

ANGELO CLEITON DA COSTA PEREIRA

***Parkia gigantocarpa* Ducke (FABACEAE-MIMOSOIDEAE) SOB DEFICIÊNCIA
HÍDRICA NO SOLO: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE
CRESCIMENTO**

BELÉM

2013

ANGELO CLEITON DA COSTA PEREIRA

***Parkia gigantocarpa* Ducke (FABACEAE-MIMOSOIDEAE) SOB DEFICIÊNCIA
HÍDRICA NO SOLO: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE
CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.
Orientador: Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho.

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

BELÉM

2013

ANGELO CLEITON DA COSTA PEREIRA

***Parkia gigantocarpa* Ducke (FABACEAE-MIMOSOIDEAE) SOB DEFICIÊNCIA
HÍDRICA NO SOLO: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E DE
CRESCIMENTO**

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

EXAMINADOR

Prof. Dr. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho – Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dr. Gustavo Antonio 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

Aos alicerces da minha vida, meus pais,

*Raimundo Luscas Tavares Pereira e Ana da Costa Pereira e a minha
esposa Gleycilene Barros Pereira.*

*E aos meus inspiradores de como viver bem a vida, meus avós
Antonio Pereira e Ana Teixeira da Costa.*

Dedico.

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;

Ao Senhor meu Deus por me fornecer tudo o que eu preciso principalmente força e determinação para encarar essa jornada da vida;

A Nossa Senhora de Nazaré, que faz eu me sentir mais próximo de Cristo, dando-me esperança, amor e paz, renovando minha Fé a cada ano;

A minha esposa, companheira e amiga Gleycilene Pereira que não mede esforços para me apoiar, sendo compreensiva e conselheira nos momentos mais difíceis da minha vida, dando-me força, amor e ensinamento para ser um ser humano melhor todos os dias, além de ter sido peça fundamental na correção e escrita do trabalho.

Aos meus pais, Raimundo Lucas Tavares pereira e Ana da Costa da Pereira, por me mostrarem o caminho do estudo e da busca pelo conhecimento dando a vida, se possível, para ajudar a mim e meus irmãos.

Aos meus irmãos Anderson, Andrey e Franklin, pelo eterno carinho e por todas as batalhas que já passamos juntos;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Benedito Gomes, pelas suas orientações e críticas pertinentes para a elaboração do projeto;

Ao meu Co-Orientador, Prof. Dr. Cândido Neto pela ajuda, sugestões, orientações não só análises bioquímicas, mas em todo o trabalho;

Aos Doutores, Moacyr Dias Filho, Hugo Pinheiro, Lázaro Cunha, Roberto Cesar e a doutoranda Joze Melissa pelo direcionamento, críticas e sugestões dado ao trabalho;

Ao Dr. Eniel Cruz pela doação de sementes e a Dr^a Noemi Leão, pela ajuda e orientações durante a germinação e produção das mudas;

Ao meu amigo e parceiro Waldemar Viana pela ajuda e apoio em todos os momentos do experimento;

Ao Ex-Coordenador do Dr. Bira e a atual coordenação pelo apoio prestado durante o curso;

Aos meus amigos (as) construídos no curso de Mestrado, que me proporcionaram grandes trocas de conhecimento e bem estar ao estarmos juntos;

Ao povo de São Miguel do Guamá e ao de Concórdia do Pará em nome das Diretoras Cristiane e Domingas Mara, pelas licenças concedidas para cursar o Mestrado;

Aos professores, a ex-secretária (Rosangela Rodrigues) do Curso de Mestrado em Botânica Tropical e a todos que colaboraram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

AALT = aminoácidos livres totais

ATP = adenosina trifosfato

CST = carboidratos solúveis totais

CRA = conteúdo relativo de água

DC = diâmetro do caule

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

E = transpiração

F = folha

FADH = flavina adenina dinucleótido reduzido

Fd_{red} = ferrodoxina reduzida

GB = glicina betaína

GDH = glutamato desidrogenase

GOGAT = glutamato sintetase

gs = condutância estomática

GS = glutamina sintetase

H = altura

K_L = condutividade hidráulica

LEA = *late embryogenesis abundant*

NF = número de folhas

Nfol = número de folíolos

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

NAD⁺ = nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado

NADH = nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido

NF = número de folhas

NH_4^+ = amônio

NO_3^- = nitrato

PST = proteínas solúveis totais

RFA = Radiação fotossinteticamente ativa

R = raiz

RN = redutase do nitrato

RRPA = razão raiz parte aérea

Tar = Temperatura do ar

Tfol = Temperatura foliar;

UR = Umidade relativa do ar

Ψ_{am} = Potencial hídrico antemanhã

Ψ_x = Potencial hídrico do xilema foliar

SUMÁRIO

LISTA ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	6
RESUMO.....	10
ABSTRACT	12
1 CONTEXTUALIZAÇÃO.....	13
REFERÊNCIAS	19
2 RESPOSTAS BIOFÍSICAS E MORFOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS JOVENS DE FAVA-ATANÃ (<i>Parkia gigantocarpa</i> Ducke) SUBMENTIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO.....	22
RESUMO.....	22
ABSTRACT	23
2.1. INTRODUÇÃO.....	24
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.3. RESULTADOS	29
2.4. DISCUSSÃO	34
2.5. CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
3 RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE FAVA-ATANÃ (<i>Parkia gigantocarpa</i> Ducke) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO	43
RESUMO.....	43
ABSTRACT	44
3.1 INTRODUÇÃO.....	45
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.3 RESULTADOS	54
3.4 DISCUSSÃO	62
3.5 CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
CONCLUSÕES GERAIS	83

APÊNDICE	84
TABELA A: Dados das variáveis fisiológicas	85
TABELA B: Dados das variáveis morfométricas	86
TABELA C: Dados das variáveis morfométricas (massa seca)	87
TABELA D: Análise de variância dos dados morfométricos e ambientais	88
TABELA E: Análise de variância dos dados fisiológicos.....	89
TABELA F: Análise de variância dos dados bioquímicos das folhas.....	90
TABELA G: Análise de variância dos dados bioquímicos das raízes	91
ANEXO I: Tabela de propriedades químicas e físicas do solo.....	92
ANEXO II: Normas da revista Environmental and Experimental Botany.....	93
ANEXO III: Normas da revista Forest Ecology and Management.....	100

RESUMO

O mau uso dos recursos naturais e os altos índices de desmatamento nos últimos anos têm aumentado o interesse sobre o conhecimento de espécies nativas da Amazônia, principalmente para implantação de programas de reflorestamento em áreas degradadas, uma vez que o desmatamento vem provocando alterações climáticas, influenciando nos regimes de chuva na Região, que podem ser intensos ou ausentes em determinados períodos e localidades. Sendo a água um fator limitante ao crescimento e desenvolvimento de plantas, sua ausência no solo pode comprometer a distribuição de certas espécies nos ecossistemas. Dessa forma, neste trabalho foram avaliadas as magnitudes de possíveis alterações morfofisiológicas e bioquímicas em plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) submetidas a 16 dias de suspensão hídrica, avaliando sua recuperação após quatro dias de reidratação. Foi observado que ao 16º dia de estresse o comportamento fisiológico foi significativamente afetado ($p < 0,01$), reduzindo o Ψ_{am} , Ψ_x e CRA (37%, 139% e 19%, respectivamente), em resposta a redução de água no solo e, consequentemente, no tecido vegetal. A gs reduziu significativamente (85%), minimizando a perda de água por transpiração que foi reduzida a 77%, fato que explica a baixa K_L (96,5% menor) para o grupo estressado. Quanto à morfometria, foi observada uma pequena redução no número de folhas e folíolos com relação às plantas controle, além de um aumento significativo na MSR. Com relação às variáveis bioquímicas, as concentrações de solutos orgânicos e inorgânicos foram significativamente alteradas no decorrer do tempo para as plantas sob déficit hídrico, com exceção das concentrações foliares da redutase do nitrato. Ao 16º dia de estresse, tanto folhas quanto raízes apresentaram respectivas reduções nas concentrações de nitrato (77% e 82,5%), glutamina sintetase (76,6% e 77,6%), amido (68,9% e 79%), e proteínas solúveis totais (76,9% e 80,9%), com relação às plantas controle. Inversamente, o estresse hídrico promoveu o incremento de solutos nas folhas e raízes das demais variáveis, apresentando, para estes órgãos, respectivos aumentos nas concentrações de amônio (224% e 118%), carboidratos solúveis totais (291,6% e 300%), sacarose (37,6% e 82,4%), glicina-betaína (264% e 201%), concentrações de aminoácido livres totais (79,3% e 39,4%) e prolina (477% e 672,7%). Quatro dias de reidratação foram suficientes para que as plantas sob déficit hídrico retomassem seus *status* hídricos iniciais, recompondo suas funções fisiológicas e bioquímicas. De forma geral, os dados obtidos sustentam a hipótese de que plantas jovens de *Parkia gigantocarpa* possuem capacidade de tolerar e/ou de adiar de forma satisfatória a deficiência

hídrica imposta neste experimento, por meio de um eficiente controle estomático e por mecanismos de osmorregulação e osmoproteção.

Palavras-Chave: *Parkia gigantocarpa*, morfofisiologia, bioquímica, déficit hídrico, osmorregulação, tolerância à seca.

ABSTRACT

The misuse of natural resources and high rates deforestation in recent years, have increased the interest in the knowledge of native Amazonian species, mainly for implementing programs of reforestation in degraded areas, since deforestation has been causing climate change, influencing the rainfall regimes in the region, which may be intense or absent in certain periods and locations. Being water a limiting factor to the growth and development of plants, their absence in the soil may affect the distribution of certain species in ecosystems. Thus, in this work we evaluate the magnitude of possible changes morphophysiological and biochemical of fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) plant subjected a 16 day water suspension, evaluating recovery after four days of rehydration. We observed that in the 16th day of stress, physiological behavior was significantly affected ($P < 0.01$), reducing Ψ_{am} , Ψ_x and CRA (37%, 139% and 19%, respectively) in response to reduced soil water, and consequently in the plant tissue. The gs was significantly reduced (85%), minimizing water loss through transpiration that reduced to 77%, which explains the low K_L (96.5% less) for the stressed group. Regarding the morphometry, it was observed a small reduction in the number of leaves and leaflets relative to the control plants, and a significant increase in MSR. Regarding the biochemical variables, the concentrations of organic and inorganic solutes were significantly altered over time for plants under water deficit, with the exception of leaf nitrate reductase. After 16 days of stress, on both leaves and roots, showing in these organs, respective reductions in nitrate (77% and 82.5%), glutamine synthetase (76.6% and 77.6%), starch (68.9% and 79%), and total soluble proteins (76.9% and 80.9%) relative to the control plants. Inversely, drought stress increased solutes in leaves and roots, showing for these organs respective increases in ammonium concentration (224% and 118%), total soluble carbohydrates (291.6% and 300%), sucrose (37.6% and 82.4%), glycine betaine (264% and 201%), free amino acids concentration (79.3% and 39.4%) and proline (477% and 672.7%). Four days of rehydration was enough for the plants under water deficit to retake their initial water status, recovering their physiological and biochemical functions. Altogether, the data obtained indicate that fava-atanã has the ability to tolerate and / or to satisfactorily postpone the water stress imposed in this experiment, by means of an efficient stomatal control and mechanisms of osmoregulation and osmoprotection.

