energia (TAIZ; ZEIGER, 2013), o que levaria a redução na quantidade de pêlos e do sistema radicular (ALVES, et al., 2012) e ao espessamento da membrana celular que aumentaria a resistência ao fluxo de água, e consequentemente na menor absorção de água pelas raízes (PRYOR, 2006).

Neste estudo, a redução do sistema de raiz de *P. gigantocarpa* pode ter contribuído para a redução do Ψ_x , que foi contínua até o oitavo dia de alagamento (Figura 2 B). No entanto, a partir deste período, foi observada relativa estabilização do Ψ_x conforme mostra a figura 2 B. Isso pode ser justificado pelo surgimento das lenticelas hipertróficas (Figura 3 A; Capítulo 1) que devem ter melhorado a aeração das raízes e evitado maiores quedas de Ψ_x . Similarmente, Folzer et al. (2006) trabalhando com plantas jovens de *Quercus petraea* sob alagamento por 14 dias, verificaram que o aumento do Ψ_x nas plantas alagadas, coincidiu com o surgimento de lenticelas hipertróficas após dez dias de saturação hídrica.

Islam et al. (2010) estudando o efeito do alagamento em plantas jovens de dois genótipos (GK48 e BARImung5) de *Vigna radiata*, verificaram redução significativa do Ψ_x nas plantas alagadas em relação ao controle. Esses autores atribuíram a menor redução do Ψ_x nos genótipos GK48 a produção de maior quantidade de raízes adventícias. Possivelmente, o acúmulo de aquaporinas na membrana celular dessas raízes (AROCA, 2011) aumentou a absorção de água, oxigênio e nutrientes como forma de compensar a redução do sistema radicular original (GONG et al., 2007; EZIN et al., 2010).

Neste trabalho, provavelmente, a relativa estabilização do Ψ_x não foi influenciada pelo surgimento das raízes adventícias. Visto que, a redução da queda do Ψ_x teve início a partir do oitavo dia de alagamento (Figura 2 B) e essas raízes só foram visualizadas na última avaliação (aos 16 dias) em 40% das plantas alagadas (Figura 3; Capítulo 1).

Por outro lado, neste estudo ocorreu significativa correlação negativa ($P < 0,001$) entre o Ψ_x e os aminoácidos prolina e glicina betaína (Tabela 3). Assim, o aumento desses osmólitos compatíveis pode ter ajudado a reduzir o potencial hídrico dos tecidos das plantas, indicando uma possível ocorrência de ajustamento osmótico nessa espécie. Gimeno et al. (2012) trabalhando com plantas jovens de *Jatropha*

curcas L. submetidas ao alagamento por 10 dias, evidenciaram redução significativa no Ψ_x das plantas alagadas em relação ao controle. Entretanto, segundo esses autores, devido a prolina não ter aumentado significativamente nas plantas alagadas, parece não ter sido um fator importante na redução do Ψ_x e no mecanismo de tolerância dessas plantas as condições de alagamento. Resultados de Ψ_x semelhantes aos verificados neste trabalho também foram obtidos por Aves et al. (2012) em *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson submetidas ao alagamento por 9 dias, onde encontraram valores de $-2,3$ Mpa nas plantas alagadas.

A redução da gs em plantas arbóreas tolerantes e não- tolerantes é uma resposta comum ao alagamento do solo (KOZLOWSKI, 1997) e tem sido atribuída a menor capacidade da raiz em absorver água e nutrientes (KREUZWIESER et al., 2004; PIERCE et al., 2010).

Neste estudo, a baixa produção de ATP produzida na raiz pela respiração anaeróbia, evidenciado pelo aumento do ADH e LDH (Figura 10), pode ter limitado a energia disponível para os processos celulares da raiz e provocado à redução do crescimento ou a morte de raízes e consequentemente a menor absorção de água e nutrientes, o que deve ter contribuído para o declínio Ψ_x , resultando no fechamento estomático e redução da gs das plantas de *P. gigantocarpa*.

Islam e Macdonald (2004) estudando os efeitos do alagamento por 34 dias em plantas de *Picea mariana* (Miller) Britton e *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch verificaram redução significativa na gs das plantas alagadas em comparação as plantas controle. Esses autores relacionaram à redução da gs a diminuição da permeabilidade e da condutividade hidráulica da raiz. Este fato também foi evidenciado neste estudo, pela forte correlação positiva ($P < 0,01$) entre a K_L da raiz e a gs (Tabela 2).

Neste trabalho, ocorreu significativa correlação positiva ($P < 0,05$) entre o número de folhas e a gs (Tabela 3). Assim, pode-se inferir que a diminuição do número de folhas em resposta ao alagamento, também deve ter influenciado a redução da gs em *P. gigantocarpa*. Similarmente, Jaeger et al. (2009) trabalhando com plantas jovens de *Fraxinus angustifolia* e *Fraxinus excelsior* submetidas ao alagamento, verificaram que a redução significativa da gs, em *F. angustifolia* sob alagamento, foi acompanhada pela maior redução do número de folhas nesta espécie.

Batista et al. (2008) observaram que a redução significativa da gs em *Cecropia pachystachya* Trec alagadas por 30 dias atingiu 70% na última avaliação e sugeriram que o fechamento estomático seria um mecanismo de tolerância à inundação

apresentado por esta espécie para reduzir a demanda de água e absorção de compostos potencialmente tóxico. Sendo assim, a estratégia assumida por *C. pachystachya* e *P. gigantocarpa*, em relação a redução da g_s , quando submetidas ao alagamento pode ter sido uma resposta importante para a manutenção da quantidade de água nos tecidos e consequentemente para a sobrevivência da planta pelo menos durante o período experimental.

A redução significativa da g_s também foi observada por Mielk et al. (2003) em plantas jovens de *Genipa americana* alagadas por 63 dias, Mielk et al. (2005) em plantas jovens de *Annona glabra* L. sob saturação hídrica por 56 dias, Bertolde et al. (2012) em plantas jovens de dois clones de *Theobroma cacao* L, após 10 dias de alagamento, Medri et al. (2012) em *Aegiphila sellowiana* Cham alagadas por 28 dias e Alves et al. (2012) em plantas jovens de *T. Serratifolia* aos 9 dias de alagamento.

Tem sido relatado que uma das causas atribuída à diminuição da transpiração pela saturação de água no solo seria o decréscimo da condutividade hidráulica das raízes ou a redução do crescimento e morte de raízes, que causariam queda no Ψ_x em função da menor absorção de água (FRANCO; LÜTTGE, 2004). Os resultados obtidos neste trabalho suportam esta afirmação.

Calvo-Polanco et al. (2012) trabalhando com plantas jovens de *L. laricina* verificaram que as taxas de E e de Ψ_x foram recuperadas nas plantas alagadas, chegando a valores semelhantes aos das plantas irrigadas ao final de seis meses e sugeriram que a retomada do suprimento adequado de água nas plantas alagadas ocorreu devido o aumento da condutividade hidráulica em função do surgimento das raízes adventícias, em substituição as raízes originais que foram reduzidas por causa da necrose.

Neste trabalho pode-se observar que houve significativo coeficiente de correlação positiva ($P < 0,001$) entre Ψ_x , g_s e E (Tabela 2). Em concordância a estes resultados, Taiz e Zeiger, (2013), afirmam haver uma correlação positiva entre a g_s e a E . Sendo assim, em resposta ao alagamento à diminuição do Ψ_x no tecido foliar, pode ter causado o fechamento estomático e, consequentemente, a redução da g_s (Figura 2 C) o que resultou na diminuição da E (Figura 2 D) em *P. gigantocarpa*. Similarmente, Horchani et al. (2010) também atribuiu a redução da E em *Solanum lycopersicum* L. exposta a anóxia devido a diminuição da g_s .

De forma semelhante a este estudo, Bertolde et al. (2012) verificaram reduções significativas na E em plantas jovens de dois clones de *Theobroma cacao* L, após 10 dias de alagamento (chegando a 80% aos 20 dias) em comparação às plantas controle.

Redução drástica na E também foi evidenciada em plantas jovens de *T. serratifolia* quando estas foram submetidas aos 9 dias de alagamento (ALVES et al., 2012).

Nas condições de alagamento as menores taxas de E (Figura 2 D) em *P. gigantocarpa* foram observadas entre os dias 12 e 16. Neste mesmo período, ocorreu um comportamento contrário com as variáveis ambientais (Figura 1). Assim, pode-se inferir que a g_s e a E não sofreram influência da UR, T_{fol} , T_{ar} , e DPV_{fa} .

Neste estudo, E e g_s foram fracamente correlacionadas com a DPV_{fa} (Tabela 3), indicando que o fechamento dos estômatos parece estar mais associado às alterações no potencial hídrico da planta e possivelmente a fatores endógenos das plantas, como as altas concentrações de etileno e o aumento de produção de ABA nas folhas. Segundo Taiz e Zeiger (2013) a ausência de oxigênio na raiz pode estimular a elevação das concentrações endógenas de ABA nas folhas, especialmente as mais velhas, ocasionando o fechamento estomático e redução da perda de água por transpiração.

Neste trabalho, a K_L da raiz foi significativamente correlacionada com o Ψ_x , a g_s e a E (Tabela 2). Assim, a diminuição da K_L pode ter exercido forte influência na redução do Ψ_x , e consequentemente no fechamento estomático de *P. gigantocarpa* como forma de evitar o déficit hídrico interno. Desta forma a K_L poderia funcionar como um corregulador do Ψ_x , g_s e E em plantas submetidas ao alagamento.

Islam e Macdonald (2004), trabalhando com plantas de *P. mariana* e *L. laricina* por 34 dias, verificaram redução significativa na K_L das plantas alagadas em comparação as plantas controle e atribuíram à redução da g_s a diminuição da condutividade hidráulica da raiz.

Calvo-Polanco et al. (2012), estudando plantas jovens de *L. laricina*, verificaram a retomada da K_L e da g_s nas plantas alagadas, chegando a valores semelhantes aos das plantas irrigadas ao final de seis meses. Segundo esses autores, a manutenção do equilíbrio entre a perda de água e captação de água requer ajustes na K_L do tecido e a maior parte da regulação dinâmica da K_L da raiz tem sido atribuída ao fluxo de água pela membrana celular, regulado pelas aquaporinas que aumentariam com o surgimento das raízes adventícias.

Tabela 2 Coeficiente de correlação de Pearson entre transpiração (E), condutância estomática (gs), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x) e condutividade hidráulica (K_L) em plantas de *P. gigantocarpa*, nos tratamentos, irrigado (controle) e alagado por 16 dias.

Tratamento		Variáveis fisiológicas		
		Ψ_x	K_L	gs
Controle	E	0,0904 ^{ns}	0,1597 ^{ns}	0,4117 [*]
	gs	-0,0192 ^{ns}	0,4900 [*]	-----
	Ψ_x	-----	0,3509 ^{ns}	-----
Alagado	E	0,7020 ^{***}	0,7243 ^{***}	0,9538 ^{***}
	gs	0,6922 ^{***}	0,7618 ^{**}	-----
	Ψ_x	-----	0,8368 ^{***}	-----

^{ns} Não significativo pelo teste F, ^{*} significativo pelo teste F (P<0,05), ^{**} significativo pelo teste F (P<0,01) e ^{***} significativo pelo teste F (P<0,001).

Tabela 3 Coeficiente de correlação de Pearson entre transpiração (E), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), condutividade hidráulica (K_L), condutância estomática (gs), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura foliar (T_{fol}), temperatura do ar (T_{ar}) déficit de pressão de vapor entre folha e ar (DPV_{fa}), prolina folha e folha (Prolf), prolina em raiz (Prolr), glicina betaína em folha (Gbf), glicina betaína em raiz (Gbr), número de folhas (NF) em plantas de *P. gigantocarpa*, nos tratamentos, irrigado (controle, C), alagado (A) por 16 dias.

Tratamento		Variáveis ambientais, fisiológicas, bioquímicas e morfológicas			
		E	Ψ_x	K_L	gs
Controle	UR	0,1158 ^{ns}	0,2694 ^{ns}	- 0,5519 ^{**}	- 0,0484 ^{ns}
	RFA	0,1617 ^{ns}	- 0,1855 ^{ns}	0,1288 ^{ns}	0,4695 [*]
	T_{fol}	- 0,0047 ^{ns}	- 0,2190 ^{ns}	- 0,0576 ^{ns}	- 0,4409 [*]
	T_{ar}	- 0,0006 ^{ns}	- 0,2181 ^{ns}	- 0,0554 ^{ns}	- 0,4353 [*]
	DPV _{fa}	- 0,0824 ^{ns}	- 0,2870 ^{ns}	0,5221 ^{**}	- 0,0107 ^{ns}
	Prolf	0,0460 ^{ns}	0,1586 ^{ns}	0,2223 ^{ns}	- 0,1230 ^{ns}
	Prolr	0,0927 ^{ns}	0,1135 ^{ns}	- 0,0586 ^{ns}	0,1172 ^{ns}
	Gbf	- 0,4632 ^{**}	- 0,1214 ^{ns}	- 0,0909 ^{ns}	- 0,3221 ^{ns}
	Gbr	0,1758 ^{ns}	- 0,1670 ^{ns}	0,3073 ^{ns}	- 0,0416 ^{ns}
	NF	0,0281 ^{ns}	-----	-----	0,2238 ^{ns}
Alagado	UR	0,3728 ^{ns}	0,1589 ^{ns}	- 0,1579 ^{ns}	0,3574 ^{ns}
	RFA	0,1623 ^{ns}	0,1247 ^{ns}	0,2004 ^{ns}	0,0504 ^{ns}
	T_{fol}	- 0,0029 ^{ns}	0,2711 ^{ns}	0,4655 [*]	0,0048 ^{ns}
	T_{ar}	- 0,0053 ^{ns}	0,2688 ^{ns}	0,4627 [*]	0,0004 ^{ns}
	DPV _{fa}	- 0,3248 ^{ns}	- 0,1022 ^{ns}	0,2125 ^{ns}	- 0,3130 ^{ns}
	Prolf	- 0,8569 ^{***}	- 0,8049 ^{***}	- 0,7095 ^{***}	- 0,8180 ^{***}
	Prolr	- 0,8270 ^{***}	- 0,8525 ^{***}	- 0,7706 ^{***}	- 0,8002 ^{***}
	Gbf	- 0,8115 ^{***}	- 0,8356 ^{***}	- 0,7928 ^{***}	- 0,7716 ^{***}
	Gbr	- 0,8192 ^{***}	- 0,7339 ^{***}	- 0,6690 ^{***}	- 0,7881 ^{***}
	NF	0,4860 [*]	-----	-----	0,4584 [*]

^{ns} Não significativo pelo teste F, ^{*} significativo pelo teste F (P<0,05), ^{**} significativo pelo teste F (P<0,01) e ^{***} significativo pelo teste F (P<0,001).

3.3.3 Concentração de nitrato e atividade da redutase do nitrato

As análises das concentrações de nitrato em *P. gigantocarpa* mostrou diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$), entre os tempos de exposição ao estresse ($P < 0,001$) além de interação entre estes fatores ($P < 0,001$) (Figura 3 A, B). Em folhas das plantas controle e alagadas os valores foram de 0,48 e 0,13 $\mu\text{moles de NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, respectivamente. Nas raízes, as concentrações de nitrato foram de 0,63 e 0,14 $\mu\text{moles de NO}_3^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$, nas plantas controle e alagadas, respectivamente (Figura 3 A, B.). Houve, portanto, uma redução de 72,92% e 77,8% nas plantas alagadas em relação ao controle.

A ARN diminuiu significativamente nas plantas alagadas, tanto nas folhas quanto nas raízes (Figura 3 C, D). Os valores obtidos para esta variável mostraram efeitos significativos entre os tratamentos ($P < 0,001$), para os períodos de exposição ao estresse ($P < 0,001$) além de interação entre os regimes hídricos e os tempos de avaliação ($P < 0,001$). Nas folhas de plantas controle e alagadas a ARN foi de 0,83 e 0,58 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$, respectivamente. Houve, portanto, uma redução de 30,12% nas plantas alagadas em comparação ao controle. Nas raízes os valores foram de 0,85 e 0,63 $\mu\text{moles NO}_2^-/\text{gMF/h}$, respectivamente, com redução de 25,88% nas plantas alagadas, comparadas ao controle. Similarmente ao observado neste estudo, em plantas jovens de *T. serratifolia* a ARN decresceu, após nove dias de alagamento, em 97 e 96,8% nas raízes e folhas, respectivamente (ALVES et al., 2012).

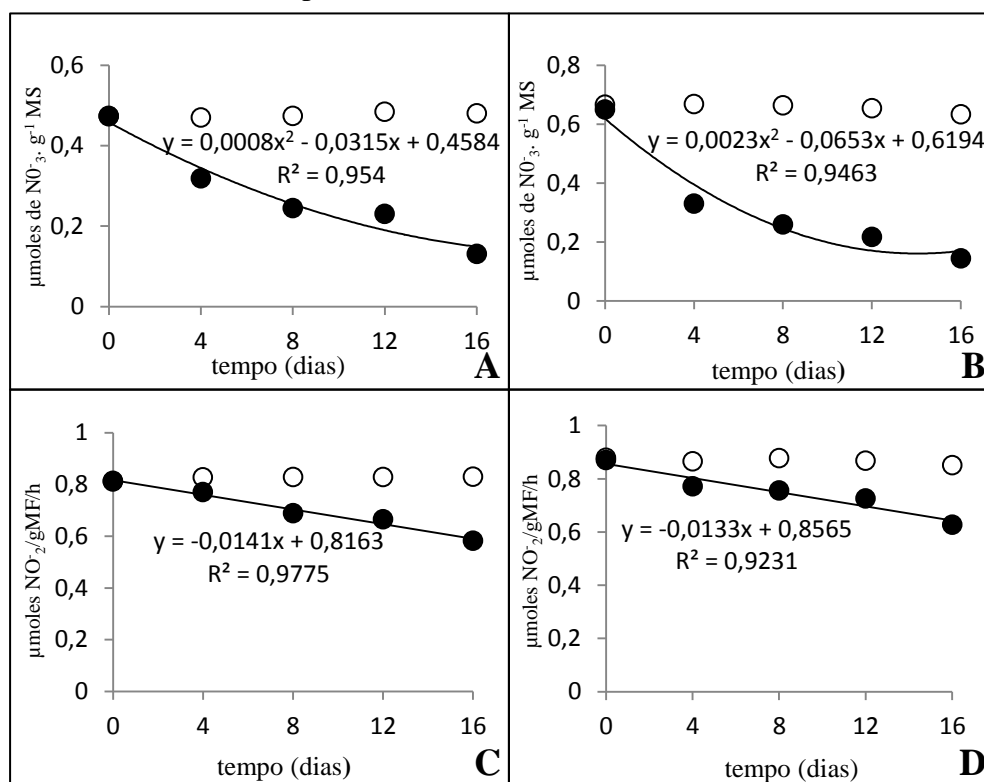


Figura 3. Concentração de nitrato (folha; A), (raiz; B) e atividade da redutase do nitrato (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

Diversos estudos apontam que o alagamento do solo provoca redução do oxigênio para o sistema de raiz, o que contribuiria para a redução da respiração das raízes e, como consequência, haveria mudança da rota aeróbia para anaeróbia, resultando na menor síntese de ATP (PARENT et al., 2008). Segundo Alves et al. (2012) esse processo deve ter interferido na absorção de NO_3^- , ocasionando redução significativa deste composto nitrogenado na raiz e consequentemente nas folhas de *T. serratifolia* submetidas ao alagamento. Os resultados encontrados neste trabalho suportam essa afirmativa.

Horchani e Aschi-Smiti (2010) também verificaram redução significativa de NO_3^- nas plantas jovens de *S. Lycopersicum* sob hipóxia. Atingindo valores de 50% nas folhas e 70% nas raízes. Similarmente, Oliveira Neto (2010) estudando plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. observou diminuição significativa de NO_3^- nas folhas e raízes das plantas submetidas ao alagamento em relação ao controle.

A atividade da redutase do nitrato (ARN) é altamente regulada por meio de sua degradação, ativação ou inativação (ALLÈGRE et al., 2004). O processo de ativação ou desativação desta enzima envolve a transformação de uma forma inativa para ativa (e vice-versa) por mecanismo de fosforilação e desfosforilação. A fosforilação da redutase do nitrato no resíduo serina é o passo inicial para a inativação da enzima e a inativação completa ocorre quando a forma fosforilada se associa com a proteína 14-3-3 e Mg^{2+} . A ativação da RN está relacionada com a sua dissociação da proteína 14-3-3, assim como a sua desfosforilação (BUCHANAN et al., 2001).

No entanto, existem poucas informações sobre a regulação da mesma em plantas alagadas. Allègre et al. (2004) observaram predomínio da forma desfosforilação da RN e, consequentemente, aumento da atividade desta enzima em plantas de (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Rondello submetidas a anóxia em relação ao controle. Estes autores verificaram que a anoxia também diminuiu a quantidade total do complexo RN e proteína 14-3-3.

Neste estudo, contrariamente ao verificado por Allègre et al. (2004), o alagamento, causou diminuição acentuada da ARN em *P. gigantocarpa*. Isto permite inferir que a saturação de água no solo, pode ter provocado aumento do fosfato inorgânico em função da queda de ATP e promovido a fosforilação da RN, favorecendo a sua ligação com a proteína 14-3-3 o que causou diminuição da atividade da referida enzima nesta espécie.

A redutase do nitrato (RN) é a enzima chave no processo global de assimilação de NO_3^- pelas plantas (BRANDÃO; SODEK, 2009; HORCHANI; ASCHI-SMITI, 2010). O NO_3^- , principal forma nitrogenada absorvida pelas raízes, em condições de normóxia, pode ser armazenado no vacúolo e isso representaria a maior parte do nitrato endógeno (BRANDÃO; SODEK, 2009) ou reduzido a NO_2^- (esse processo ocorre no citoplasma) pela ARN. Em seguida, o NO_2^- , no interior dos cloroplastos nas folhas e nos plastídeos nas raízes, é reduzido pela redutase de nitrito a íon NH_4^+ (ALLÈGRE, 2004). O amônio é, então, incorporado em aminoácidos pelas enzimas sintetase da glutamina (GS) e sintase do glutamato (GOGAT), formando glutamina (GLN), glutamato (GLU) e outros aminoácidos e seus metabólitos (ASLAM et al., 2001). Alterações na ARN e GS, provocadas pelo alagamento do solo, podem influenciar no equilíbrio do nitrogênio total e afetar a quantidade de aminoácidos e proteínas (SEPEHR et al., 2012). Estas afirmações vêm ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho para *P. gigantocarpa*.

O aumento da ARN tem sido associado com a tolerância ao alagamento em plantas (AZCON; TOBAR, 1998). Em *S. Lycopersicum* (Horchani; Aschi-Smiti 2010) e *H. courbaril* (OLIVEIRA NETO, 2010) sob alagamento, a atividade desta enzima, nas raízes e folhas, aumentou significativamente, ao ser comparada à atividade nas plantas em condições aeróbicas. Entretanto, plantas jovens de *P. gigantocarpa* responderam de forma diferente ao alagamento. Foi observada redução expressiva desta enzima, tanto nas raízes quanto nas folhas, com o tempo de exposição ao alagamento, mas que não afetou a sobrevivência desta espécie, pelo menos durante o período experimental.

Demonstra-se que, para a indução da ARN, é necessária a presença de NO_3^- , ou seja, a ARN é regulada pelo “pool” metabólico de NO_3^- localizado no citoplasma (ALLÈGRE et al., 2004). O decréscimo acentuado na concentração de NO_3^- , com o tempo de exposição ao alagamento das plantas jovens de *P. gigantocarpa* (Figura 3 A, B), parece ter limitado a ARN, que afetou a assimilação de NO_3^- e influenciou no metabolismo do nitrogênio, resultando na redução da GS (Figura 4 C, D) aminoácidos e PST (Figura 5), tanto na raiz quanto na parte aérea das plantas. Isso reforça o papel do NO_3^- como principal regulador da ARN nesses órgãos.

A redução observada da ARN em folhas das plantas alagadas poderia estar relacionada à baixa translocação do NO_3^- a partir da raiz, como sugerido por Alaoui-Sosse et al. (2005). Então, os resultados mostraram a forte dependência da redutase do nitrato pela quantidade de NO_3^- trazida pelo fluxo transpiratório, que neste trabalho foi

afetado, provavelmente, pela redução acentuada do potencial hídrico do xilema foliar (Figura 2 B), da condutância estomática (Figura 2 C) e da condutividade hidráulica (Figura 2 E) nas plantas alagadas.

Por outro lado, a redução da ARN nas plantas alagadas de *P. gigantocarpa* está relacionada com o aumento da fermentação alcoólica, comprovado pelo incremento na atividade da ADH (Figura 7 A, B), o que resultou na elevação do pH, o qual por sua vez, inibe a ARN.

3.3.4 Concentração de amônio livre e atividade da glutamina sintetase

A avaliação da concentração de amônio livre em folhas e raízes de *P. gigantocarpa* demonstrou diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$), entre o período de avaliação ($P < 0,001$) e interação entre estes fatores ($P < 0,001$). Em folhas de plantas controle e alagadas os valores foram de 6,2 e 15,4 mmoles de NH_4^+ /Kg de MS, respectivamente (Figura 4 A, B), ocasionando um aumento de 148,39% nas plantas alagadas em comparação ao controle. Nas raízes, a concentração de amônio livre foram de 16,5 e 24,4 mmoles de NH_4^+ /Kg de MS nas plantas controle e alagadas respectivamente, revelando um aumento de 47,9%% no tratamento alagado quando comparado ao controle.