Keywords: *Parkia gigantocarpa*, morphophysiology, biochemistry, drought stress, osmoregulation, drought tolerance.

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Nos últimos anos, projetos de reflorestamento se tornaram cada vez mais importantes na Região Amazônica Brasileira, uma vez que os processos de degradação ambiental e o mau uso dos recursos naturais vêm acarretando consequências catastróficas aos ecossistemas; exemplo disto está na grande variedade de espécies lenhosas nativas da bacia amazônica que por décadas vem sofrendo com a indiscriminada e elevada pressão exploratória das indústrias madeireiras (CORDEIRO et al., 2009). De acordo com Lemos e Silva (2011), o processo de ocupação e colonização da região Amazônica tem devastado cerca 16,01% de floresta, o que corresponde aproximadamente a 676.165 Km², e continua em ritmo médio de 4.571 km² anualmente, principalmente por meio do corte e da queimada da vegetação (INPE, 2013). Além disso, outros processos como fragmentação de habitat, efeito de borda, corte seletivo, implantação de pastos, mineração ilegal e mais recentemente a extração de petróleo, vem contribuindo para degradação da floresta (LAURENCE et al., 2002).

Quando ocorre a substituição de florestas primárias, as quais são grandes reservatórios de carbono, por outra vegetação permanente de biomassa menor, como as pastagens, o processo do efeito estufa pode ser aumentado, principalmente se essa substituição ocorrer por meio de queimadas (ALVES; HOMMA, 2008). Estados como Pará, Mato Grosso, Rondônia e Maranhão são os que apresentam maiores taxas de desmatamento anual, resultando na liberação de 2% a 4% das emissões globais de carbono para a atmosfera, agravando ainda mais o efeito estufa (HOUGHTON et al., 2000).

Outra grande preocupação relacionada ao desmatamento está na relação existente entre a floresta e o ciclo hidrológico da região. Luchesi (1987) considera que de cada 600 toneladas de matéria orgânica por hectare de floresta, 50% é composta por água. Logo, o desmatamento de um hectare de floresta na Amazônia representa, em média, a eliminação de 300.000 litros de água do ciclo hidrológico. Levando em conta os dados do INPE em que mais de 676.165 de hectares já foram eliminadas, estima-se que mais de 202 bilhões de litros de água já foram retirados da região, o que afeta diretamente o clima, a distribuição e a conservação de água na floresta Amazônica. Exemplo disto está na redução drástica do fenômeno da evapotranspiração (evaporação direta da água do solo + transpiração das plantas) e no aumento mensal da temperatura do ar, que limita e altera os efeitos climatológicos como a formação de nuvens, podendo alterar a intensidade e o regime de chuvas na Amazônia (ALVES; HOMMA, 2008; VICTORIA et al, 1998; MARENGO et al., 2000). Sobre este assunto, Nobre et al. (2009) reporta que as variações climáticas na Amazônia podem ser

decorrentes de causas naturais e de origem antrópica. Esta última resulta do uso inadequado da terra relacionado fortemente ao desmatamento das áreas de floresta, o que implica na transferência de carbono (na forma de dióxido de carbono) da biosfera para a atmosfera, contribuindo para o aumento do efeito estufa e, consequentemente, do aquecimento global.

Já as variações climáticas de origens naturais na Região Amazônica são controladas por vários mecanismos de larga, meso e micro escalas. Um mecanismo de larga escala que tem grande influencia no clima da Amazônia é fenômeno da El Niño (HACKBART, 2008). Segundo Oliveira (1999) o fenômeno El Niño é um aquecimento anormal das águas do Oceano Pacífico Equatorial, conjugado com o enfraquecimento dos ventos alísios na região equatorial, provocando um déficit de chuvas e, consequentemente, secas de moderadas à intensas no Norte e Leste da Amazônia, aumentando a probabilidade de incêndios florestais, principalmente em áreas de florestas degradadas.

O aumento previsto nas taxas de desmatamento (SOARES-FILHO et al., 2006), bem como temperaturas mais elevadas e redução de precipitação durante os meses de seca, poderiam manifestar, a longo prazo, estações secas mais severas para a Região Amazônica, o que pode acarretar, consequentemente, limitações ao crescimento de plantas jovens nesta região, visto que na fase inicial de desenvolvimento da cultura em campo, as plantas podem ser submetidas a um déficit hídrico natural principalmente no período de menor precipitação, que no Pará ocorre entre julho a novembro (SILVA, 2009).

Diante disto, o interesse sobre o conhecimento de espécies nativas da Amazônia tem aumentado, principalmente pela necessidade de implantação de projetos de recuperação de áreas degradadas com tais espécies. Entretanto, um dos grandes entraves na recuperação das florestas nativas está na escolha e produção de mudas que possam satisfazer programas de reflorestamento, pois apesar dos esforços e do conhecimento já existentes sobre várias espécies, a maior parte dos estudos concentram-se naquelas de maior interesse econômico (CARVALHO, 2000).

Em busca de espécies chaves para a implantação de sistemas agroflorestais (SAFs) e/ou recuperação de áreas degradadas, a fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) surge com ótimos indicativos, uma vez que apresenta características naturais satisfatórias, como adaptação em pleno Sol ou em sombra seletiva, boa uniformidade e um rápido crescimento, dominância apical acentuada e índices de sobrevivência e altura notáveis (CARVALHO FILHO; MARQUES, 1979; CARVALHO, 2010). O nome Fava é atribuído a várias espécies de leguminosas (Fabaceae) do gênero *Parkia*, que inclui cerca de 30 espécies conhecidas, sendo nove encontradas na Amazônia.

A *Parkia gigantocarpa* Ducke é uma planta nativa encontrada em floresta de terra firme e esporadicamente em várzea alta da bacia Amazônica (HOPKINS; SILVA, 1986; EMBRAPA, 2004). É uma árvore de grande porte geralmente alcançando posição de dossel superior ou de emergentes nas florestas primárias e secundárias (PARROTA et al., 1995). Encontra-se distribuída naturalmente pelos Estados do Amapá, Rondônia, Amazonas e Pará, foram encontradas também fora do Brasil, no sul da Guiana Inglesa e no Peru amazônico. É uma espécie que pode atingir alturas de até 45m, contribuindo consideravelmente para a biomassa da floresta. Sua madeira pode ser empregada na fabricação de caixotes, brinquedos, compensados e laminados, além de possuir boas características para a produção de celulose (EMBRAPA, 2004). No entanto, esta espécie ainda é pouco estudada com relação a seu manejo em plantações e suas respostas morfofisiológicas e bioquímicas a estresses ambientais.

Nas espécies arbóreas como a fava-atanã, os efeitos da seca poderão ser mais significativos nos estágios iniciais de crescimento da planta (por exemplo, durante o primeiro ano de cultivo) devido ao sistema radicular superficial (CORDEIRO et al., 2009). Para Silva (2009), o sistema radicular de plantas jovens em sua fase inicial não é profundo o suficiente para explorar a água do solo a partir de horizontes mais profundos. Carvalho (2005) afirma que a sobrevivência de mudas é fundamental para o estabelecimento das plantas em programas de recuperação de áreas degradadas e/ou reflorestamento, principalmente nos dois primeiros anos de cultivo (SILVA, 2009).

Apesar da média de precipitação na região amazônica ser de 2300 mm anuais, a distribuição pluviométrica não é uniforme em toda a região, apresentando variabilidade espacial e temporal (FISCH, 1996). De acordo com os dados climatológicos utilizados na classificação climática do Estado do Pará, os resultados mostram uma maior deficiência hídrica no interior da região Nordeste, Sul e Sudoeste do Estado. Desta forma, a implantação de projetos de reflorestamento e/ou SAFs para restaurar ecossistemas degradados deverá ocorrer preferencialmente nas épocas do ano de maior disponibilidade hídrica. Entretanto, a Região Amazônica em sua grande parte está sujeita a períodos de estações secas relativamente longos.

A disponibilidade hídrica é um dos fatores ambientais limitantes da diversidade e da produtividade dos vegetais, e sua deficiência no solo pode comprometer as funções vitais ou estimular reações adaptativas que capacitem as plantas a sobreviverem por longos períodos de estresse hídrico (CHAVES; OLIVEIRA, 2004; PAIVA; OLIVEIRA, 2006). Larcher (2006) considera que o estresse hídrico pode induzir modificações e respostas em todos os níveis

funcionais do organismo, os quais podem ser reversíveis ou permanentes. Tais alterações dependem do genótipo, do estágio de desenvolvimento da planta, da duração e da severidade do estresse que está submetida, além de fatores edafo-climáticos (KREMER; BOYER, 1995; SANTOS; CARLESSO, 1998).

O abastecimento de água para uma espécie depende de interações que se estabelecem ao longo do sistema solo-planta-atmosfera, o qual é determinado pela capacidade da planta em utilizar a água armazenada no solo, enquanto a demanda da atmosfera, por outro lado, está relacionada à combinação dos fatores meteorológicos interagindo com o dossel vegetativo da cultura em campo (SANTOS; CARLESSO, 1998; TAIZ; ZEIGER, 2013).

As plantas podem absorver água em toda a superfície do seu corpo, entretanto a maior parte do suprimento de água vem do solo. A absorção de água do solo pelas raízes é determinada pelo gradiente de potencial hídrico, em que uma planta retira água do solo apenas quando o potencial hídrico de suas raízes é mais negativo do que a solução do solo. Desta forma, a água movimenta-se sempre de locais de maior potencial hídrico em direção a locais de menor potencial hídrico (KERBAUY, 2012; PAIVA; OLIVEIRA, 2006).

As plantas de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*), bem como outras espécies de vegetais, estão constantemente submetidas ao estresse por falta d'água em determinados períodos do ano, podendo apresentar um impacto negativo substancial ao seu metabolismo (SANTOS; CARLESSO, 1998), causando um conflito entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO₂ para a produção de carboidratos (TAIZ; ZEIGER, 2013). Para tentar resolver este embate algumas plantas desenvolvem mecanismos morfofisiológicos que as levam a otimizar a economia de água para uso em períodos posteriores, objetivando assim, atingirem a produção de sementes e perpetuar sua espécie (SANTOS; CARLESSO, 1998).

Os mecanismos adaptativos mais comuns utilizados pelas plantas com relação à falta de água são: o fechamento dos estômatos, ajustamento osmótico, ajustamento da parede celular, produção de folhas menores, redução da área foliar e/ou indução da abscisão foliar e aumento da densidade e profundidade das raízes. Entretanto, os mecanismos de redução da área foliar e/ou abscisão foliar e fechamento dos estômatos limitam a produtividade do vegetal, pois reduzem, respectivamente, a interceptação de luz e a absorção do gás carbônico (CO₂) do ar atmosférico, provocando uma redução da atividade fotossintética (MATTOS et al., 1999; TAIZ; ZEIGER, 2013).

De acordo com Chaves et al. (2003), o metabolismo fotossintético depende também, além de um equilíbrio hídrico, de fatores como as limitações da difusão de CO₂ na folha, da

distribuição e armazenamento de carbono em órgãos não fotossintetizantes e moléculas de defesa, ou mudanças na bioquímica da folha, que podem ser afetados pelo estresse hídrico. O déficit hídrico, pode também causar outros estresses na planta, como o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e estresse salino, pois haverá uma maior concentração de soluto no interior do protoplasma.

As respostas fisiológicas aos estresses ambientais devem ser ativadas antes que danos mais graves afetem os tecidos da planta. Contudo, são as repostas integradas que ocorrem em toda parte do vegetal que definem a sobrevivência e persistência em condições de estresses ambientais (CHAVES; OLIVEIRA, 2004).

Diversos autores reportam que a água é um dos principais fatores que regula o crescimento e a sobrevivência de plântulas e plantas jovens (CHAVES et al., 2003; TOBE et al., 2005; PAIVA; OLIVEIRA, 2006), pois promove o alongamento celular, síntese e hidratação de proteínas e a entrada de nutrientes solúveis do solo (TAIZ; ZEIGER, 2013), sendo o crescimento, o processo mais importante para se entender as respostas da planta em relação às mudanças no ambiente.

Visto que a seca é um fator ambiental que limita o crescimento de plântulas em diversos ecossistemas; na Região Amazônica não é diferente, sobretudo em áreas desmatadas das Regiões Sul e Sudeste do Estado do Pará, cujas condições climáticas favorecem um período seco definido de até cinco meses (SILVA, 2009). Dessa forma, estudos que avaliem e estimem a capacidade de espécies de plantas nativas tolerantes à seca são necessários, a fim de desenvolver SAFs e projetos de reflorestamentos que possibilitem um desenvolvimento sustentável e permanente nessas regiões degradadas; e o entendimento das respostas fisiológicas e bioquímicas relacionado à tolerância à seca é de fundamental importância para o estabelecimento de tais programas.

Neste contexto, a fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) surge como uma espécie de extrema importância ecológica, na composição florística e econômica da Amazônia, podendo integrar-se com outras culturas perenes (como espécies lenhosas frutíferas e não frutífera) e anuais via consórcio, agregando renda aos produtores sem, estimular, no entanto, o desmatamento, reduzindo desta forma, os impactos causados por este processo, como: erosão e empobrecimento do solo e aumento do efeito estufa.

Visto que o plantio de espécies lenhosas é geralmente realizado por meio de mudas, logo é de extrema importância considerar a capacidade da planta, ainda enquanto indivíduo jovem, em tolerar satisfatoriamente à seca. Dessa forma, inferiu-se que: a fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*), em seu estágio juvenil possui a capacidade de tolerar satisfatoriamente a um

período de seca? A hipótese levantada neste trabalho foi que mudas de fava-atanã seriam capazes de tolerar e recuperar-se satisfatoriamente a um período de seca por meio de um ajustamento osmótico e adaptações morfológicas. Sendo assim, em termos gerais, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a ecofisiologia de plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*) cultivadas sob dois regimes hídricos: plantas irrigadas (controle) e plantas estressadas (sob déficit hídrico). Em termos específicos, os objetivos foram avaliar possíveis alterações fisiológicas, bioquímicas e de crescimento desta mesma espécie sob as mesmas condições descritas acima, além de avaliar uma possível recuperação das plantas estressadas após serem reidratadas.

Para melhor entendimento dos efeitos e das respostas de plantas jovens de fava-atanã submetidas ao déficit hídrico, o trabalho foi dividido em dois capítulos: o primeiro trata das respostas Fisiológicas e Morfológicas da espécie submetida ao estresse hídrico relacionando-as ao seu crescimento e o segundo trata das respostas Bioquímicas da planta. Em ambos os capítulos serão averiguadas a capacidade de recuperação das plantas estressadas com relação às plantas controle após um período de reidratação.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. N. B.; HOMMA, A. K. O. **Amazônia: do verde ao cinza**, 2^a Ed. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008.
- COHEN, Júlia Clarinda Paiva. **Um Estudo observacional de linhas de instabilidade na Amazônia**. 1989. 153 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, SP, 1989.
- CARVALHO, C.J.R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. **Revista Árvore**, v. 29, p. 907-914, 2005.
- CARVALHO FILHO, A. P. MARQUES, L. C. T. Seleção de espécies promissoras para atividade de reflorestamento em função das características silviculturais relatório técnico de avaliação preliminar. **Brasil Florestal**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 37, p. 72-87, jan./mar. 1979.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas; Colombo-PR: Embrapa Florestas, 2010. 644p.
- CARVALHO, P. E. R. **Produção de mudas de espécies nativas por sementes e a implantação de povoamentos**. In: GALVÃO, A. P. M (Org.). **Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais**. Brasília: EMBRAPA, 2000. P. 157-174.
- CHAVES M.M., OLIVEIRA M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55(n. 407), 2004, p. 2365-2384.
- CHAVES M.M., MAROCO J.P., PEREIRA J.S. Understanding plant responses to drought – From genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239-264. 2003.
- CORDEIRO, Y. E. M.; PINHEIRO, H. A.; SANTOS FILHO, B. G. DOS.; CORREA, S. S.; SILVA, J. R. R. e.; DIAS-FILHO, M. B. Physiological and morphological responses of young mahogany (*Swietenia macrophylla* King) plants to drought. **Forest Ecology and Management**, v. 258, 2009, p. 1449–1455.
- EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. **Espécies arbóreas da Amazônia N°11**: *Fava-atanã, Parkia gigantocarpa* Ducke. 2004.

FISCH, G.; MARENKO, J.A.; NOBRE, C.A. Uma revisão geral sobre o clima da Amazônia. **Acta Amazônica**, 28, 101-126. 1998.

HACKBART, E. **Oscilação Decadal do Pacífico** - Cientistas reconstruem o clima do planeta. 2008. Disponível em:<http://www.metsul.com/secoes/visualiza.php?cod_subsecao=31&cod_texto=7>. Acesso em 25 de fevereiro de 2011.

HOPKINS, H. C. F.; SILVA, M. F. **Parkia (Leguminosae: Mimosoidea); Dimorphandra (Caesalpiniaceae)**. New York: New York Botanica Garden, 1986, 128p. (Flora Neotropical. Monograph 43-44).

HOUGHTON, R.; SKOLE, D. L.; NOBRE, C. A.; HACKLER, J. L.; LAWRENCE, K. T.; CHOMENTOWSKI, W. H. Annual fluxes of carbon from deforestation and regrowth in Brazilian Amazon. **Nature**, v. 430, p. 301-304, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS – INPE. Resultado consolidado do PRODES mostra redução de 29% no desmatamento na Amazônia em 2012. **Notícia**. jun. 2013. Disponível em: <http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=3301>. Acesso em: 29 de julho de 2013.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. Water Relations of Plants and Soils. **Academic Press**. San Diego, 1995, p.495.

LARCHER W. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução: Prado, C.H.B.A. São Carlos-SP: Ed. RIMA 2006.

LAURENCE, W. A. R.; ALBERNAZ, A. K. M.; SCHROTH, G.; FEARNSIDE, P. M.; BERGEN, S.; VERTICINQUE, E. M.; COSTA, C. Predictors of deforestation in Brazil Amazon. **Journal of Biogeography**, v 29, p. 737-748, 2002.

LEMOS, A. L. F.; SILVA, J. A. Desmatamento na Amazônia Legal: Evolução, Causas, Monitoramento e Possibilidades de Mitigação Através do Fundo Amazônia. **Floresta e Ambiente**. V. 18, n. 1, p. 98-108, 2011

LUCCHESI, A. A. **Fatores da produção vegetal**. In: CASTRO, P. R. C.; FERREIRA, S. O.; YAMADA, T. Ecofisiologia da produção agrícola. Piracicaba: POTAPOS, p. 1-11, 1987.

MARENKO, J.; BHATT, U.; CUNNINGHAM, C. Decadal and multidecadal variability of climate in the Amazon basin. **International Journal of Climatology**, v. 20, p. 503-518, 2000.

NOBRE, C.A; SAMPAIO, G.; SALAZAR, L. Mudanças climáticas globais. **Ciência e Cultura**, v. 59, p. 22-27, 2009.

PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M. de. **Fisiologia e Produção Vegetal**. 1^a Ed. Lavras - MG: Editora UFLA, 2006.

OLIVEIRA, G. S. **El Niño e você: o fenômeno climático**. São José dos Campos - SP: Transtec, 1999.

PARROTA, J. A.; FRANCIS, J. K.; ALMEIDA, R. R. **Trees of Tapajós: a photographic Field guide**. (General technical report - IITF). United States: Department of agriculture/International Institute of Tropical Forestry, 1995. 370p. il.

SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, Campina Grande, PB, DEAg/UFPB, 1998

SILVA, J. R. R. e. **COMPORTAMENTO ECOFISIOLÓGICO DE PLANTAS JOVENS DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) SOB DOIS REGIMES HÍDRICOS**. 2009. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA, 2009.

SOARES-FILHO, B.S.; NEPSTAD, D.C.; CURRAN, L.M.; CERQUEIRA, G.C.; GARCIA, R.A.; RAMOS, C.A.; VOLL, E.; McDONALD, A.; LEFEBVRE, P.; SCHLESINGER, P. Modelling conservation in the Amazon basin. **Nature**, v. 440, p. 520-523, 2006. Disponível em: <<http://www.csr.ufmg.br/csr/publicacoes/NATURE04389.pdf>>. Acesso em: 29 set 2011.

TAIZ L.; ZEIGER E. Tradução: SANTARÉM, E. R. [et al.]. **Fisiologia Vegetal**, 5^a ed. Porto Alegre: Artmed. 2013.

TOBE, K.; ZHANG, L.; OMASA, K. **Annals of Botany**, v. 95: p. 649-659. 2005.

VICTORIA, R.; MATINELLI, L.; MORAES, J.; BALLESTER, M.; KRUSCHE, A.; PELLEGRINO, G.; ALMEIDA, R.; RICHEY, J. Surface air temperature variations in the Amazon region and its border during this century. **Journal of Climate**, v. 11, p. 105-1110. 1998.

2. RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS JOVENS DE FAVA-ATANÃ (*Parkia gigantocarpa* Ducke) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

A. C. C. PEREIRA^{a,b*}, B. G. SANTOS FILHO^{a,b}, C. F. OLIVEIRA NETO^b

Museu Paraense Emílio Goeldi. Campus de Pesquisa - Coordenação de Botânica
Av. Perimetral, 1901, CEP 66017-970 Belém – PA, Brasil^a

Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Ciências Agrárias
Av. Perimetral. 2501, CEP 66077-530, Belém – PA, Brasil^b

RESUMO

Plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) foram submetidas à deficiência hídrica por 16 dias em casa de vegetação para investigar possíveis estratégias morfofisiológicas que permitem a manutenção do turgor da folha, avaliando sua recuperação após ser retomada a irrigação. Ao 16º dia de estresse, o comportamento fisiológico foi significativamente afetado ($P < 0,01$), reduzindo o Ψ_{am} , Ψ_x e CRA (37%, 139% e 19%, respectivamente), em resposta a redução de água no solo e, consequentemente, no tecido vegetal. A gs reduziu significativamente (85%), minimizando a perda de água por transpiração que foi reduzida a 77%, fato que explica a baixa K_L (96,5% menor) para o grupo estressado. Quanto à morfometria, foi observado uma pequena redução no número de folhas e folíolos com relação às plantas controle, além de um aumento significativo na MSR, tais respostas podem ser interpretadas como estratégia de economia e eficiência no uso de água pelas plantas submetidas à baixa disponibilidade hídrica. Quatro dias de reidratação foi suficiente para que as plantas sob déficit hídrico retomassem seus *status* hídricos iniciais, recompondo suas funções fisiológicas. Ao todo, nossos dados apontam que o fava-atanã possui a capacidade de tolerar e/ou de adiar de forma satisfatória a deficiência hídrica imposta neste experimento.