O alagamento reduziu significativamente a atividade da GS em folhas e raízes de plantas alagadas (Figura 4 C, D). Os resultados obtidos mostraram diferença significativa entre as condições hídricas ($P < 0,001$), entre o período de avaliação ($P < 0,001$) e interação entre estes fatores ($P < 0,001$). Nas folhas a atividade da enzima nas plantas controle e alagadas foram de 27,8 e 10,8 mmoles $\text{GGH.Kg}^{-1}\text{MS}$, respectivamente, correspondendo a uma redução de 61,15% nas plantas alagadas em comparação ao controle (Figura 4 C). Nas raízes, a concentração de GS foi de 25,1 e 6,7 mmoles $\text{GGH.Kg}^{-1}\text{MS}$ nas plantas controle e alagadas respectivamente, com um decréscimo de 73,3% no tratamento alagado (Figura 4 D).

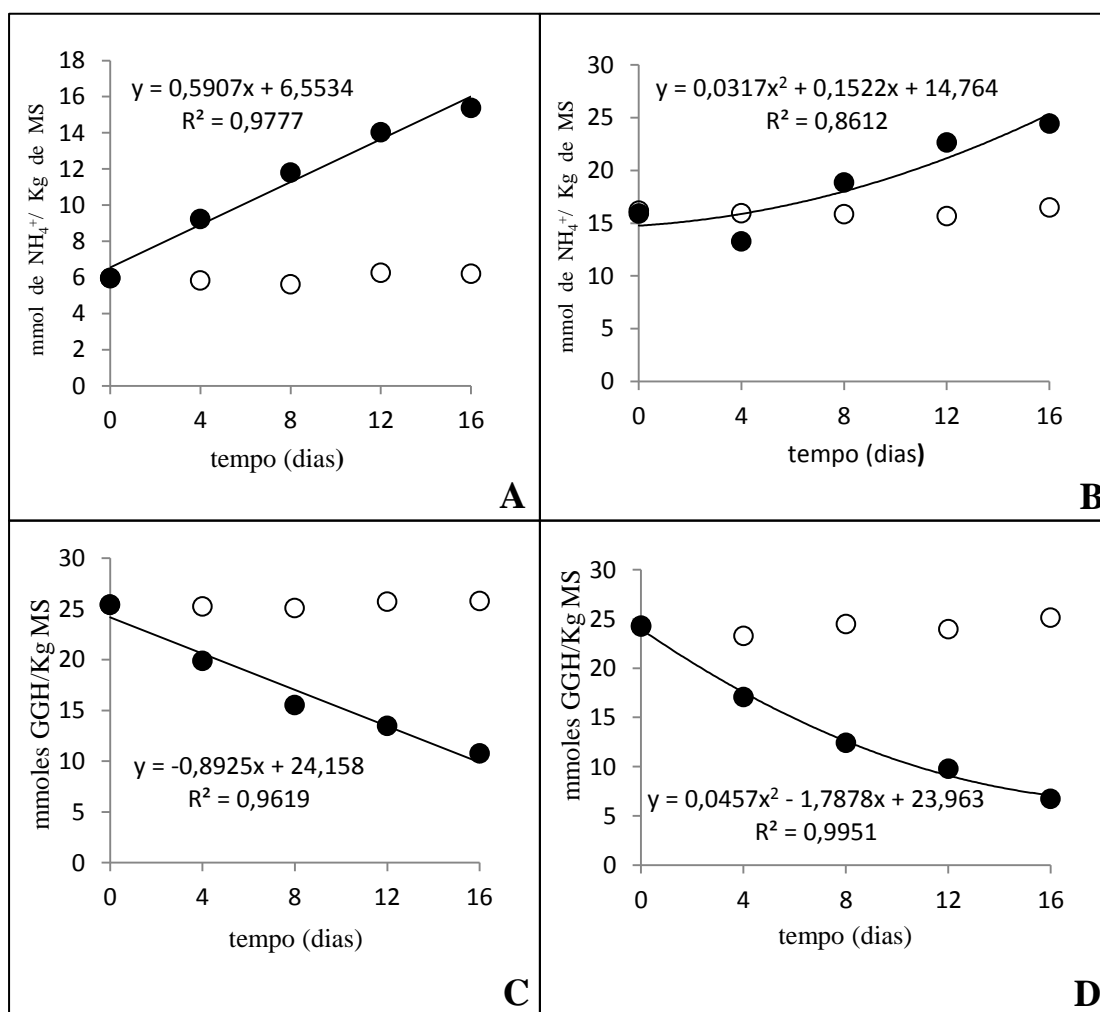


Figura 4. Concentração de amônia (folha; A), (raiz; B) e glutamina sintetase (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

Tem sido relatada uma forte relação entre atividade da GS e o acúmulo de íons amônio nos tecidos da planta (CHIEN et al., 2000). Assim, o aumento nos teores de amônio nas plantas jovens de *P. gigantocarpa* sob alagamento pode ter ocorrido em função da redução da GS, conforme mostra a figura 4 (C, D). Além disso, o íon NH_4^{+} na planta pode ter se originado da fotorrespiração, do catabolismo de compostos nitrogenados, especialmente os aminoácidos e pela desaminação (DEBOUBA et al., 2007). Outro fator que poderia ocasionar aumento na concentração de amônio seria a diminuição da desidrogenase do glutamato (GDH)/NADH que deixaria de catalisar a incorporação da NH_4^{+} em forma orgânica.

Os resultados são corroborados pelos obtidos por Horchani e Aschi-Smiti (2010) que estudando plantas jovens de *S. Lycopersicum*, verificaram aumento significativo de amônia em plantas sob hipóxia, tanto nas raízes quanto nas folhas, e por Oliveira Neto (2010) que trabalhando com plantas jovens de *H. courbaril*, submetidas

ao alagamento, verificou aumento de 31,82 e 77,78% de amônio nas raízes e folhas de plantas alagadas. Esses autores associaram o aumento da NH_4^+ a diminuição da GS. Horchani e Aschi-Smiti (2010) também relacionaram o acúmulo da NH_4^+ ao aumento da atividade da GDH e sugeriram que o acréscimo desta enzima, induzida pela NH_4^+ , poderia ser importante na desintoxicação da NH_4^+ e restabelecimento dos níveis do glutamato que é fundamental para a síntese de osmoprotetores, como a prolina e a glicina betaína.

Diferentemente deste estudo, Alves et al. (2012) observaram redução significativa de amônio nas raízes e nas folhas de plantas jovens de *T. serratifolia* em condições de alagamento. Gimeno et al. (2012) trabalhando com plantas jovens de *J. curcas* submetidas ao alagamento por 10 dias, não evidenciaram diferenças significativas de NH_4^+ nas folhas e raízes de plantas alagadas em relação ao controle.

A redução acentuada da atividade da GS nas plantas alagadas de *P. gigantocarpa* pode estar relacionada à menor disponibilidade de ATP, pois esta enzima é fortemente dependente da energia proveniente do ATP fosforilado em nível de substrato, produzido na via glicolítica, do ATP produzido na fosforilação oxidativa mitocondrial e do ATP produzido durante a atividade fotossintética nas folhas. Em *H. courbaril* (Oliveira Neto, 2010) e *T. serratifolia* (ALVES et al., 2012) sob alagamento, a atividade desta enzima, nas raízes e folhas, reduziu significativamente comparada à atividade nas plantas em condições aeróbicas. Esses autores também atribuíram o decréscimo da atividade desta enzima a menor síntese de ATP nos tecidos celulares. A redução da atividade da GS em plantas submetidas à deficiência de oxigênio também tem sido associada à diminuição da sintase do glutamato (GOGAT) e consequentemente do glutamato, no cloroplasto ou nos plastídios celular, como sugerido por Horchani e Aschi-Smiti (2010) estudando plantas jovens de *S. Lycopersicum* ou a redução da ANR que limitaria o íon NH_4^+ , como sugerido por Alves et al. (2012). Os resultados encontrados neste trabalho suportam estas afirmativas.

A principal rota de assimilação da NH_4^+ nas plantas se dá por meio da atividade da GS. Visto que a GS, dependente de ATP, catalisa a união do NH_4^+ com ácido glutâmico para formar a glutamina (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010) e este aminoácido é a principal fonte de nitrogênio orgânico transportado das raízes para as folhas através do xilema para a biossíntese de todos os compostos nitrogenados (OKUMOTO; GUILLAUME, 2011). Pode-se inferir que a redução acentuada da GS nas plantas alagadas de *P. gigantocarpa* levaria simultaneamente ao acúmulo de NH_4^+ e

a redução de compostos nitrogenados, como os aminoácidos e PST (Figura 5). Em *S. Lycopersicum* sob deficiência de oxigênio, a atividade da GS foi significativamente inibida nas folhas, acompanhada do aumento acentuado da concentração de NH_4^+ neste órgão comparado com as plantas em condições aeróbicas (HORCHANI; ASCHI-SMITI, 2010). Segundo esses autores, a diminuição da atividade da GS na folha desta espécie pode estar relacionada à redução do glutamato, que deve ter sido utilizado para a síntese de prolina e glicina betaína, como alternativa para a manutenção do metabolismo e ajustamento osmótico. Esta afirmação vem ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho.

3.3.5 Concentração de aminoácidos solúveis totais e proteínas solúveis totais

As concentrações de aminoácidos solúveis totais em folhas e raízes de *P. gigantocarpa* variaram significativamente entre os tratamentos (Figura 5 A, B). A avaliação mostrou diferença significativa entre os regimes hídricos ($P < 0,001$) e entre os tempos de estresse ($P < 0,001$) assim como a interação entre os tratamentos e os períodos de avaliação ($P < 0,001$). Na análise de AST em tecido foliar, enquanto as plantas controle apresentaram concentrações de 36,8 $\mu\text{mol de AA/g MS}$, as plantas alagadas apresentaram 23,4 $\mu\text{mol de AA/g MS}$. Estes resultados indicam redução de 93,47% nos tratamentos alagados em relação ao controle. Nas raízes foram obtidos valores de 52,23 e 17,45 $\mu\text{mol de AA/g MS}$ nas plantas controles e alagadas, respectivamente, correspondendo uma redução de 66,59% nas plantas alagadas quando comparado com o controle.

As concentrações de PST em folhas e raízes de plantas alagadas reduziram significativamente (Figura 5 C, D). Na avaliação desta variável foi evidenciada diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$) e entre os períodos de avaliação ($P < 0,001$) mostrando ainda interação entre estes fatores ($P < 0,001$). Nas folhas a concentração foi de 2,66 e 1,57 mg de proteína $\text{g}^{-1} \text{MS}$ nos tratamentos controle e alagado, respectivamente, houve, portanto, uma redução de 40,98% nos tratamentos alagado em comparação com o controle. Nas raízes as concentrações foram de 2,18 mg de proteína $\text{g}^{-1} \text{MS}$ nas plantas controle e de 1,32 mg de proteína $\text{g}^{-1} \text{MS}$ nas plantas sob alagamento. Esses dados revelam uma redução de 39,45% nas plantas submetidas ao alagamento quando comparado ao controle.