Palavras-Chave: *Parkia gigantocarpa*, condutância estomática, transpiração, potencial hídrico, déficit hídrico.

2. MORPHOPHYSIOLOGICAL RESPONSES OF YOUNG FAVA-ATANÃ (*Parkia gigantocarpa* Ducke) PLANTS SUBJECTED TO WATER STRESS AND REHYDRATION

ABSTRACT

Young fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) plants were subjected to drought stress for 16 days in a greenhouse to investigate some morphophysiological strategies that allow the maintenance of leaf turgor, evaluating recovery after the resumption of irrigation. In the 16th day of stress, physiological behavior was significantly affected ($P < 0.01$), reducing Ψ_{am} , Ψ_x and CRA (37%, 139% and 19%, respectively) in response to reduced soil water, and consequently in the plant tissue. The gs was significantly reduced (85%), minimizing water loss through transpiration that reduced to 77%, which explains the low K_L (96.5% less) for the stressed group. Regarding the morphometry, it was observed a small reduction in the number of leaves and leaflets relative to the control plants, and a significant increase in MSR, such responses can be interpreted as a strategy for economy and efficiency in the use of water by plants subjected to low water availability. Four days of rehydration was enough for the plants under water deficit to retake their initial water status, recovering their physiological functions. Altogether, our data indicate that fava-atanã has the ability to tolerate and / or to satisfactorily postpone the water stress imposed in this experiment.

Keywords: *Parkia gigantocarpa*, stomatal conductance, transpiration, water potential, drought stress.

2.1. INTRODUÇÃO

Por décadas a Região Amazônica Brasileira vem sofrendo com elevada e indiscriminada pressão exploratória de seus recursos naturais, além da má utilização do seu solo. O processo de ocupação e colonização da região Amazônica tem devastado cerca 16,01% de floresta, o que corresponde aproximadamente a 676.165 Km², e continua em ritmo médio de 4.571 km² anualmente, principalmente por meio do corte e da queimada da vegetação (Lemos; Silva, 2011; INPE, 2013). Como consequência, grande parte da biodiversidade, em especial a floresta, vem sendo reduzida em níveis alarmantes. Devido a isto, nos últimos anos, projetos de reflorestamento se tornaram cada vez mais importantes na Região Amazônica, principalmente em áreas degradadas (Cordeiro et al., 2009).

Apesar da média de precipitação na Região Amazônica ser de 2300 mm anuais, a distribuição pluviométrica não é uniforme em toda a região, apresentando variabilidade espacial e temporal (Fisch et al., 1998), e em sua grande parte a Amazônia está propensa a períodos de seca relativamente longos. Além disso, o desmatamento intensivo da floresta vem contribuindo para alteração do clima; um exemplo disto está na forte relação existente entre a floresta e o ciclo hidrológico da região, pois de acordo com Luchesi (1987), de cada 600 toneladas de matéria orgânica por hectare de floresta, 50% é composta por água. Estima-se que mais de 202 bilhões de litros de água já foram retirados da Região. Isto tem efeito direto na redução do fenômeno da evapotranspiração e no aumento mensal da temperatura do ar, que limita e altera os efeitos climatológicos, como a formação de nuvens, podendo alterar a intensidade e o regime de chuvas (Alves; Homma, 2008; Victoria et al, 1998; Marengo et al., 2000).

Em busca de espécies chaves para a implantação de sistemas agroflorestais (SAFs) e/ou recuperação de áreas degradadas, a fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) surge com ótimos indicativos. É uma espécie pertencente a família Fabaceae, apresentando características naturais satisfatórias, como adaptação em pleno Sol ou em sombra seletiva, boa uniformidade, rápido crescimento, dominância apical acentuada e índices de sobrevivência e altura notáveis, podendo alcançar 45 m de altura (Carvalho Filho; Marques, 1979; Carvalho, 2010). Entretanto pouco se sabe de seu comportamento frente a tensões ambientais adversas, como déficit hídrico.

Sendo a água um dos fatores ambientais mais importantes para a diversidade e produtividade dos vegetais sua deficiência pode comprometer as funções vitais ou estimular reações adaptativas que capacitem as plantas a sobreviverem por longos períodos de estresse

hídrico (Chaves et al., 2003; Paiva; Oliveira, 2006). Larcher (2006) considera que o estresse hídrico pode induzir modificações e respostas em todos os níveis funcionais do organismo: fisiológicos, morfológicos e bioquímicos, os quais podem ser reversíveis ou permanentes. Tais alterações dependem do genótipo, do estágio de desenvolvimento da planta, da duração e da severidade do estresse que está submetida, além de fatores edafo-climáticos (Kremer; Boyer, 1995; Santos; Carlesso, 1998).

Em termos de relações hídricas, plantas sob seca desenvolvem mecanismos eficientes que controlam a perda de água a través dos estômatos (transpiração), fornecendo (ou mantendo) o turgor da folha. Isto inclui respostas estomáticas ao potencial hídrico do solo e variação das condições ambientais, em especial a temperatura e umidade do ar, radiação e diferença de pressão de vapor DPV (Sellin; Kupper, 2004; Pinheiro et al., 2005; Cordeiro et al., 2009). O acúmulo de substâncias osmoticamente ativas poderão também manter o turgor da folha em condições de déficit hídrico melhorando a captação de água do solo durante a seca (Oliveira Neto, 2010; Alves, 2010).

A intensificação do déficit hídrico causada por alterações ambientais de origem antrópica e/ou naturais, pode acarretar limitações ao crescimento de plantas jovens na Região Amazônica, visto que na fase inicial de desenvolvimento da cultura em campo, as plantas podem ser submetidas a um déficit hídrico natural, principalmente por apresentar um sistema radicular superficial (Silva, 2009; Cordeiro et al., 2009). Logo é de extrema importância considerar a capacidade da espécie vegetal, ainda enquanto indivíduo jovem, em tolerar e/ou adiar satisfatoriamente a um período de seca por meio de adaptações morfofisiológicas.

Assim, o presente trabalho objetivou avaliar as magnitudes das respostas fisiológicas e de crescimento de plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) durante 16 dias de suspensão hídrica e sua capacidade de recuperação após serem reidratadas por quatro dias.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1. Local do experimento

O trabalho foi realizado em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém-Pará (01°28'03"S, 48°29'18"W) no período de 23/07/2012 a 23/09/2012.

2.2.2. Produção das mudas

As mudas de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) utilizadas no experimento, vieram de 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 escarificadas para quebrar a dormência e imediatamente semeadas em bandejas de plástico, contendo areia e serragem esterilizada, na proporção de 1:1. Após a emergência, as mudas foram repicadas para sacos de polietileno, 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 de fava-atanã foram selecionadas uniformemente considerando altura (média de 32 cm), diâmetro do caule (média de 8,5 mm), número de folhas e número de folíolos (média de 19,6 unid. e 415 unid. respectivamente) sendo transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 14 L, contendo o mesmo substrato, não havendo necessidade de correção conforme análise química do solo realizada pela EMBRAPA Amazônia Oriental (anexo I).

Antes de serem submetidas aos tratamentos, as plantas jovens de *P. gigantocarpa* foram irrigadas diariamente durante 45 dias para mantê-las na capacidade de campo e para acclimatá-las às condições ambientais do experimento, sendo efetuada a pesagem do conjunto vaso/planta periodicamente, para reposição da água evapotranspirada, conforme diferença de peso.

2.2.3. Tratamentos e condução das plantas

Após o período de aclimatação as plantas com cerca de quatro meses de idade foram separadas em dois grupos os quais constituíram os tratamentos; um continuou recebendo irrigação regularmente (plantas controle), e o outro foi suspensa a irrigação por 16 dias (plantas estressadas). Após as avaliações do 16º dia às 17:00 h as plantas do tratamento estressado foram reidratadas durante quatro dias, ao final do qual foram realizadas as mesmas avaliações fisiológicas e morfológicas mensuradas anteriormente.

2.2.4. Variáveis estudadas

2.2.4.1. Ambientais

As médias de temperatura do ar (T_{ar}) e umidade relativa do ar (UR) foram obtidas através de um termohigrômetro (mod. 5203, Incoterm Ind., Porto Alegre-RS, Brasil), colocados no interior da casa de vegetação, e o déficit de pressão de vapor folha-ar (DPV_{fa}) foi estimado de acordo com Landsberg (1986), considerando os dados de temperaturas do ar e

da folha (T_{fol}). As medidas foram realizadas em paralelo com o potencial hídrico foliar (ψ_x) e as avaliações de trocas gasosas.

2.2.4.2. Fisiológicas

A condutância estomática (g_s), a transpiração (E) e a temperatura da folha (T_{fol}) foram determinadas por meio de um porômetro de equilíbrio dinâmico (Li-1600; LiCor Bioscience, Lincoln, NE, USA) e o fluxo de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foi determinado por meio de um sensor quântico acoplado ao porômetro. As medições foram determinadas sob condições de luz e CO_2 ambiente (COSTA; MARENCO, 2007).

O Potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) foi determinado entre 4:30 e 5:30h e o potencial hídrico do xilema (Ψ_x) foi determinado entre 10:00 e 12:00h por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (mod. 670, PMS Instrument Co., Albany, OR, USA) como descrito por Pinheiro et al. (2008). As medições ocorreram nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias (este último dia corresponde a reidratação).

Tanto para medições do potencial hídrico quanto para as medições de trocas gasosas foram selecionados como amostras cinco diferentes folíolos fisiologicamente ativos do segundo ou terceiro par de folhas a partir do ápice. As medições ocorreram nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias, sempre entre 10:00 às 12:00h. coincidindo com a retirada das amostras para as análises bioquímicas.

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

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

K_L = Condutividade hidráulica;

g_s = Condutância estomática;

DPV_{fa} = Déficit de pressão e vapor entre a folha e o ar;

Ψ_{am} = Potencial hídrico antemanhã

Ψ_x = Potencial hídrico do xilema foliar

O conteúdo relativo de água foi determinado nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias sempre às 6:00h, pela fórmula a seguir, segundo Slavick (1979), no início de cada período de avaliação.

$$CRA = (MF_1 - MS) / (MF_2 - MS) \times 100, \text{ onde:}$$

CRA = conteúdo relativo de água (%);

MF_1 = massa fresca (g);

MS = massa seca (g) e

MF₂ = massa túrgida (g).

Foram retirados 05 discos foliares de 10 mm de diâmetro (um de cada folíolo), os quais foram pesados em balança analítica para obter a massa fresca (MF₁). Esses mesmos discos foram colocados para flutuar em água destilada (35 mL), contidas em placas de Petri por 24 h a 25°C, após este período os discos foram colocados em papel filtro, por um minuto, para retirar o excesso de água e em seguida foram pesados para determinar a massa túrgida (MF₂). Depois os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (75° C) por 48 h e posteriormente foram pesados para determinar a massa seca (MS).

2.2.4.3. Morfometria da planta

Dentre as variáveis de crescimento relacionadas à morfologia da parte aérea e sistema radicular, foi avaliado o seguinte: a altura relativa das plantas (AP), obtida através de uma trena presa a uma régua de madeira; o diâmetro do caule (DC), obtido com o auxílio de um paquímetro mecânico (m3545605128, Vonder Co., Curitiba, Brasil), medindo a seção caulinar na porção basal; o ganho percentual de folhas, foram determinados pela contagem diária do número de folhas e folíolos existentes na planta durante o período experimental (20 dias). As plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos para evitar perca de material, em seguida foi separando a parte aérea do sistema radicular, acondicionando-as em sacos de papel para serem secadas em estufa (72°C até atingir massa constante) para a obtenção da massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA = soma das massas secas de folíolos, pecíolo e caule) e massa seca total (MST). As medições das variáveis biométricas e de crescimento foram realizadas ao inicio (dia zero), ao final do período de estresse (16° dia) e ao 20° dia (reidratação) do experimento (Silva, 2009), coincidindo com os horários das trocas gasosas.

2.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em fatorial do tipo 2 x 6 (condições hídricas x tempo), consistindo de dois tratamentos (Irrigado e Déficit hídrico) com 5 (cinco) repetições, totalizando 60 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

2.3.1. Condições ambientais

Observou-se que o experimento apresentou variáveis ambientais reativamente constante durante o horário das avaliações a cada período de coleta, indicando que as determinações biofísicas foram realizadas sob as mesmas condições. Dessa forma, a umidade relativa do ar (UR) variou em média de 61% a 77,2% (Fig. 1-a), a temperatura do ar (T_{ar}) variou de 30,4°C a 35,36°C (Fig. 1a), a temperatura foliar (T_{fol}) variou de 30,5°C a 35,42% (Fig. 1a), a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) variou de $183,5 \mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$ a $511,3 \mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig. 1b). Utilizando as médias da T_{ar} , T_{fol} e UR foi calculado o déficit de pressão e vapor entre a folha e o ar (DPV_{fa}) que variou de 0,26 KPa a 0,49 KPa, não havendo diferença significativa entre os tratamentos para essas variáveis ($P < 0,05$) (Fig. 1b).

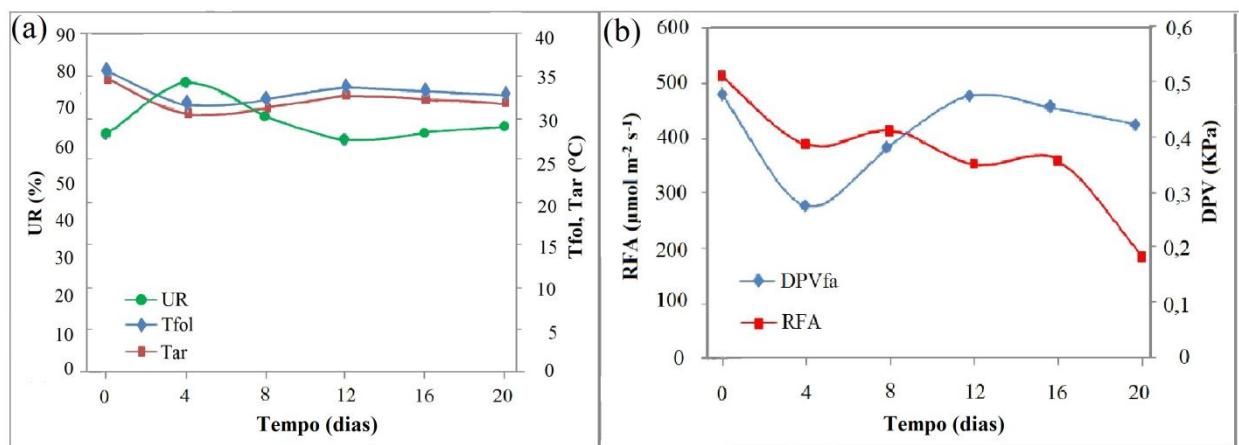


FIGURA 1. Condições ambientais durante 20 dias de experimento em casa de vegetação. Em (a): umidade relativa do ar (UR), temperatura da folha (T_{fol}) e temperatura do ar. Em (b): déficit de pressão e vapor entre a folha e o ar (DPV_{fa}) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média. Belém-Pa, 2013.

2.3.2. Variáveis fisiológicas

No decorrer do experimento foi observado que as variáveis analisadas foram afetadas com a deficiência hídrica e que quando reidratadas por quatro dias aproximaram-se ao seu estado inicial, não apresentando diferenças estatísticas entre o grupo controle e grupo estressado.

O Ψ_{am} , CRA, Ψ_x , K_L , gs e a E apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos e entre os tempos, ocorrendo interação tratamentos vs. tempos para as plantas estressadas ($P < 0,05$). Entretanto os *status* do Ψ_{am} , CRA, Ψ_x , K_L , gs e a E das plantas controle não se alteraram estatisticamente no decorre do experimento ($P < 0,05$) (Fig. 2).

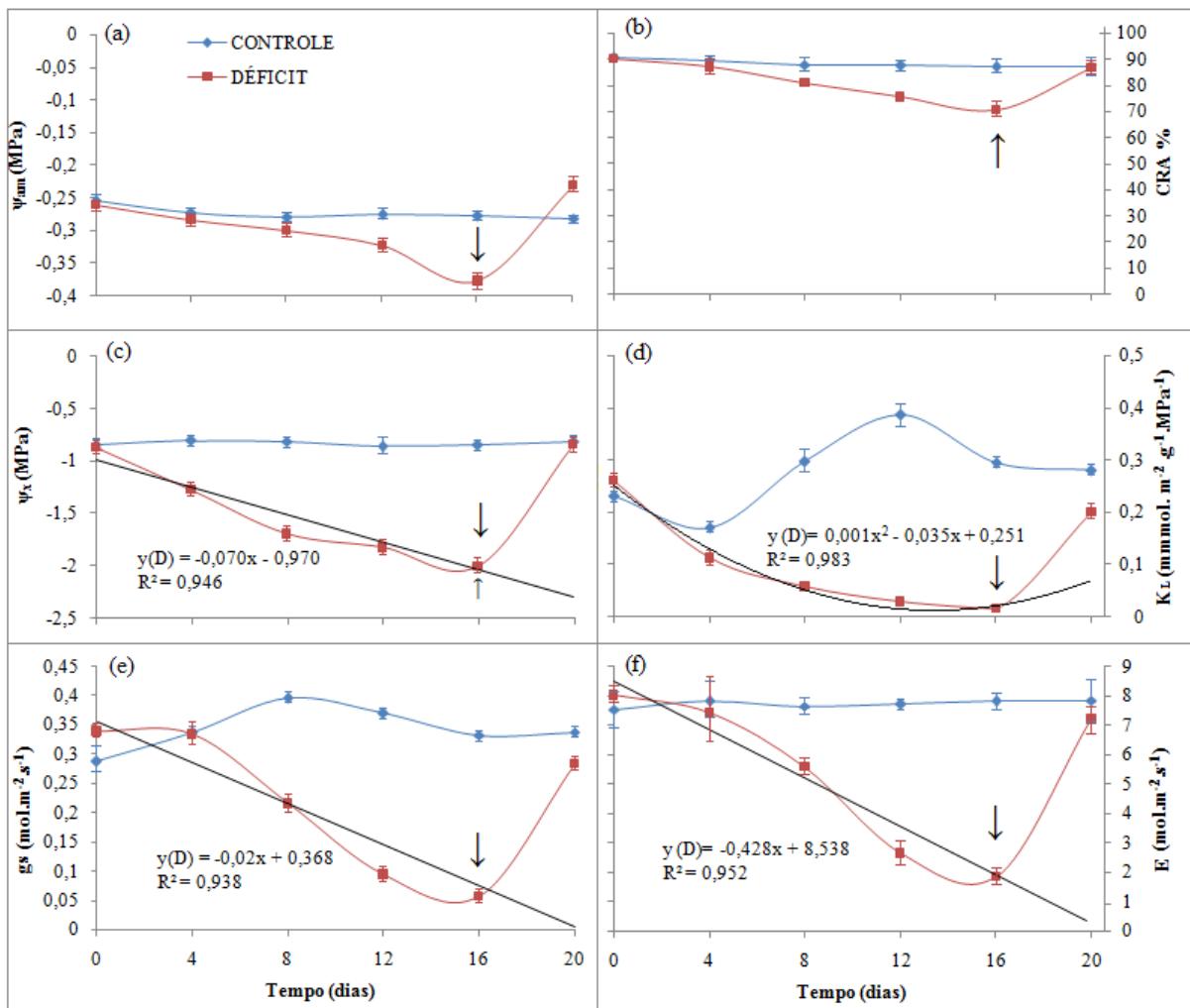


FIGURA 2: Potencial hídrico antemanhã – Ψ_{am} (a); conteúdo relativo de água – CRA (b); potencial hídrico foliar do xilema – Ψ_x (c); condutividade hidráulica – K_L (d); condutância estomática – gs (e); transpiração – E (f) em plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

A suspensão hídrica promoveu um decréscimo gradual e significativo no Ψ_x , Ψ_{am} , CRA, gs , E e na K_L nas plantas de fava-atanã, principalmente ao 12º e ao 16º dia de estresse, os quais apresentaram os menores valores para essas variáveis com relação as plantas controle (Fig. 2). Nesses respectivos dias de estresse o Ψ_{am} foi de -0,32 e -0,37 MPa, reduzindo 18,5% e 37% respectivamente com relação ao controle; o CRA foi de 75,42% e 70,53%, reduzindo 13,7% e 19% respectivamente com relação ao controle; o Ψ_x foi de -1,83 e -2,01 MPa, reduzindo 112,8% e 139% respectivamente com relação ao controle; a gs foi de 0,09 e 0,05 $mol.m^{-2}.s^{-1}$, reduzindo 75% e 85% respectivamente com relação ao controle; a E foi de 2,6 e 1,8 $mol.m^{-2}.s^{-1}$, reduzindo 66,2% e 77% respectivamente com relação ao controle; a K_L foi de 0,02 e 0,01 $mmmol. m^{-2}.g^{-1}$, reduzindo 94,7% e 96,5% respectivamente com relação ao controle. Todas variáveis fisiológicas atingiram os valores iniciais após quatro dias de

reidratação, não apresentando diferenças significativas com relação às plantas controle ($P < 0,05$) (Fig. 2, Tab. A – apêndice).