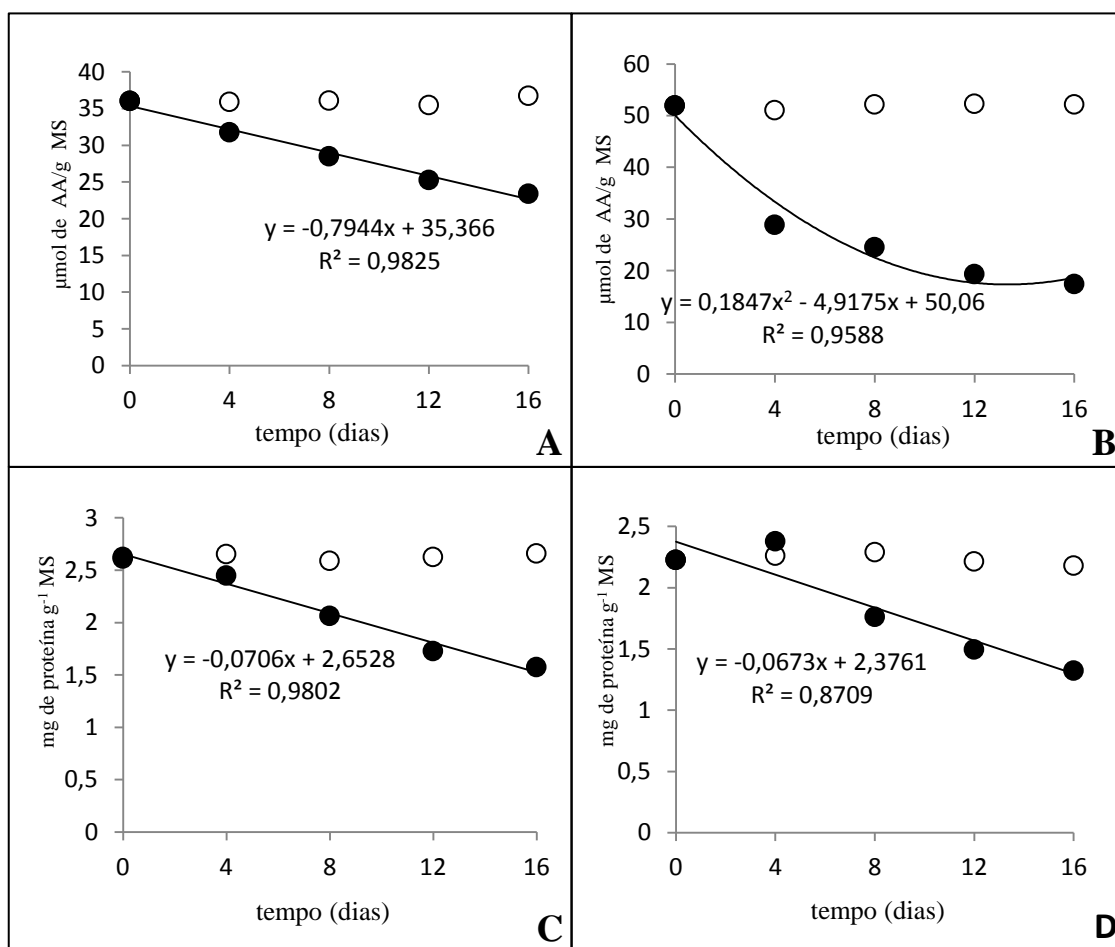


Figura 5. Concentração de aminoácidos solúveis totais (folha; A), (raiz; B) e proteínas solúveis totais (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

A GS é uma enzima precursora na formação de todos os aminoácidos na raiz e folhas de plantas superiores (ALVES, et al., 2012; TAIZ; ZEIGER, 2013). Neste estudo, foi observado significativo coeficiente de correlação positivo ($P < 0,001$) entre a atividade da GS e as concentrações de AST (Tabela 4). Sendo assim, em resposta ao alagamento, a redução da atividade da GS (Figura 4 C, D) pode ter causado diminuição dos AST totais em folhas e raízes das plantas de *P. gigantocarpa*.

Oliveira Neto (2010) verificou reduções significativas de aminoácidos em raízes e folhas de plantas jovens de *H. courbaril* submetidas ao alagamento por 30 dias. Similarmente, Alves et al. (2012) observaram redução de 87,6% de aminoácidos nas raízes e de 76,2% nas folhas de plantas jovens de *T. serratifolia* sob alagamento por 9 dias. Esses autores associaram este resultado a diminuição da atividade da GS.

A redução dos aminoácidos também pode ter ocorrido em função do alagamento ter provocado queda na síntese de ATP, resultando na menor absorção de

nitrato, principal forma de nitrogênio absorvido pela planta e elemento essencial para a formação de aminoácidos. Outros estudos sugerem que a redução dos aminoácidos em plantas sob alagamento se deve frequentemente a mudanças dinâmicas dos níveis transcricionais que codificam enzimas envolvidas no seu metabolismo (KREUZWIESER, 2009).

Visto que o grupo amino, dos aminoácidos, é derivado de reações de transaminações com glutamina e glutamato e o esqueleto de carbono dos aminoácidos é derivado do 3-fosfoglicerato, do fosfoenopiruvato ou do piruvato gerados durante a glicólise ou ainda do α -cetoglutarato ou do oxaloacetato formados no ciclo do ácido tricarboxílico (TAIZ; ZEIGER, 2013) e que esses processos são altamente dependentes de energia e de carboidratos, pode-se inferir que a redução de ATP e ou a menor síntese de carboidratos em plantas sob condições de alagamento resultaria na menor produção de aminoácidos.

Segundo Bailey-Serres e Chang. (2005) plantas submetidas a baixa disponibilidade de oxigênio, normalmente reduzem a síntese de proteínas, em função da inibição de certas enzimas, sintetizando apenas proteínas relacionadas ao alagamento, como, a ADH e a LDH. O alagamento também pode ter causado a ativação de enzimas proteolíticas que degradam as proteínas de reservas das plantas liberando aminoácidos, os quais sofrem interconversão para biossíntese de aminoácido específico (REGGIANI et al., 2000). Os resultados obtidos neste trabalho suportam estas afirmações.

Similarmente, Horchani e Aschi-Smiti (2010) verificaram redução significativa de proteínas nas folhas e raízes de plantas jovens de *S. Lycopersicum* submetidas a hipóxia e associaram esta diminuição ao aumento significativo da atividade das proteases nesses órgãos. Neste estudo, o alagamento afetou negativamente a ARN (Figura 3 C, D) e a GS (Figura 4 C, D). Este fato pode ter influenciando no balanço de nitrogênio total e de aminoácidos, ocasionando queda na síntese de proteínas.

Os dados obtidos neste trabalho são corroborados por Alves et al. (2012) que verificaram redução de 96,3 e 85,7% na concentração de proteínas solúveis totais em raízes e folhas de *T. serratifolia* quando submetida ao alagamento por 9 dias. Esses autores atribuíram essa redução a queda de ATP, diminuição do metabolismo do nitrogênio e redução de fotoassimilados para respiração celular.

Oliveira neto (2010) observou redução significativa na concentração de PST nas raízes de plantas jovens de *H. courbaril* sob alagamento por 30 dias. Por outro lado, diferente deste trabalho, o autor citado anteriormente encontrou aumento significativo

na concentração de PST em folhas das plantas alagadas e relacionou este aumento a capacidade das plantas em sintetizar proteínas em condições de anóxia com a manutenção da carga energética do adenilato que manteria o ATP para suprir a demanda de energia utilizada no crescimento das plantas.

3.3.6 Concentração de prolina e glicina betaína

As concentrações de prolina nas folhas de plantas alagadas aumentaram significativamente (Figura 6 A, B). Os resultados obtidos mostraram diferença significativa entre os regimes hídricos ($P < 0,001$), entre os períodos do experimento ($P < 0,001$) e interação entre estes fatores ($P < 0,001$). Nas folhas de plantas controle e alagadas as concentrações foram de 1,37 e 5,16 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}\text{ MS}$, respectivamente. Estes dados demonstram um aumento de 276,64% de prolina nas plantas alagadas em comparação as plantas controle. Nas raízes foram encontrados valores de 1,52 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}\text{ MS}$ nas plantas controle e de 4,19 $\mu\text{mol Pro.g}^{-1}\text{ MS}$ nas plantas sob alagamento, representando um acréscimo de 175,6% nos tratamentos alagado quando comparado às plantas controle.

Em relação à glicina-betaína os resultados evidenciaram diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$), entre os tempos de avaliação ($P < 0,001$) e interação entre estes fatores ($P < 0,001$) (Figura 6 C, D). No tecido foliar, as plantas controle e alagado apresentaram valores de 4,78 e 15,19 $\mu\text{g glicina-betaína. g}^{-1}\text{ MS}$, respectivamente. Isso corresponde um aumento de 217,78% nos tratamentos alagados em relação ao controle. Para as raízes os valores foram de 6,57 e 15,29 $\mu\text{g glicina-betaína. g}^{-1}\text{ MS}$, nas plantas controle e alagado, respectivamente. Ocasionalmente um aumento de 132,72% nas plantas alagadas em relação ao controle.

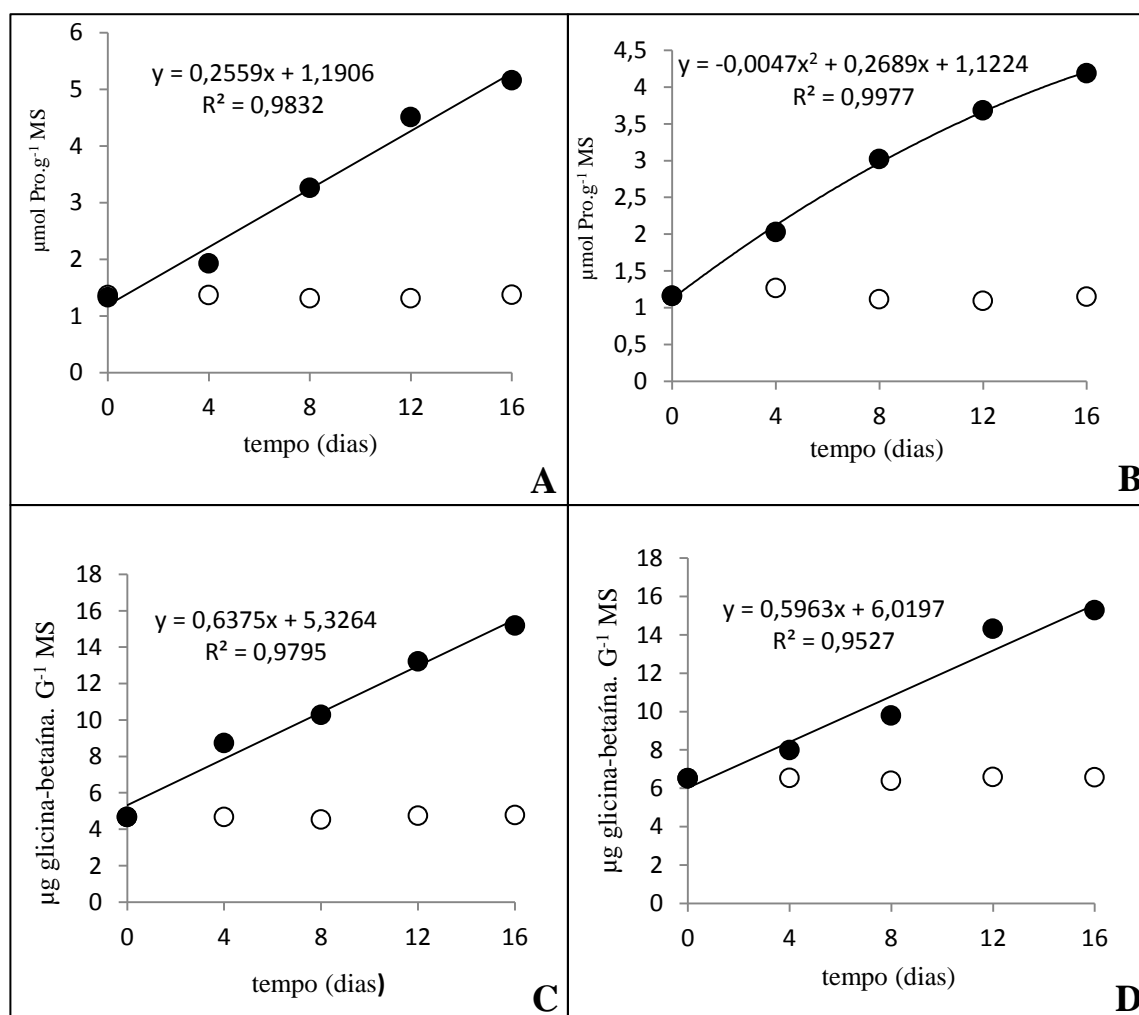


Figura 6. Concentração de prolina (folha; A), (raiz; B) e glicina betaína (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *Parkia gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

Neste trabalho, ocorreu significativo coeficiente de correlação positivo ($P < 0,001$) entre a prolina e a concentração de amônio (Tabela 4). Assim, nas plantas sob alagamento, o aumento na concentração de amônio, ou a degradação de proteínas por enzimas proteolíticas, pode ter sido responsável pelo alto teor de prolina livre, esta por sua vez, seria importante na proteção de estruturas celulares contra danos oxidativo causados pelos radicais livres (KAVI KISHOR et al., 2005). Além disso, o aumento da prolina pode ter servido como fonte de carbono e nitrogênio para o crescimento da planta (SILVA-ORTEGA, et al., 2008) ou por ser um aminoácido osmoprotetor pode ter ajudado a diminuir o potencial hídrico dos tecidos, evitando a desidratação.

Os resultados obtidos em *P. gigantocarpa* corroboram com os trabalhos realizados por Horchani et al. (2010) que evidenciaram aumento significativo de prolina em raízes e folhas de *S. lycopersicum* em condições de anóxia em comparação com as

plantas controle e Oliveira Neto (2010) que estudando o comportamento bioquímico de plantas jovens de *H. Courbaril* sob dois regimes hídricos verificou aumento de 205,97 e 211,11% de prolina nas raízes e folhas das plantas alagadas em comparação ao controle. Resultados contrastantes aos obtidos neste trabalho foram observados por Alves (2010) em plantas jovens de *T. serratifolia* submetidas ao alagamento, onde observou redução de 89,5 e 94,2 % de prolina nas raízes e folhas das plantas alagadas comparando com ao controle.