2.3.3. Análise de correlação

Os dados de correlação estão apresentados na tabela 1. Nas plantas controle não foi observado nenhuma correlação significativa entre gs as variáveis ambientais (UR, RFA e DPV_{fa}) e entre a gs e variáveis biofísicas (E , Ψ_x , Ψ_{am} , CRA e K_L). O mesmo resultado foi observado para E , Ψ_x , Ψ_{am} , CRA e K_L com relação às variáveis ambientais e fisiológicas analisadas, os quais não apresentando correlação significativa para tais variáveis (Tab. 1). Já em plantas sob déficit hídrico foi observado correlação altamente significativa e positiva entre a $gs \times E$, $gs \times \Psi_x$, e $gs \times CRA$ ($P < 0,01$), e entre $gs \times \Psi_{am}$ e $gs \times K_L$ ($P < 0,05$), não havendo correlação significativa com as variáveis ambientais. A E seguiu o mesmo comportamento da gs , visto que entre estas ocorreu alta correlação ($r = 0,99 P < 0,01$) (Tab. 1). Estes dados indicam que, nas plantas sob déficit hídrico, tanto a gs como a E foram potencialmente sensíveis às flutuações do Ψ_x , Ψ_{am} e do CRA (Fig. 2). No entanto, tais correlações não foram significativas em plantas controle. Ao ser retomada a irrigação por quatro dias para as plantas estressadas, foi observado um incremento significativo no Ψ_x , Ψ_{am} e no CRA, assumindo valores de -0,84 MPa, -0,23 MPa e 86,7%, respectivamente, o que promoveu um incremento de 5,6 vezes na gs , de 4 vezes na E e de 20 vezes na K_L com relação aos valores apresentados no 16º dia de estresse (Fig. 2), mostrando a alta dependência dessas variáveis a quantidade de água no solo.

TABELA 1

Coeficientes de correlação de Pearson entre condutância estomática (gs), transpiração (E), potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) e do xilema foliar (Ψ_x), conteúdo relativo de água (CRA), condutividade hidráulica (K_L), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), déficit de pressão e vapor entre a folha e o ar (DPV_{fa}), nº de folhas (NF), nº de folíolos (Nfol), diâmetro do caule (DC), altura (H), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), razão entre raiz e parte aérea (RRPA) em plantas irrigadas (controle) e sob déficit hídrico (estressadas) de fava-atanã (*P. gigantocarpa*). Para as análises foram utilizadas 60 observações (n).

TRATAMENTO	VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS, AMBIENTAIS E MORFOMÉTRICAS.					
	gs	E	Ψ_{am}	Ψ_x	CRA	K_L
CONTROLE	gs	----	----	----	----	-----
	E	0,13 ^{ns}	----	----	----	-----
	Ψ_{am}	-0,74 ^{ns}	-0,72 ^{ns}	-----	-----	-----
	Ψ_x	0,31 ^{ns}	0,30 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	-----	-----
	CRA	-0,57 ^{ns}	-0,58 ^{ns}	0,88*	0,04 ^{ns}	-----
	K_L	0,52 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,41 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	-0,70 ^{ns}
	UR	0,09 ^{ns}	0,30 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,38 ^{ns}
	RFA	0,08 ^{ns}	-0,43 ^{ns}	0,53 ^{ns}	-0,31 ^{ns}	0,61 ^{ns}
	DPV _{fa}	-0,02 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	0,23 ^{ns}	-0,84*	-0,24 ^{ns}
	NF	0,04 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,73 ^{ns}
	Nfol	0,07 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,74 ^{ns}
	DC	0,05 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,81*
	H	0,4 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,94**
	MSPA	0,17 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,92**
	MSR	0,25 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,77 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,78 ^{ns}
	MST	0,19 ^{ns}	0,69 ^{ns}	-0,72 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,84*
	RRPA	0,28 ^{ns}	0,52 ^{ns}	-0,59 ^{ns}	-0,36 ^{ns}	-0,78 ^{ns}
DÉFICIT HÍDRICO	gs	----	----	----	----	-----
	E	0,99**	----	----	----	-----
	Ψ_{am}	0,88**	0,90**	-----	-----	-----
	Ψ_x	0,88**	0,90**	0,93**	-----	-----
	CRA	0,94**	0,95**	0,89**	0,96**	-----
	K_L	0,82*	0,85*	0,84*	0,96**	0,95**
	UR	0,50 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,20 ^{ns}
	RFA	0,21 ^{ns}	0,20 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,21 ^{ns}
	DPV _{fa}	-0,47 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,17 ^{ns}
	NF	0,40 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,32 ^{ns}
	Nfol	0,46 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,40 ^{ns}
	DC	0,66 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,62 ^{ns}
	H	-0,00 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,01 ^{ns}
	MSPA	-0,63 ^{ns}	-0,58 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,36 ^{ns}	-0,58 ^{ns}
	MSR	-0,58 ^{ns}	-0,53 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	-0,52 ^{ns}
	MST	-0,60 ^{ns}	-0,55 ^{ns}	-0,22 ^{ns}	-0,30 ^{ns}	-0,54 ^{ns}
	RRPA	-0,58 ^{ns}	-0,52 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,50 ^{ns}

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

2.3.5. Variáveis morfométricas.

Os dados das variáveis morfométricas estão apresentados na figura 3. No início do

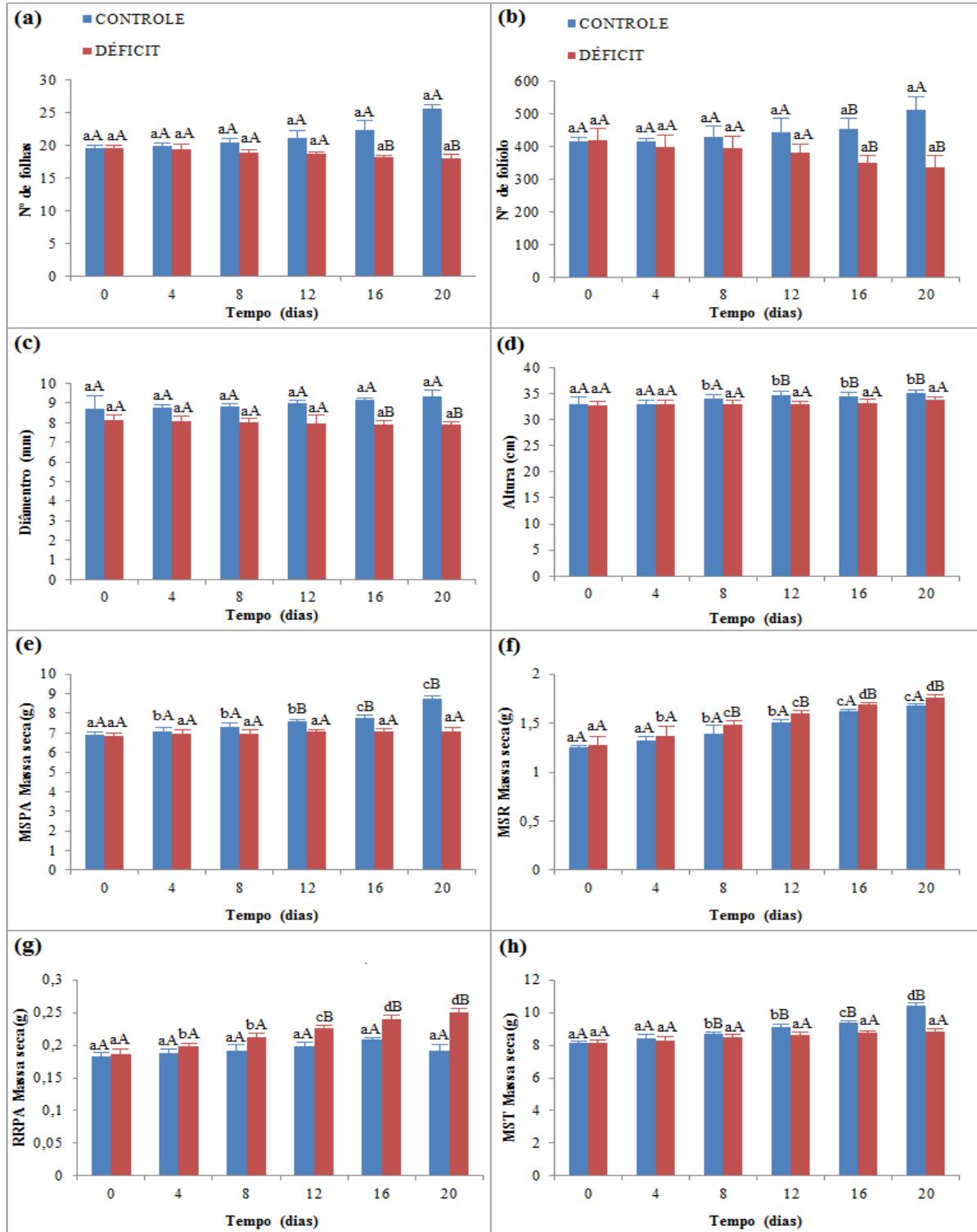


FIGURA 3: Número de folhas (a), número de folíolos (b), diâmetro do caule (c), altura da planta (d), massa seca da parte aérea (e), massa seca da raiz (f), razão raiz parte aérea (g) e massa seca total (h) em plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte, sendo 20º dia o final da reidratação. Letras minúsculas comparam valores entre os tempos, enquanto que as maiúsculas comparam os valores entre os tratamentos. Belém-Pa, 2013.

experimento (dia zero) não foram observadas diferenças entre tratamentos, sugerindo uniformidade na morfologia superficial e na biomassa. Houve diferenças significativas entre os tratamentos para todas as variáveis estudadas. A interação tratamento *vs* tempo ocorreu para as variáveis: número de folha e folíolo, diâmetro do caule (DC), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST), para as demais variáveis a interação não foi significativa ($P < 0,05$). Entre o dia zero e o 16º dia, as plantas controle apresentaram um ligeiro incremento no número de folha (14,2%), no número de folíolos (9,7%), no diâmetro do caule (5%), na altura (4,1%), na MSPA (13,2%), na MSR (29,8%), na RRPA (11,1%) e na MST (15,7%). Já para as plantas sob deficiência hídrica os incrementos mais significativos foram observados para MSR (35,2%) e RRPA (33,3%) e pequenos incrementos foram observados para altura (1,1%), MSPA (2,4%) e MST (7,1%). Para esse mesmo grupo também foi observado um decréscimo para as variáveis: número de folha (7,1%), número de folíolo (16,2%) e DC (2,9%). Não foram observadas diferenças significativas para estas variáveis após a reidratação das plantas estressadas por 4 dias ($P < 0,05$) (Fig. 3, Tab. B, C – apêndice).

2.4. DISCUSSÃO

A deficiência hídrica no solo ocasionou uma redução significativa no ψ_{am} e no ψ_x , principalmente ao 12º e ao 16º dia de estresse (Fig. 2 a-c). O potencial hídrico foliar é uma grandeza termodinâmica que nos permite determinar a quantidade de água celular disponível no tecido para a realização de trabalho químico (Kramer; Boyer, 1995). Ao ser determinado na antemanhã (entre 4:30 e 5:30 h), fornece indiretamente o potencial hídrico do solo no qual as plantas se encontram, pois nestes horários as perdas de água por evapotranspiração são nulas ou desprezíveis, devido à ausência de luz e a alta umidade do ar (próximo a saturação) e, nessas condições, um equilíbrio no sistema solo – planta – atmosfera é alcançado. Dessa forma, plantas jovens de fava-atanã sob déficit hídrico, apresentaram potencial hídrico mais negativo no decorrer do tempo, o que pode ter afetado a quantidade de água disponível para realização de trabalho químico, uma vez que foi observado uma série de respostas fisiológicas, bioquímicas e morfológicas que estimularam uma maior economia hídrica para planta.

Os quatro dias de reidratação foram suficientes para que as plantas sob déficit hídrico recuperassem os valores iniciais do potencial hídrico, ultrapassando inclusive o valor do ψ_{am} das plantas controle (Fig. 2 a-c). Dessa forma, os 16 dias de estresse hídrico, não foram suficientes para provocar alterações letais em plantas de fava-atanã.

Resultados equivalentes foram observados por Silva (2009), ao trabalhar com plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis*) submetidas a 27 dias de déficit hídrico, em que o Ψ_{am} variou de -0,3 MPa (controle) para -3,21 (sob déficit). Carvalho (2005) estudando a deficiência hídrica em plantas jovens de *Schizobilum amazonicum* e *Schizobilum parahyba*, observou também reduções significativas no Ψ_{am} no primeiro ciclo de seu experimento (seis dias de estresse) variando de -0,2 e -0,3 MPa (controle) para -1,5 e -2,0 MPa (sob déficit) respectivamente, retomando seu *status* de Ψ_{am} inicial após 3 dias de reidratação em ambas as espécies. Cordeiro (2012) estudando três espécies arbóreas da Amazônia (*Swietenia macrophylla*, *Tabebuia serratifolia* e *Hymenaea courbaril*) em campo, observou que no período seco o ψ_x sofreu reduções significativas no decorrer do dia, sendo mais expressivo às 13:00h obtendo valores de -3,49, -2,99 e -2,72 MPa, respectivamente.

A evolução do conteúdo relativo de água dos tecidos foliares (Fig. 2-b) seguiu a mesma tendência observada nos valores do potencial hídrico. Resultados semelhantes foram encontrados por Cunha (2010) em plantas de *K. ivorensis* e *S. macrophylla* cultivadas em campo, as quais apresentaram redução CRA na estação seca de 70% em comparação a estação chuvosa (80%). Oliveira (2005) estudando deficiência hídrica em quatro espécies de leguminosas arbóreas (paricá, ingá, clítória e tachi), observou que a espécie clítória foi a que mais sofreu com a seca, atingindo 51,28% do CRA ao 12º dia de estresse, recuperando-se rapidamente após cinco dias de reidratação (85,5%).

Em termos fisiológicos, a redução observada na gs em plantas sob déficit hídrico (Fig. 2-e) pode ser interpretada como uma estratégia de economia hídrica, uma vez que quanto menor a gs , a planta tende a diminuir a transpiração. Essa redução na gs ocorreu devido à baixa disponibilidade hídrica do solo, estimulando os estômatos a abrirem menos ou permanecerem fechados, mesmo em dias ensolarados (Larcher, 2006; Gonçalves et al., 2009). Os coeficientes de correlação positivos e altamente significativos encontrados entre gs x Ψ_{am} , gs x Ψ_x , gs x CRA, e gs x K_L ($P < 0,05$) (Tab. 1) corroboram com os valores de gs (Fig. 2-e).

O mesmo comportamento seguiu a E , visto que esta variável apresentou alta correlação com a gs neste experimento ($P < 0,01$ e $r = 0,99$) (Tab. 1). Estas respostas foram observadas em várias espécies lenhosas arbustivas ou arbóreas, como encontrado por Pinheiro et al. (2005) em clones de café (*Caffea cenophora*) sob seca, onde a redução no Ψ_{am} de -0,02 MPa para -0,50 MPa promoveu reduções de 60% na gs . Gonçalves et al. (2009) estudando plantas jovens de *Carapa guianensis* submetidas a 21 dias de suspensão hídrica, observou que quando o Ψ_x atingiu o valor de -3,4 MPa reduziu a gs a 93% e E a 91%, com relação as plantas controle. Tal comportamento foi observado também por Calbo e Moraes (2000)

estudando a deficiência hídrica em açaí (*Euterpe oleracea*), em que 51 dias de estresse reduziu o Ψ_x a -2,4 MPa, mantendo a gs em níveis próximos a zero, o mesmo comportamento seguiu a E para essa espécie.

A transpiração é um fenômeno dependente do gradiente de concentração do vapor d'água entre a folha e a atmosfera. Para que ocorra o movimento de água é necessário que a concentração de vapor d'água seja maior nos espaços intercelulares que na atmosfera circundante. Dessa forma, pode-se inferir que a transpiração não é governada apenas pelo grau de abertura estomática, pois mesmo com os estômatos abertos a transpiração poderá ser nula ou extremamente baixa; fenômeno este observado quando o ar encontra-se saturado (Kramer; Boyer, 1995). Uma vez que as trocas gasosas foram avaliadas entre 10:00h e 12:00h e nesse horário não houve diferenças significativas entre os tratamentos para o DPV_{fa} (Fig. 1-b) (que variou de 0,26 a 0,48 kPa, Fig. 1) e de não ter sido observada nenhuma correlação entre $DPV_{fa} \times gs$ e $DPV_{fa} \times E$ tanto para as plantas controle quanto para as plantas estressadas, pode-se inferir que a gs exerceu um papel importante no controle da transpiração.

De acordo com Meinzer (2003), quando o potencial hídrico do solo em torno das raízes permanece constante, como ocorre nas plantas controle, as flutuações na Ψ_x são determinadas pela variação na E e K_L e estas podem ser influenciadas pelo DPV_{fa} . Apesar de ter sido observado uma negativa e significativa correlação entre o $\Psi_x \times DPV_{fa}$ para as plantas controle, esta não foi observada entre $\Psi_x \times E$, $\Psi_x \times K_L$, $DPV_{fa} \times E$ e $DPV_{fa} \times gs$ (Tab. 1). Tal comportamento indica que a E e K_L não interferem significativamente no Ψ_x quando a disponibilidade hídrica no solo é elevada, como observado para as plantas controle, mantendo elevada as trocas gasosas (Fig. 2 a-c).

A disponibilidade hídrica para as plantas controle permitiram que a gs e a E permanecessem em níveis elevados, tal fato explica a alta K_L observada para esse grupo (Fig. 2-d). Isso pode ter contribuído para o acúmulo de biomassa (MSPA, MSR e MST) e de um ligeiro crescimento na altura, diâmetro do caule e no número de folhas e folíolos (Fig. 3), visto que foi observado uma forte correlação entre $CRA \times MST$, $CRA \times H$ ($P < 0,01$) e $CRA \times DC$. Vários autores reportam que a permanência da abertura estomática favorece um maior influxo de CO_2 no tecido vegetal, contribuindo para alta atividade fotossintética e a produção de fotoassimilados para a planta (Silva et al., 2004; Taiz; Zeiger, 2013; Kerbauy, 2012), mesmo em um curto espaço de tempo.

Para as plantas estressadas, a baixa disponibilidade hídrica afetou o desenvolvimento de folhas e folíolos, sendo observada uma pequena abscisão das folhas mais velhas (Fig. 3), apesar de não ter sido significativo, tal comportamento pode ser interpretado como uma linha

de defesa à perda de água, visto que esta ocorre principalmente pela transpiração foliar (Paiva; Oliveira, 2006). O diâmetro do caule, a altura, e MSPA não sofreram incrementos significativos no período que ficaram sob estresse (Fig. 3), isso pode ter ocorrido por três possíveis motivos: (i) o fechamento estomático, que reduziu a absorção de CO₂ atmosférico, limitando a atividade fotossintética e, consequentemente, o acúmulo de biomassa para os tecidos; (ii) a diminuição do metabolismo do nitrogênio e/ou (iii) a realocação de assimilados orgânicos para partes estratégicas da planta, como a raiz. Tal ideia é apoiada pelo aumento significativo da MSR e na RRPA observado nas plantas sob estresse (Fig.3). O crescimento de raízes mais profundas em direção ao solo mais úmido pode ser considerado uma segunda linha de defesa contra seca (Chaves et al. 2003; Taiz; Zeiger, 2013).

Resultados equivalentes foram encontrados por Alves (2010) com plantas jovens de *Tabebuia serratifolia*; por Cordeiro et al. (2009) trabalhando com plantas jovens de *S. macrophylla* e; por Silva (2009) estudando o déficit hídrico em plantas jovens *C. guianensis*. Esses dados sugerem que a manutenção do crescimento do sistema radicular, observado pelo incremento da MSR em fava-atanã, como observado para café conilon (PINHEIRO et al., 2005) e arábica (Dias et al., 2007), aliada à diminuição do crescimento da parte aérea, observada através da RRPA (Fig. 3), foram importantes mecanismos morfológicos de resposta à deficiência hídrica no solo.

Nesse estudo, apesar da redução observada para as variáveis das plantas sob déficit hídrico (Fig. 2 e 3), o tempo de estresse não foi suficiente para tornar irreversíveis as funções fisiológicas, o que demonstra uma alta plasticidade da espécie frente a estresses ambientais de curto prazo. As mudas dessa espécie conseguiram recuperar de forma significativa a *E*, *gs*, Ψ_{am} , Ψ_x , *CRA* e a *K_L* após decorrido quatro dias de reidratação (*P* < 0,05) (Fig. 2). Comportamentos semelhantes foram observados por Cordeiro et al. (2009) com *S. macrophylla*, obtendo recuperação após 12 horas da retomada da irrigação. Carvalho (2005) obteve recuperação após o estresse de *S. amazonicum* e *S. parahyba* após três dias de reidratação. Plantas jovens de *C. guianensis* recuperaram as trocas gasosas em quatro dias, com exceção para o potencial hídrico que foi recuperado somente após oito dias de reidratação (Gonçalves et al., 2009). Período de recuperação ainda maior foi encontrado por Ngugi (2004) em mudas de *E. argophloia* que no prazo de dez dias recuperou seu Ψ_{am} e trocas gasosas, enquanto que a *E. cloeziana* teve um prazo maior que duas semanas, devido a maioria das folhas apresentar necroses durante a recuperação, favorecendo a queda de folhas.

2.5. CONCLUSÃO

O déficit hídrico em plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*) reduz fortemente o Ψ_{am} , Ψ_x , CRA, K_L , gs e a E indicando um eficiente controle estomático da transpiração nessa espécie.

A limitação de água promoveu redução no número de folhas e no diâmetro do caule, além de desacelerar o crescimento em altura e o acúmulo de biomassa em plantas de jovens de fava-atanã.

A diminuição da área foliar (por abscisão de folhas mais velhas) e a manutenção do crescimento do sistema radicular foram eficientes mecanismos morfológicos de resposta das plantas de fava-atanã ao déficit hídrico.

Após o período de estresse, as plantas de fava-atanã foram capazes de recuperar-se totalmente, retomando suas funções fisiológicas iniciais.

Os mecanismos relacionados conferem à fava-atanã a capacidade de tolerar e/ou adiar satisfatoriamente ao déficit hídrico imposto neste experimento.