Além de seu papel como osmoprotetor em espécies de plantas tolerantes ao estresse ambiental (REZAEI; KAVIANI; KHARABIAN, 2012) a Gb tem sido relacionada com a proteção do aparato fotossintético, como a manutenção do complexo do fotossistema II, estabilização da estrutura das proteínas extrínsecas do complexo PSII e a manutenção da síntese de ATP, assim como a proteção das membranas celulares e ativação de certas enzimas (RAHMAN et al., 2002). Também tem sido relatado que a Gb pode ser utilizada em rota metabólica, para formação de compostos relacionados a síntese de etileno e da molécula do piruvato, além de servir como fonte de carbono (MUNÔZ-CLARES; VELASCO-GARCIA, 2004).

Neste estudo foi evidenciado significativo coeficiente de correlação positivo ($P < 0,001$) nas plantas alagadas entre a Gb e CST (Tabela 4). O alagamento, desta forma, promoveu aumento da Gb em *P. gigantocarpa* o que pode ter contribuído para o acúmulo de CST nesta espécie.

Neste trabalho também foi observado significativa correlação negativa ($P < 0,001$) entre a Gb e o Ψ_x em plantas alagadas (Tabela 4). Assim, o aumento da Gb em folhas e raízes parece estar também relacionada ao ajustamento osmótico do hialoplasma de plantas submetidas a situações de estresse (JALEEL et al., 2007), ou seja, o acúmulo da Gb contribuiria para a redução do Ψ_x celular durante os períodos de estresse osmóticos (TAIZ; ZEIGER, 2013), favorecendo a absorção e transporte de água do solo à parte aérea da planta, podendo assim, proteger os tecidos das plantas e os processos fisiológicos, melhorando a tolerância da planta ao estresse abiótico.

Outro fator que deve ter contribuído para o aumento nas concentrações de Gb seria a biossíntese de aminoácidos devido a quebra das proteínas e do aumento das concentrações de amônia vindo, possivelmente, da fotorrespiração e processos de desaminações. Em concordância, Oliveira Neto (2010) verificou aumento de 59,37 e 84,88% de Gb em raízes e folhas de plantas jovens de *H. courbaril* submetidas ao alagamento por 30 dias. Entretanto, contrariamente, Alves (2010) observou que o

alagamento reduziu drasticamente a concentração de Gb em plantas jovens de *T. serratifolia*, atingindo 86, 2 e 82% nas raízes e folhas, respectivamente. Segundo este autor essa diminuição parece demonstrar que a Gb não funciona somente como osmoprotetor.

3.3.7 Atividades da álcool desidrogenase e lactato desidrogenase

O alagamento afetou significativamente a atividade da ADH e LDH em folhas e raízes (Figura 7 A, B e C, D). A análise da atividade destas enzimas demonstrou diferença significativa entre as condições hídricas ($P < 0,001$), entre o tempo de exposição ao estresse ($P < 0,001$) e interação entre esses fatores ($P < 0,001$). Nas folhas a atividade da ADH foi de 0,06 e 2,88 moles de $\text{NADH H}^+ \text{Kg}^{-1}$ de proteínas min^{-1} nas plantas controle e alagado, respectivamente, com um acréscimo de 97,92% em relação a planta controle. Nas raízes a atividade da enzima nas plantas controle e alagado foram de 2,6 e 12,0 moles de $\text{NADH H}^+ \text{Kg}^{-1}$ de proteínas min^{-1} , respectivamente. Esses valores correspondem um aumento de 361,54% nas plantas alagadas em comparação ao controle.

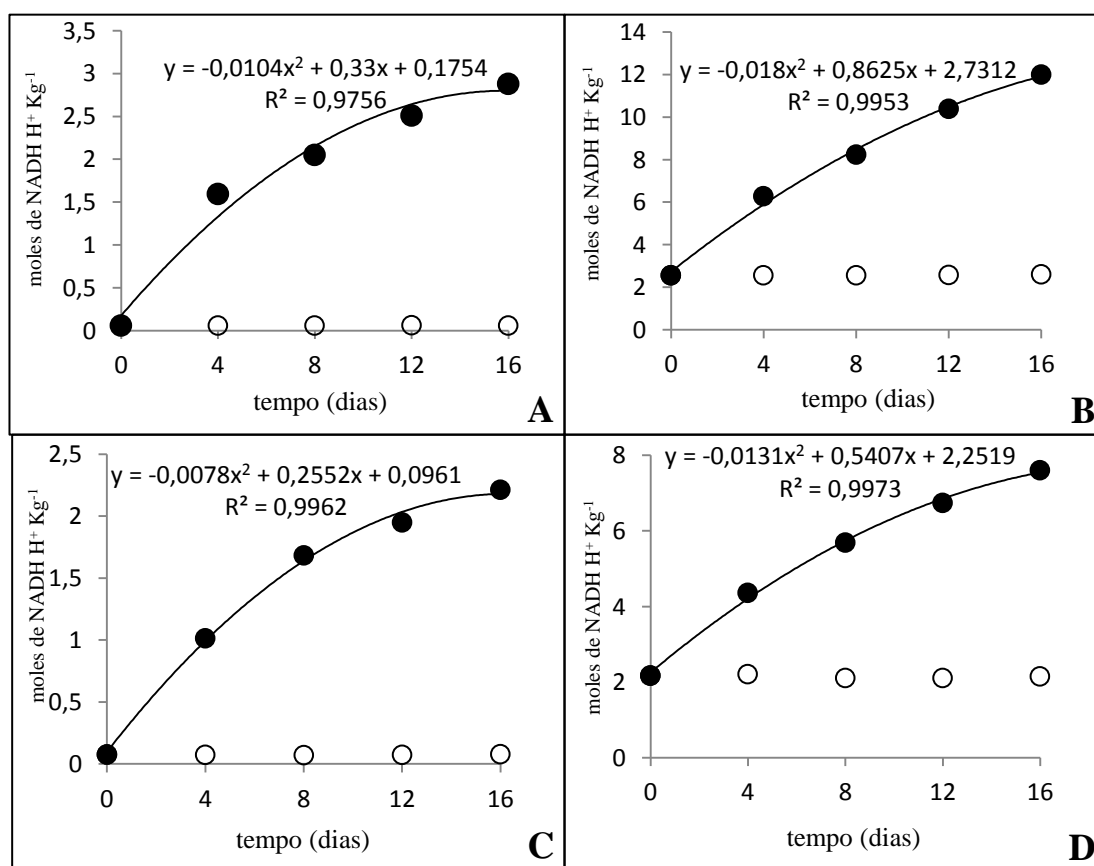


Figura 7. Atividades da álcool desidrogenase (folha; A), (raiz; B) e lactato desidrogenase (folha; C), (raiz; D) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

Em condições de anóxia, ocorre a diminuição ou parada da respiração aeróbica, uma vez que cessa o transporte de elétrons. A fosforilação oxidativa nas mitocôndrias e o ciclo do ácido tricarboxílico deixam de operar, havendo queda na síntese de ATP (ZABALZA et al., 2009; ALVES et al., 2012; ASHRAF., 2012). Nesta circunstância a sobrevivência das plantas ocorre caso consigam alterar o seu metabolismo energético, de modo que a manutenção da síntese de ATP e a reciclagem do poder redutor passam a ser obtidos, predominantemente, por meio do processo fermentativo. O aumento das atividades das enzimas fermentativas como a ADH e LDH tem sido relacionadas à adaptação metabólica das plantas sob alagamento do solo (DREW, 1997). Os resultados obtidos neste estudo suportam esta afirmação.

As enzimas ADH e LDH, e consequentemente, o etanol e o lactato são importantes para a regulação do pH citoplasmático em plantas sob alagamento. As raízes, inicialmente realizam a fermentação láctica por meio da atividade da enzima LDH que transforma piruvato, produzido na glicólise, a lactato. Este, por sua vez, contribui para a redução do pH, resultando na acidificação citossólica, o que pode causar a morte celular se não for controlada (BAILEY- SERRES; CHANG, 2005). Entretanto, em pH ácido ocorre inibição da própria LDH e ativação da PDC (piruvato descarboxilase) que converte o piruvato a acetaldeído, e este por conseguinte, é convertido a etanol através da atividade da ADH (BAILEY-SERRES & VOESENEK, 2008).

A elevada atividade da ADH em níveis crescentes, com o tempo de exposição ao alagamento (Figura 7 A, B), permite inferir que a *P. gigantocarpa*, requer, além de outros mecanismos, a utilização rápida e permanente da via fermentativa como forma de manutenção do metabolismo, regeneração do poder redutor e produção de ATP. Possui, portanto, uma eficiente respiração anaeróbica quando submetida a saturação de água nas raízes.

A alta atividade da LDH, e consequentemente, do lactato, seria um mecanismo de sinalização necessário para iniciar ou favorecer a atividade da ADH na estimulação da fermentação etanólico que, por consumir mais prótons que a láctica, eleva o pH citossólico aumentando a capacidade de sobrevivência das plantas alagadas (DOLFERUS et al., 2008), o que justifica os resultados obtidos neste trabalho na avaliação da atividade das enzimas ADH e LDH.

A ADH é uma enzima chave para a produção de ATP em plantas sob condições de anóxia ou hipóxia (TOUGOU et al., 2012) e o aumento de sua atividade permite a regeneração do NAD^+ a partir do NADH o que é de grande importância para a

síntese de energia através da fermentação, pois na ausência do NAD^+ a glicólise cessa (BAILEY-SERRES, 2008). Neste sentido, a síntese de ATP durante a permanência das plantas nessas condições está relacionada à capacidade delas em manter essa via por períodos mais prolongados. No entanto, a fermentação anaeróbia é muito ineficiente, produzindo apenas duas moléculas de ATP por molécula de glicose (DAT et al, 2004). Muito embora o rendimento líquido de ATP na fermentação seja bem menor que o da respiração aeróbia (ASHRAF, 2012), foi suficiente para manter a sobrevivência de *P. gigantocarpa* pelo menos por um período de 16 dias sob alagamento.

Em concordância com este estudo, Ferreira et al. (2009) verificaram aumento significativo na atividade da ADH nas raízes de duas populações de *Himatanthus sucuuba* Wood em condições de alagamento e que sobreviveram pelo menos por um período de 15 dias. O mesmo comportamento foi observado por Kogawara et al. (2006) em *Melaleuca cajuputi* Powell e *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh submetidas a hipóxia por 19 dias.

Jaeger et al. (2009), trabalhando com plantas jovens de *F. angustifolia* e *F. excelsior* submetidas ao alagamento, também observaram, aos 10 dias, aumento significativo de ADH nas raízes das plantas alagadas em comparação ao controle. Similarmente, Oliveira Neto (2010) verificou aumento significativo do ADH e LDH em plantas jovens de *H. courbaril* sob alagamento por 30 dias. O mesmo comportamento foi observado por Alves et al. (2012) em plantas jovens de *T. serratifolia* em condições de alagamento por 9 dias.

Pelos dados deste estudo, o aumento da atividade da ADH e LDH em folhas e raízes seria uma possível estratégia para manter o crescimento e a sobrevivência da planta a menor disponibilidade de oxigênio. Além disso, a síntese de enzimas como ADH e LDH, seria uma forma de compensar a depleção de proteínas (ZABALZA et al., 2009) que ocorre durante a deficiência de oxigênio, como observado neste trabalho.

3.3.8 Concentração de amido, sacarose e carboidratos solúveis totais

A concentração de amido no tecido foliar foi afetada significativamente nas plantas alagadas (Figura 8 A). A análise desta variável diferiu significativamente entre os tratamentos ($P < 0,001$) e entre os períodos de avaliação ($P < 0,001$) assim como a interação entre elas ($P < 0,001$). A concentração foi de $0,24 \text{ mmol de GLU g}^{-1}$ de resíduo nas plantas controle e de $0,09 \text{ mmol de GLU/g de resíduo}$ nas plantas alagadas, caracterizando uma redução de 62,5% nas plantas alagadas em relação ao controle. Nas

raízes também ocorreu diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,001$), entre o período de exposição ao estresse ($P < 0,001$) e interação entre estes fatores ($P < 0,01$) (Figura 8 B). Nas plantas controle e alagado a concentração de amido foi de 0,09 e 0,04 mmol de GLU/g de resíduo respectivamente, com uma redução de 55,55% nas plantas alagadas em relação ao controle.

A concentração de sacarose diferiu significativamente entre os tratamentos ($P < 0,001$), entre os tempos de avaliação ($P < 0,001$) e interação entre eles ($P < 0,001$) (Figura 8 C, D). Nas folhas a concentração foi de 27,66 e 15,38 mg nas plantas controle e alagadas, respectivamente, com redução de 44, 38% nas plantas alagadas em relação ao controle. Na raiz, enquanto as plantas controle mantiveram as concentrações constante de sacarose, ao longo experimento, nas plantas alagadas ocorreu um aumento substancial, especialmente, no quarto dia do experimento (76,78%), seguido de uma queda acentuada, chegando aos dezesseis dias, com concentração de 24,75% menor em relação ao controle.

Os níveis de carboidratos solúveis totais nas folhas diferiram significativamente entre os tratamentos ($P < 0,01$) com interação entre os regimes hídricos e os períodos de avaliação ($P < 0,05$) não mostrando, no entanto, diferença entre os tempos de estresse ($P < 0,05$) (Figura 8 E). Nas plantas controle e alagadas as concentrações foram 1,21 e 2,36 mmol de GLU g⁻¹ de resíduo respectivamente. Esses resultados revelam aumento de 96,7% nas plantas alagadas quando comparadas ao controle. Nas raízes, ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,001$) e entre os tempos de avaliação ($P < 0,001$) assim como interação entre estes fatores ($P < 0,001$) (Figura 8 F). Nas plantas controle e alagado os valores foram de 0,87 e 1,8 mmol de GLU g⁻¹ de resíduo, revelando aumento de 106,9% nos tratamentos alagado em relação ao controle.

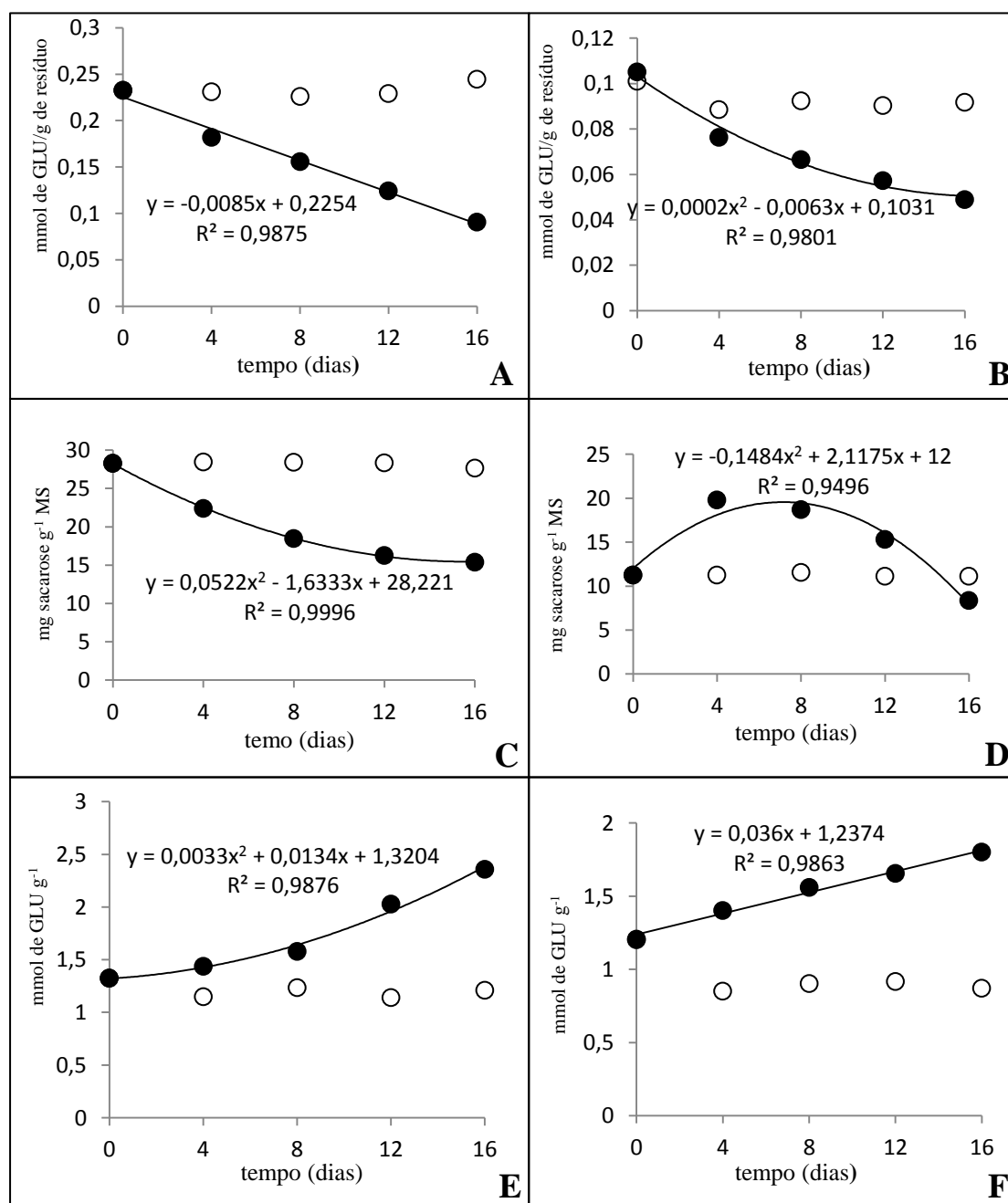


Figura 8. Concentração de amido (folha; A), (raiz; B), concentração de sacarose (folha; C), (raiz; D) e concentração de carboidratos solúveis totais (folha; E), (raiz; F) em plantas jovens de *P. gigantocarpa* submetidas ao alagamento (●) e não alagadas (○) durante cinco períodos de avaliação.

A redução da concentração de amido nas plantas de *P. gigantocarpa* sob alagamento pode estar relacionada à diminuição da g_s (Figura 2 C) que deve ter influenciado na aquisição de carbono por meio da fotossíntese ou pela atividade das enzimas hidrolases α e β amilase que atuam na degradação do amido para a formação de açúcares, especialmente a sacarose que atuaria no ajustamento osmótico das plantas, para a conservação do fluxo interno de água da planta, mantendo assim o potencial hídrico em condições suficientes.

Além disso, a redução do amido nas plantas em condições de alagamento seria uma alternativa para suportar o metabolismo fermentativo que requer maior concentração de açúcar (SAIRAM, et al., 2008). Outra possível explicação seria que os carboidratos sintetizados não foram armazenados como amido durante o dia, mas diretamente transportados ao floema para abastecer as raízes como hidratos de carbono adicionais (HERSCHBACH et al., 2005).

Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo foram encontrados por Henrique et al. (2010), os quais evidenciaram redução de 59,04 e 45,05% da concentração de amido na raiz aos 5 e 20 dias e de 41,45% nas folhas aos 30 dias de alagamento em *Caesalpinia peltophoroides* Benth, Gimeno et al. (2012) que observaram redução de 52,58 e 43,87% de amido nas folhas e raízes de plantas jovens de *J. curcas* submetidas ao alagamento por 10 dias e Bertolde et al. (2012) que ao estudarem dois clones de *T. cacao*, submetidas ao alagamento, observaram diminuição de 13,04% de amido na raiz do genótipo sensível ao alagamento, TSH-774, em comparação as plantas controle. Entretanto, contrariamente a este trabalho, o autor citado anteriormente, observou aumento de 10% na concentração de amido nas raízes do genótipo tolerante ao alagamento, TSA-792, em comparação ao controle. Isso pode ser justificado pela maior translocação de carboidrato para essas raízes ou a diminuição do crescimento e das atividades metabólicas das raízes.

Relata-se que a baixa produção de energia produzida na raiz pela respiração anaeróbia reduz o crescimento da raiz e conseqüentemente a absorção de nutrientes, o que contribui para o fechamento estomático e o declínio da fotossíntese, (KREUZWIESER et al., 2004). Isso pode ter resultado na queda dos teores de amido e, por conseguinte na concentração de sacarose nas folhas das plantas alagadas de *P. gigantocarpa*.

Além disso, na raiz a demanda por carboidratos necessários para sustentar o metabolismo anaeróbio em plantas alagadas, deve ter sido compensada pela translocação de sacarose da folha, resultando no aumento deste carboidrato na raiz (KREUZWIESER et al., 2009) pelo menos nos períodos iniciais de alagamento da planta, o que pode ter sido importante na tolerância das plantas durante o experimento. O aumento no teor de sacarose também pode ter ocorrido em função da atividade das enzimas hidrolases α e β amilase que atuam na degradação do amido.

Kreuzwieser et al. (2009) observaram redução significativa na concentração de sacarose na folha e aumento significativo deste carboidrato na raiz de plantas de *G.*

Poplar em condições de alagamento por 7 dias, atribuindo esse aumento a maior taxa de translocação de sacarose das folhas para as raízes e a possíveis alterações na enzima invertase.

Após oito dias as plantas alagadas reduziram as concentrações de sacarose na raiz (Figura 8 D), possivelmente devido a elevada atividade respiratória sob anóxia/hipóxia, evidenciada pela crescente atividade da ADH e LDH nas raízes nesse período (Figura 7 B e D).

Neste estudo foi observado significativo coeficiente de correlação negativo ($P < 0,001$) entre o Ψ_x e a concentração de CST (Tabela 4). Assim, nas plantas sob alagamento, o aumento na concentração de CST nas folhas, pode está relacionado a redução do Ψ_x . Entretanto, esta relação não foi evidenciada por Gimeno et al. (2012) em *J. curcas* submetidas ao alagamento. Esses autores evidenciaram redução significativa dos CST nas folhas e raízes acompanhada da diminuição do Ψ_x .

De modo geral, o alagamento aumenta a concentração de CST (ROSA et al., 2009). O acúmulo de carboidratos seria importante na proteção de estruturas celulares como as biomembranas que poderiam ser degradadas com a deficiência hídrica no hialoplasma e pelo aumento na concentração de substâncias iônicas, inativando várias enzimas no citosol (LARCHER, 2006) ou para suprir a demanda de carboidrato da parte aérea e raiz em situações de anóxia como sugerido por Islam e Macdonald (2004) e Herschbach et al. (2005).

Bertolde et al. (2012) verificaram aumento acentuado de CST nas folhas de dois genótipos de *T. cacao*, submetidos ao alagamento em comparação as plantas controle, mas os genótipos TSH 774 de *T. cacao* (sensíveis ao alagamento) mostraram diminuições significativas na concentração desta substância nas raízes quando comparadas ao genótipo tolerante. Segundo esses autores, CST produzidos na fotossíntese, tendem a se acumular na parte aérea das plantas alagadas e não são translocados para as raízes.

Entretanto, neste estudo o aumento na concentração de CST nas raízes das plantas alagadas de *P. gigantocarpa* demonstra que a translocação dessas substâncias não foi afetada pelo estresse. Similarmente, Islam e Macdonald (2004) trabalhando com plantas jovens de *P. mariana* e *L. laricina* verificaram aumento significativo de CST nas folhas das plantas alagadas em comparação as plantas controle após 16 dias. Segundo esses autores, concentração desses carboidratos na raiz das plantas de *L.*

laricina foram significativamente maior, sugerindo um transporte contínuo dessas substâncias para as raízes.

Ademais, o aumento na concentração de CST nas raízes de plantas alagadas, tem sido relatado como forma de tolerância a esse estresse (LIAO; LIN, 2001, HENRIQUE et al., 2010) e pode está relacionado ao fluxo de sacarose e sua conversão pela enzima invertase ou na redução da demanda por carboidratos em função da diminuição do metabolismo da raiz e do crescimento.

Similarmente a este estudo, aumento significativo na concentração de CST em plantas jovens alagadas em relação ao controle também foi observada por Herschbach et al. (2005) em folhas e raízes de (*Populus tremula* x *P. alba*), Kreuzwieser et al. (2009) em folhas e raízes de *G. Poplar*, Horchani et al. (2010) em raízes de *S. lycopersicum*, Henrique et al. (2010) em raízes de *C. peltophoroides* e Oliveira Neto (2010) em folhas e raízes de *H. Courbaril*. Contrariamente a este estudo, Gimeno et al. (2012) observaram redução significativa na concentração de CST nas folhas e raízes de plantas jovens de *Jatropha curcas* L. submetidas ao alagamento por 10 dias.

Tabela 4. Coeficiente de correlação de Pearson entre aminoácidos solúveis totais em folha (ASTf), aminoácidos solúveis totais em raiz (ASTr), carboidratos solúveis totais em folha (CSTf), carboidratos solúveis totais raiz em (CSTr), prolina em folha (Prolf), prolina em raiz (Prolr), potencial hídrico do xilema foliar (Ψ_x), Glicina betaína em folha (Gbf), Glicina betaína em raiz (Gbr), amônio em folha (Amf), amônio em raiz (Amr), glutamina sintetase em folha (Gsf) e glutamina sintetase em raiz (Gsr) em plantas de *P. gigantocarpa*, nos tratamentos, irrigado (controle, C) e alagado (A) por 16 dias.

Tratamento		Variáveis bioquímicas e fisiológica						
		ASTf	ASTr	CSTf	CSTr	Prolf	Prolr	Ψ_x
C	Gbf	-0,25 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,40 [*]	0,16 ^{ns}	-0,12 ^{ns}
	Gbr	-0,02 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,25 ^{ns}	-0,17 ^{ns}
	CSTf	0,39 ^{ns}	0,20 ^{ns}	-----	-----	-0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,02 ^{ns}
	CSTr	-0,05 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-----	-----	0,14 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,03 ^{ns}
	Amf	-0,26 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,32 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,43 [*]	0,06 ^{ns}
	Amr	0,16 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,32 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,003 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,13 ^{ns}
	Gsf	0,09 ^{ns}	-0,33 [*]	0,09 ^{ns}	-0,007 ^{ns}	-0,28 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
	Gsr	0,42 [*]	0,16	0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,24 ^{ns}
A	Gbf	-0,97 ^{***}	-0,92 ^{***}	0,91 ^{***}	0,97 ^{***}	0,95 ^{***}	0,97 ^{***}	-0,83 ^{***}
	Gbr	-0,94 ^{***}	-0,82 ^{***}	0,94 ^{***}	0,93 ^{***}	0,97 ^{***}	0,95 ^{***}	-0,73 ^{***}
	CSTf	-0,90	-0,76 ^{***}	-----	-----	0,93 ^{***}	0,90 ^{***}	-0,69 ^{***}
	CSTr	-0,96 ^{***}	-0,91 ^{***}	-----	-----	0,95 ^{***}	0,97 ^{***}	-0,83 ^{***}
	Amf	0,97 ^{***}	-0,92 ^{***}	0,89 ^{***}	0,96 ^{***}	0,96 ^{***}	0,97 ^{***}	-0,84 ^{***}
	Amr	-0,84 ^{***}	-0,63 ^{***}	0,89 ^{***}	0,83 ^{***}	0,92 ^{***}	0,87 ^{***}	-0,61 ^{**}
	Gsf	0,98 ^{***}	0,94 ^{***}	-0,86 ^{***}	-0,97 ^{***}	-0,95 ^{***}	-0,98 ^{***}	0,85 ^{***}
	Gsr	0,97 ^{***}	0,95 ^{***}	-0,87 ^{***}	-0,97 ^{***}	-0,95 ^{***}	-0,98 ^{***}	0,89 ^{***}

^{ns} Não significativo pelo teste F, ^{*} significativo pelo teste F (P<0,05), ^{**} significativo pelo teste F (P<0,01) e ^{***} significativo pelo teste F (P<0,001)

3.4 CONCLUSÃO

O alagamento do solo durante dezesseis dias resultou em diminuições consideráveis no Ψ_x , gs, E e K_L indicando um eficiente controle estomático das trocas gasosas nessa espécie;

O alagamento do solo por dezesseis dias resultou em aumento significativo das concentrações de CST, prolina e glicina-betaína, indicando um possível ajustamento osmótico;

O alagamento do solo resultou no decréscimo da concentração de nitrato, da ANR e GS, o que contribuiu para a redução das concentrações de AST e PST nessa espécie;

A redução das concentrações de amido e o aumento das atividades da ADH e LDH nas plantas alagadas foi uma estratégia para manter o metabolismo fermentativo e, consequentemente, o crescimento e a sobrevivência das plantas sob estresse.

Plantas jovens de *P. gigantocarpa* sobreviveram ao período de dezesseis dias de alagamento do solo, sendo uma espécie promissora para recomposição de áreas sob saturação hídrica.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

ALAM, I.; SHARMIN, S.; A. KIM, K. H.; KIM, Y.G.; LEE, J. J.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Comparative proteomic approach to identify proteins involved in flooding combined with salinity stress in soybean. **Plant Soil**, v. 346, p. 45-62, 2011.

ALAOUI-SOSSE, B.; GERARD, B.; BINET, Ph.; TOUSSAINT.;M.L.; BADOT, P.M. Influence of flooding on growth, nitrogen availability in soil, and nitrate reduction of young oak seedlings (*Quercus robur* L.). **Annals of Forest Science**, v. 62, n. 593-600, 2005.

ALLÈGRE, A.; SILVESTRE, J.; MORARD, P.; KALLERHOFF, J.; PINELLI, E. Nitrate reductase regulation in tomato roots by exogenous nitrate: a possible role in tolerance to long-term root anoxia. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 408, p. 2625-2634, 2004.

ALVES G. A R. Asp ctos ecofisiológicos, bioquímicos e crescimento de plantas jovens de ip -amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) em condições de déficit hídrico e alagamento. Belém, 2010. 77f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

ALVES, G. A. R.; SANTOS FILHO, B. G. DOS.; LOBATO, A. K. DA SILVA. YUEN TAN, D. K.; OLIVEIRA NETO, C. F. DE.; COSTA, R. C. L. DA.; ÁVILA F. W.; MARQUES, D. JOSÉ.; GALATE, R. DOS SANTOS. Water relations, nitrogen compounds and enzyme activities in leaf and root of young Yellow Lapacho (*Tabebuia serratifolia*) plants subjected to flooding. **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 3, p. 216-222, 2012.

AROCA, R.; PORCEL, ROSA, R.; RUIZ-LOZA, J. M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, p. 1-15, 2011.

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

ASHRAF, MA.; AHMAD, MSA, ASHRAF, M.; AL-QURAINY, F.; ASHRAF MY. Alleviation of waterlogging stress in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by exogenous application of potassium in soil and as a foliar spray. **Crop Pasture Science**, v. 62, n. 1, p. 25-38, 2011.

ASHRAF, M. A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.

ASLAM, M.; TRAVIS, R.L.; RAINS, D.W. Enhancement of nitrate reductase activity and metabolic nitrate concentration by methionine sulfoximine in barley roots. **Plant Science**, v. 161, p. 133 142, 2001.

AZCON, R.; TOBAR, R.M. 1998. Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa*. Effect of drought stress. **Plant Science**, v, 133, p. 1-8.

BAILEY-SERRES, J.; CHANG. R. Sensing and signalling in response to oxygen deprivation in plant cells and other organisms. **Annals of Botany**, v. 96, p. 507-518. 2005.

BAILEY-SERRES J.; VOESENEK L.A.C.J. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 313-339, 2008.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free prline for water-stress studies. Short communication. **Plant and soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BATISTA, C. U. N., MEDRI. M. E.; MEDRI, E. B.; PIMENTA, C, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya*Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta botanica Brasilica**, v. 22, p. 91-98, 2008.

BERTANI, A.; BRAMBILLA, I.; MENEGUS, F. Effect of anaerobiosis on rice seedlings: growth, metabolic rate and fate of fermentation products. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 31, n.120, p. 325-331, 1980.

BERTOLDE, F.Z. ALMEIDA, A.-A.F. PIROVANI, GOMES, C.P. F.P. AHNERT, D. BALIGAR, V.C. VALLE, R.R. Physiological and biochemical responses of *Theobroma cacao* L. genotypes to flooding. **Photosynthetica**, v.50, n. 3, p. 447-457, 2012.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO, A, D.; SODEK, L. Nitrate uptake and metabolism by roots of soybean plants under oxygen deficiency. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 21, n. 1, p. 13-23, 2009.

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W.; JONES, R.L. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. 3ed. Maryland: American Society of **Plant Physiologists**, 2001, 1367p.

CALVO-POLANCO, M.; SE  NORANS, J.; ZWIAZEK, J. J. Role of adventitious roots in water relations of tamarack (*Larix laricina*) seedlings exposed to flooding. **Plant Biology**, p. 12-99, 2012.

CATALDO, D. A.; HAROON, S. L. E; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Commum Soil Science Plant Analyse**, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.

CENTRITO, M.; LORETO, F.; CHARTZOULAKIS, K. The use of low [CO₂] to estimate dissusional and non-diffusional limitati ons of photosynthetic capacity of salt stressed oline saplings. **Plant Cell and Environment**, p. 585-594, 2003.

CHIEN, HG.; LIN, C. C.; WANG, J-W. CHEN, C.T.; KAO, C. H. Changes in ammonium ion content and glutamine synthetase activity in rice leaves caused by excess cadmium are a consequence of oxidative damage. **Plant Growth Regulation**, p. 1-7, 2000.

DAT, J. F.; CAPELLI, N.; FOLZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT. P. M. Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 273-282, 2004.

DAVANSO, V. M.; SOUZA, L. A.; MEDRI, M. E.; PIMENTA, J. A.; BIANCHINI, E. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 3, p. 375-384, 2002.

DEBOUBA M.; MAÂROUFI-DGHIMI H.; SUZUKI A.; GHORBEL MH.; GOUIA H. Changes in growth and activity of enzymes involved in nitrate reduction and ammonium assimilation in tomato seedlings in response to NaCl stress. **Annals of Botany**, v. 99, n. 6, p. 1143-1151, 2007.

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

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

DOLFERUS, R., WOLANSKY, M., CARROLL, R., MIYASHITA, Y., ISMOND, K.; GOOD, A. Functional analysis of lactate dehydrogenase during hypoxic stress in Arabidopsis. **Functional Plant Biology**, v. 35, p.131-140, 2008.

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

EZIN, V.; DE LA PENA, R.; AHANCHEDE, A. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 1, p. 131-142, 2010.

EMBRAPA. **SWNTIA (Programa Estatístico)**. Campinas, Centro Nacional de Pesquisa Tecnológica em Informática para a Agricultura - CNPTIA (Campinas, SP).

FERREIRA, C. S.; PIEDADE, M. T. F.; FRANCO, A. C.; GONÇALVES, J.F.C.; JUNK W. J. Adaptive strategies to tolerate prolonged flooding in seedlings of floodplain and upland populations of *Himatanthus sucuuba*, a Central Amazon tree, **Aquatic Botany**, v. 90, n. 3, p. 246-252, 2009.

FOLZER, H.; DAT, J.; CAPELLI, N.; RIEFFEL, D.; BADOT, PM. Response to flooding of sessile oak: An integrative study. **Tree Physiology**, v. 26, p. 759-766, 2006.

FRANCO, A.C.; LÜTTGE, U. Midday depression in savana trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilaion and water use efficiency. **Oecologia**, Heideberg, v. 201, p. 121-131, 2004.

GHANBARY, E.; TABARI, M.; GONZÁLEZ, E.; ZARAFSHAR, M. Morphophysiological responses of *Alnus subcordata* (L.) seedlings to permanent flooding and partial submersion. **International Journal of environmental sciences**, v. 2, n. 3, 2012.

GIMENO, V.; SYVERTSEN, J P.; SIMÓN, S. I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47-55, 2012.

GONG, Ji-R.; ZHANG, X-S.; HUANG, Y-M.; ZHANG, C-L. The effects of flooding on several hybrid poplar clones in Northern China. **Agroforest System**, v. 69, n.1, p.77-88, 2007.

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

HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P., Nitrate reductase from higher plants. In: Methods in enzymology, New York, **Academic Press**, v. 17a, p. 491-503, 1971.

HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; GOULART, P. F. P.; DEUNER, S.; SILVEIRA, N. M.; ZANANDREA, I.; CASTRO, E. M. de. Physiological and anatomical characteristics of Sibipiruna plants under hipoxia. **Ciência Rural** [online], v.40, n.1, p. 70-76, 2010.

HERSCHBACH, C.; MULT, S.; KREUZWIESER, J.; KOPRIVA, S. Influence of anoxia on whole plant sulphur nutrition of flooding-tolerant poplar (*Populus tremula* x *P. alba*). **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 167-175, 2005.

HOFFMAN, N.E.; HANSON, A.D. Purification and properties of hypoxically induced lactate dehydrogenase from barley roots. **Plant Physiology**, v.82, n.3, p.664-670, 1986.

HORCHANI, F.; HAJRI, R.; KHAYATI, H.; ASCHI-SMITI, S. Physiological Responses of *Tomato plants* to the Combined Effect of Root Hypoxia An NaCl – salinity. **Journal of Phytology**, v. 2, n.11, p. 36-46, 2010.

HORCHANI, F.; ASCHI-SMITI, S. Prolonged root hypoxia effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n.12, p. 1583-1589, 2010.

HSU,Y.; TSENG, M.; LIN, C. The fluctuation of carbohydrates and nitrogen compounds in flooded was-apple trees. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 40, p. 193-198, 1999.

IPCC, 2007: Summary for Policymakers. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M.Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. Disponível em: <http://bit.ly/2X3F>. Acesso em dezembro, 2012.

ISLAM, M. A.; MACDONALD, S. E. Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. **Trees**, v. 18, p.35-42, 2004.

ISLAM MR.; HAMID A.; KHALIQ QA.; HAQUE MM.; AHMED JU.; KARIM MA. Effects of soil flooding on roots photosynthesis and water relations in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Journal of Botany**, v. 39, n. 241-243, 2010.

JAEGER, C.; GESSLER, A.; BILLER, S.; RENNENBERG, H.; KREUZWIESER, J. Differences in C metabolism of ash species and provenances as a consequence of root

oxygen deprivation by waterlogging. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 15, p. 4335-4345, 2009.

JALEEL, CA.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; PANNEERSELVAM, R. Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. **Comptes Rendus Biologies**. v. 330, n. 9, p. 674-83, 2007.

KABRICK, J. M.; DEY D. C.; VAN SAMBEEK, J. W.; COGGESHALL, M.V.; JACOBS, D. F. Quantifying flooding effects on hardwood seedling survival and growth for bottomland restoration. **New Forests**, v. 43, p. 695-710, 2012.

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

KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AM RUTHA, R. N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SRE ENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

KOGAWARA, S.; YAMANOSHITA, T.; NORISADA, M.; MASUMORI, M.; KOJIMA, K. Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. **Tree Physiology**, v. 26, p. 1413-1423, 2006.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. Physiology of Woody Plants. **Academic Press**, San Diego, p. 411, 1997.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v.1 p.1- 29, 1997.

KREUZWIESER, J.; PAPADOPOULOU, E.; RENNENBERG, H. Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. **Plant Biology** (Stuttg), v. 6, n. 3, p. 299-306, 2004.

KREUZWIESER, J.; HAUBERG, J.; HOWELL, K.; RENNENBERG A. C. H.; MILLAR, A. H.; WHELAN, J. Differential Response of Gray Poplar Leaves and Roots Underpins Stress Adaptation during Hypoxia. **Plant Physiology**, v. 149, P.461-473, 2009.

LANDSBERG, J. J. Physiological ecology of forest production. London: **Academic Press**, 1986, 198p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2006, 532p.

LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, v.25, p.148-157, 2001.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v.105, p. 1141-1157, 2010.

MEDRI, C.; PIMENTA, J. A.; SOUZA, L. A.; MEDRI, P. S.; SAYHUN S.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E. O alagamento do solo afeta a sobrevivência, o crescimento e o metabolismo de *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? Soil flooding affects the survival, growth and metabolism of *Aegiphila sellowiana* Cham. (Lamiaceae)? **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 123-134, 2012.

MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.F.; GOMES, F.B.; AGUILAR, M.A.G.; MANGABEIRA, P.A.O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 221-231, 2003.

MIELKE, M.S.; MATOS, E. M.; COUTO, V. B.; ALMEIDA, A. F. GOMES, F. P.; MANGABEIRA, P. A. O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding. **Acta botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, p. 905-911, 2005.

MUNÔZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA. R. Genio y figura de la betaína aldehído Deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, v. 28, p. 203-223, 2004.

NOBRE, C.A.; SAMPAIO, G.; SALAZAR, L. Mudanças climáticas e Amazônia. **Ciência e Cultura** v. 59, n. 3, p. 22-27, 2007.

OKUMOTO, S.; GUILLAUME, P. Amino Acids Export in Plants: A missing link in Nitrogen Cycling. **Plant Molecular Biology**, v. 4, n. 3, p. 453-463, 2011.

OLIVEIRA NETO, C.F. Crescimento, alterações ecofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L) submetidos à deficiência hídrica e ao alagamento. Belém, 2010. 93p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

PARENT, C.; CAPELLI N.; BERGER, A.; CRÈVECOEUR, M.; DAT, J. F.; An Overview of Plant Responses to Soil Waterlogging. **Plant Stress**, v. 2, n. 1, p.20-27, 2008.

PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B. E.; HERRIDGE, D. F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. **Australian Centre for International Agricultural Research**, p. 76, 1989.

PIERCE, S. C.; MOORE, M. T.; LARSEN, D.; PEZESHKI, S. R. Macronutrient (N, P, K) and Redoximorphic Metal (Fe, Mn) Allocation in *Leersia oryzoides* (Rice Cutgrass) Grown Under Different Flood Regimes. **Water Air Soil Pollut**, v. 207, p. 73-84, 2010.

PRYOR, R.J.; DAVISON, N.J.; CLOSE, D.C. 2006. Waterlogging duration; Interspecific comparison of *Leptospermum scoparium* (Forst et Forst.f.), *Acacia melanoxylon* (R. Br.), *Nothofagus cunninghamii* (Hook.) and Eucalyptus abliqua (L'Herit). **Austral Ecology**, v. 31, n.4, p. 408-416, 2006.

RAHMAN, MS.; MIYAKE H.; TAKEOKA, Y. Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.), **Plant Production Science**, v. 5, p. 33-44, 2002.

REGGIANI, R.; NEBULONI, M.; MATTANA, M.; BRAMBILLA I. Anaerobic accumulation of amino acids in rice roots: role of the glutamine synthetase/glutamate synthase cycle. **Amino Acids**, v. 18, p. 207-217, 2000.

REZAEI, MA.; KAVIANI, B.; KHARABIAN, M. A . 'The effect of exogenous glycine betaine on yield of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] in two contrasting cultivars Pershing and DPX under soil salinity stress', **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 2, p. 87-93, 2012.

ROCHA, M.; LICAUSI, F.; ARAÚJO, W.L.; NUNES-NESI, A.; SODEK, L.; FERNIE, A.R.; VAN DONGEN, J.T. Glycolysis and the Tricarboxylic Acid Cycle Are Linked by Alanine Aminotransferase during Hypoxia Induced by Waterlogging of *Lotus japonicus*. **Plant Physiology**, v. 152, p. 1501-1513, 2010a.

ROSA, M.; PRADO, C.; PODAZZA, G.; INTERDONATO, R.; GONZÁLEZ, J. A.; HILAL, M.; PRADO, F. E. Soluble sugars—Metabolism, sensing and abiotic stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n.5, p. 388-393, 2009.

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

SILVA-ORTEGA, C.O.; OCHOA-ALFARO, A.E.; REYES-AGUERO, J.A.; SANTA CRUZ, G.A.; JIMÉNEZ-BREMONT, J.F. Salt stress increases the expression of P5CS gene and induces proline accumulation in cactus pear. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 82-92, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 819p.

TOUGOU, M.; HASHIGUCHI, A.; YUKAWA, K.; NANJO, Y.; HIRAGA, S.; AKAMURA, T.; NISHIZAWA, K.; KOMATSU, S. Responses to flooding stress in soybean seedlings with the alcohol dehydrogenase transgene. **Plant Biotechnology**, v. 29, p. 301-305, 2012

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

ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J.T.; FROELICH, A.; OLIVER, S.N.; FAIX, B.; GUPTA, K.J.; SCHMÄZLIN, E.; IGAL, M.; ORCARAY, L.; ROYUELA, M.; GEIGENBERGER, P. Regulation of respiration and fermentation to control the plant internal oxygen concentration. **Plant Physiology**, v. 149, p.1087-1098, 2009.

WEATHERBURN, M. W. Phenol hipochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971-974, 1967.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As respostas de crescimento, morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas, apresentadas pelas plantas jovens de *P. gigantocarpa*, sob alagamento durante dezesseis dias, sugerem uma tolerância a esse tipo de estresse. No entanto, recomenda-se novos experimentos sob as mesmas condições com períodos de estresse maiores, para ampliar o conhecimento das estratégias adaptativas dessa espécie e, consequentemente, seu uso em programa de reflorestamento em áreas impactadas e solos inundados da Amazônia.

ANEXO

A-Normas Acta Scientiarum *Sciences*

Diretrizes para Autores

1. *Acta Scientiarum.Biological Sciences* ISSN 1679-9283 (impresso) e ISSN 1807-863X (on-line), é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes de Ciências Biológicas, incluindo anatomia, bacterologia, biologia molecular, bioquímica, botânica, citologia e biologia celular, comportamento animal, ecologia e limnologia, embriologia e histologia, morfofisiologia, genética, microbiologia, parasitologia e zoologia.
3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outra revista. Esta declaração encontra-se disponível abaixo.
4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.
5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.
6. Os artigos submetidos deverão ser em **INGLÊS**. Os autores devem providenciar uma versão com qualidade.
7. Os artigos serão avaliados por no mínimo três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.
8. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos.
Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.
9. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando este **Portal ACTA**.
10. A revisão de português e a tradução e/ou revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos aceitos a partir de 2010, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.
11. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:
 - a) No processo de submissão deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo seis), seus endereços institucionais e o e-mail do autor indicado para correspondência.
 - b) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave (não devem estar contidas no título do trabalho), Abstract, Key words, Introdução, Material e métodos, Resultados e/ou Discussão, Conclusão, Agradecimentos (opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.

- c) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras.
- d) O resumo (bem como o abstract), não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave deverão ser acrescentadas ao final, tanto do resumo como do abstract, que não estejam citadas no título.
- e) Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no MS-Word, ou compatível, utilizando Times New Roman fonte 12.
- f) O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.
- g) O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 5MB, bem como, não poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do Word.
- h) Tabelas, Figuras e Gráficos deverão ser inseridos no texto, logo após a sua citação. As Tabelas deverão ter 7,65 ou 16 cm de largura. Os Gráficos não deverão ter molduras externas, linhas internas ou mesmo cor de fundo. Para os Gráficos de barra, usar padrões de preenchimento diferentes (horizontal, vertical, listras diagonais e múltiplos pontos), deve-se evitar tons de cinza ou cores, pois não serão facilmente distinguíveis na versão impressa.
- i) As Figuras (fotos, pranchas, mapas, desenhos ou esquemas) deverão ter o tamanho máximo de 16 x 23 cm, incluindo-se o espaço necessário para a legenda. Gráficos e Figuras que possam ser publicados em uma única coluna (7,65 cm) serão reduzidos. Desta forma, será necessário atentar para o tamanho de números ou letras, para que continuem visíveis após a redução. O tipo de fonte utilizado deverá ser Times New Roman, tamanho 8 pts. Gráficos e Figuras confeccionados em planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Deve-se utilizar escala de barras para indicar tamanho a qual deverá sempre que possível, estar situada à esquerda da figura; o canto inferior direito deve ser reservado para o número da(s) figura(s).
- j) As Figuras digitalizadas deverão ter no mínimo 300 dpi de resolução, gravados em formato Jpg ou Tiff. Não serão aceitas figuras que ultrapassem o tamanho estabelecido ou que apresentem qualidade gráfica ruim. Ilustrações em cores serão aceitas para publicação somente na versão on-line, contudo, na versão em papel sairão em preto e branco.
- k) Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- l) As equações deverão ser editadas utilizando software compatível com o editor de texto.
- m) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- n) Artigos de Revisão poderão ser publicados mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.
- o) A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge* e/ou *Scopus* com menos de 10 anos. Recomenda-se evitar citações de dissertações, teses, monografias, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.
- p) Os manuscritos deverão ser submetidos em **inglês**.
- q) As citações deverão seguir os exemplos seguintes que se baseiam na ABNT. Citação no texto, usar o sobrenome e ano: Oleksiak (2008) ou (OLEKSIK, 2008); para dois autores Silva e Diniz Filho (2008) ou (SILVA; DINIZ FILHO, 2008); três ou mais

autores, utilizar o primeiro e após et al. (ANDRADE JÚNIOR et al., 2008).

MODELOS DE REFERÊNCIAS

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, justificado, conforme os exemplos seguintes que se baseiam na ABNT. Listar todos os autores do trabalho. Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados, sem o local de publicação.

Artigos

OLEKSIK, M. F. Changes in gene expression due to chronic exposure to environmental pollutants. **Aquatic Toxicology**, v. 90, n. 3, p. 161-171, 2008.

SILVA, M. M. F. P.; DINIZ FILHO, J. A. F. Extinction of mammalian populations in conservation units of the Brazilian Cerrado by inbreeding depression in stochastic environments. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 3, p. 800-803, 2008.

ANDRADE JÚNIOR, S. J.; SANTOS JÚNIOR, J. C. S.; OLIVEIRA, J. L.; CERQUEIRA, E. M. M.; MEIRELES, J. R. C. Micronúcleos em tétrades de *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. Cv. purpúrea Boom: alterações genéticas decorrentes de poluição área urbana. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 3, p. 291-294, 2008.

Livros

HAYNIE, D. T. **Biological thermodynamics**. Cambridge: Cambridge University Press, 2001.

FOSTER, R. G; KREITZMAN, L. **Rhythms of life**: the biological clocks that control the daily live of every living thing. Yale: Yale University Press, 2005.

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. Impactos dos represamentos. In: AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. (Ed.). **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Maringá: Eduem, 2007. p. 107-152.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
2. Os manuscritos deverão ser submetidos em **inglês**.
3. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 5MB).
4. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
5. O texto está em **espaço 1,5**; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 15 páginas.

6. O texto segue os padrões de estilo e quesitos bibliográficos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.
7. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação por Pares Cega.
8. TODOS OS CONTATOS MANTIDOS ENTRE O AUTOR E EDITORA DEVE MENCIONAR INICIALMENTE O NÚMERO DO MANUSCRITO INSERIDO NO SISTEMA

Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E CESSÃO DE DIREITOS AUTORAIS

Declaro que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade. Declaro, ainda, que uma vez publicado na revista **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, editada pela Universidade Estadual de Maringá, o mesmo jamais será submetido por mim ou por qualquer um dos demais co-autores a qualquer outro periódico. Através deste instrumento, em meu nome e em nome dos demais co-autores, porventura existentes, cedo os direitos autorais do referido artigo à Universidade Estadual de Maringá e declaro estar ciente de que a não observância deste compromisso submeterá o infrator a sanções e penas previstas na Lei de Proteção de Direitos Autorais (Nº9609, de 19/02/98).

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

ISSN 1679-9283 (impresso) e ISSN 1807-863X (on-line) e-mail: actabiol@uem.br