REFERÊNCIAS

- Alves, G. A. R. 2010. Aspectos Ecofisiológicos, Bioquímicos e Crescimento de Plantas Jovens de Ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) em Condições de Déficit Hídrico e Alagamento, 2010. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.
- Alves, R. N. B.; Homma, A. K. O. 2008. Amazônia: do verde ao cinza, 2^a Ed. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental.
- Ashraf, M; Foolad, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59, 206-216.
- Calbo, M. E. R.; Moraes, J. A. P.V. DE. 2000. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açaí). *Revista Brasileira Botânica*. 23, n.3, 225-230.
- Carvalho, C.J.R., 2005. Responses of *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *Amazonicum*] and *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] plants to water stress. *Revista Árvore*. 29, 907–914.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira J.S. 2003. Understanding plant responses to drought – From genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*. 30, 239-264.
- Cordeiro, Y. E.M.; Pinheiro, H. A.; Santos Filho, B. G. DOS.; Correa, S. S.; Silva, J. R.R. e.; Dias-Filho, M. B. 2009. Physiological and morphological responses of young mahogany (*Swietenia macrophylla* King) plants to drought. *Forest Ecology and Management*, 258, 1449–1455.
- Cordeiro, Y. E. M. 2012. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King), ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) e jatobá (*Hymenaea courbaril* L) cultivadas sob dois períodos: chuvoso e seco, no município de Igarapé- Açu-PA. 2012. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.
- Costa, G.F., Marenco, R.A. 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.). *Acta amazônica*. 37, 229-234.
- Costa, R. C. L. da; Lobato. A. K. S.; Silveira, J. A. G. da; Laughinghouse IV, H. D. 2009. ABA-mediated proline synthesis in cowpea leaves exposed to water deficiency and rehydration. *Turk J Agric*. 35, 309-317.

Cunha, R. M. da. 2010. Comportamento ecofisiológico de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) e mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev) submetidos a adubação potáfica , as condições edafoclimáticas no município de Igarapé-Açu-PA, Amazônia-Oriental-Brasil. 2010. 122 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Dias, P.C.; Araujo, W.L.; Moraes, G.A.B.K.; Barros, R.S.; DaMatta, F.M. 2007. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. *Journal of Plant Physiology*. 164, 639-1647.

Donovan, L.A., West, J.B., McLeod, K.W. 2000. *Quercus* species differ in water and nutrient characteristics in a resource-limited fall-line sandhill habitat. *Tree Physiology* 20, 929–936.

Fisch, G.; Marengo, J.A.; Nobre, C.A. 1998. Uma revisão geral sobre o clima da Amazônia. *Acta Amazonica*, 28, 101-126.

Gonçalves, J.F.C., Silva, C.E.M., Guimarães, D.G., 2009. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e a reidratação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 44, 8–14.

Hubbard, R.M., Bond, B.J., Ryan, M.G., 1999. Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology* 19, 165–172.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE. Resultado consolidado do PRODES mostra redução de 29% no desmatamento na Amazônia em 2012. Notícia. jun. 2013. Disponível em: < http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=3301>. Acesso em: 29 de julho de 2013.

Kerbauy, G. B. 2012. *Fisiologia Vegetal*. 2^a Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 431p.

Kramer, P. J.; Boyer, J. S. 1995. *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press. San Diego.p.495.

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

Larcher W. 2006. Tradução: Prado, C.H.B.A. São Carlos-SP: Ed. RIMA.

Maggio, A.; Miyazaki, S.; Veronese, P.; Fujita, T.; Ibeas, J. I.; Damsz, B.; Narasimhan, M. L.; Hasegawa, P. M.; Joly, R. J.; Bressan, R. A. 2002. Does proline accumulation play a active role in stress-induced growth reduction? *The Plant Journal*. 3, 699-712.

Marengo, J.; Bhatt, U.; Cunningham, C. 2000. Decadal and multidecadal variability of climate in the Amazon basin. *International Journal of Climatology*. 20, 503-518.

Meinzer, F.C., 2003. Functional convergence in plant responses to the environment. *Ecologia*. 134, 1-11.

Ngugi, M. R., Doley, D., Hunt, M. A., Ryan, P., Dart, P. 2004. Physiological responses to water stress in *Eucalyptus cloeziana* and *E. argophloia* seedlings. *Trees*. 18, 381-389.

Nobre, C.A; Sampaio, G.; Salazar, L. 2009. Mudanças climáticas globais. *Ciência e Cultura* 59, 22-27.

Oliveira, E. R. N. 2005. Respostas ao déficit hídrico de quatro leguminosas arbóreas, com uso potencial em sistema de corte e Trituração. 2005. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Paiva, R.; Oliveira, L. M. de. 2006. *Fisiologia e Produção Vegetal*. 1^a Ed. Lavras-MG: Editora UFLA.

Pinheiro, H. A.; Da Matta, F. M., Chaves, A. R. M.; Loureiro M. E.; Ducatti, C. 2005. Drought Tolerance is Associated with Rooting Depth and Stomatal Control of Water Use in Clones of *Coffea canephora*. *Annals of Botany*. 96, 101-108

Silva, E. C.; Nogueira, R. J. M. C.; Azevedo Neto, A. D.; Brito, J. Z. ; Cabral, E. L. 2004. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabeceira, Paraíba, Brasil. *Iheringia*.59, 201-205.

Santos, R.F.; Carlesso, R. 1998. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2, n.3, 287-294, Campina Grande, PB, DEAg/UFPB.

Slavick, B. 1979. *Methods of studying plant water relations*. New York : Springer Verlang, p.449.

Silva, J. R. R. e. 2009. Comportamento Ecofisiológico de Plantas Jovens de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) Sob Dois Regimes Hídricos. 2009. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2013. Tradução: Santarém, E. R. [et al.]. Fisiologia Vegetal, 5^a ed. Porto Alegre: Artmed.

Victoria, R.; Matinelli, L.; Moraes, J.; Ballester, M.; Krusche, A.; Pellegrino, G.; Almeida, R.; Richey, J. 1998. Surface air temperature variations in the Amazon region and its border during this century. *Journal of Climate*. 11,105-1110.

3. RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE FAVA-ATANÃ (*Parkia gigantocarpa* Ducke) SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

A. C. C. PEREIRA^{a,b*}, B. G. SANTOS FILHO^{a,b}, C. F. OLIVEIRA NETO^b.

Museu Paraense Emílio Goeldi. Campus de Pesquisa - Coordenação de Botânica

Av. Perimetral, 1901, CEP 66017-970 Belém – PA, Brasil^a

Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Ciências Agrárias

Av. Perimetral. 2501, CEP 66077-530, Belém – PA, Brasil^b

RESUMO

Plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) induzidas à deficiência hídrica em casa de vegetação por de 16 dias e reidratadas quatro dias após o período de estresse apresentaram comportamento bioquímico fortemente alterado com relação às plantas controle, as quais mantiveram suas variáveis estáveis no decorrer do experimento. Com exceção das concentrações foliares da redutase do nitrato, as plantas sob déficit foram expressivamente afetadas ao 16º dia de estresse, tanto nas folhas quanto nas raízes, apresentando para estes órgãos, respectivas reduções nas concentrações de nitrato (77,6% e 82,5%), glutamina sintetase (76,6% e 77,6%), amido (68,9% e 79%), e proteínas solúveis totais (76,9% e 80,9%) com relação às plantas controle. Inversamente, o estresse hídrico promoveu o incremento de solutos nas folhas e raízes das demais variáveis, apresentando para estes órgãos respectivos aumentos nas concentrações de amônio (224% e 118%), carboidratos solúveis totais (291,6% e 300%), sacarose (37,6% e 82,4%), glicina-betaína (264% e 201%), concentrações de aminoácidos livres totais (79,3% e 39,4%) e prolina (477% e 672,7%). A maioria das variáveis estudadas retomou ou se aproximou de seus *status* iniciais de concentrações de solutos em folhas e raízes após quatro dias de reidratação, sugerindo que os mecanismos de osmorregulação e osmoproteção foram fundamentais para as plantas manterem seus processos metabólicos durante o período de estresse, possibilitando sua recuperação após as tensões ambientais impostas. De forma geral, nossos dados sustentam a hipótese de que plantas jovens de *Parkia gigantocarpa* possuem capacidade de tolerar e/ou adiar de forma satisfatória a deficiência hídrica imposta neste experimento.

Palavras-Chave: *Parkia gigantocarpa*, bioquímica, osmorregulação, déficit hídrico, tolerância a seca.

Artigo será submetido à revista Forest Ecology and Management

*Correspondência do Autor: fone: (+55) 91 91957005, e-mail: angelobio13@gmail.com (A. C. C. Pereira)

3. BIOCHEMICAL RESPONSES OF YOUNG FAVA-ATANÃ (*Parkia gigantocarpa* Ducke) PLANTS SUBJECTED TO WATER STRESS AND REHYDRATION

ABSTRACT

Young fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) plants induced to water stress in a greenhouse for 16 days and rehydrated four days after the period of stress showed strongly altered biochemical behavior relative to the control plants, which remained stable in its variables in the course of the experiment. With the exception of leaf nitrate reductase, the solute concentration in plants under deficit were significantly affected after 16 days of stress, on both leaves and roots, showing in these organs, respective reductions in nitrate (77% and 82.5%), glutamine synthetase (76.6% and 77.6%), starch (68.9% and 79%), and total soluble proteins (76.9% and 80.9%) relative to the control plants. Inversely, osmotic stress increased solutes in leaves and roots of the other variables, showing for these organs respective increases in ammonium concentration (224% and 118%), total soluble carbohydrates (291.6% and 300%), sucrose (37.6% and 82.4%), glycine betaine (264% and 201%), free amino acids concentration (79.3% and 39.4%) and proline (477% and 672.7%). Most variables resumed or approached their initial status of solute concentrations in leaves and roots after four days of rehydration, suggesting that the mechanisms of osmoregulation and osmoprotection were essential for plants to maintain their metabolic processes during the stress period, allowing its recovery after the imposed environmental stresses. Overall, our data support the hypothesis that young plants of *Parkia gigantocarpa* have the ability to tolerate and / or postpone satisfactorily the water stress imposed in this experiment.

Keywords: *Parkia gigantocarpa*, biochemistry, drought stress, osmoregulation, drought tolerance.

3.1. INTRODUÇÃO

A disponibilidade hídrica é um dos fatores ambientais mais importantes para a diversidade e a produtividade dos vegetais, e sua deficiência pode comprometer as funções vitais ou estimular reações adaptativas que capacitem as plantas a sobreviverem por longos períodos de estresse hídrico (Chaves et al., 2003, Paiva; Oliveira, 2006). Larcher (2006) considera que o estresse hídrico pode induzir modificações e respostas em todos os níveis funcionais do organismo: fisiológicos, morfológicos e bioquímicos, os quais podem ser reversíveis ou permanentes. Tais alterações dependem do genótipo, do estágio de desenvolvimento da planta, da duração e da severidade do estresse que está submetida, além de fatores edafo-climáticos (Kremer; Boyer, 1995; Santos; Carlesso, 1998).

A Região Amazônica apresenta em média precipitação de 2300 mm anuais, entretanto, a distribuição pluviométrica não é uniforme em toda a região, ocorrendo variabilidade espacial e temporal (Fisch et al., 1998). De acordo com Nobre et al. (2009) as variações climáticas na Amazônia podem ser decorrentes de causas naturais e de origem antrópica. Esta última resulta do uso inadequado da terra relacionado fortemente ao desmatamento das áreas de floresta, o que implica na transferência de carbono (na forma de CO₂) da biosfera para a atmosfera, contribuindo para o aumento do efeito estufa e, consequentemente, do aquecimento global.

Os altos índices de desmatamento ocorrido nas últimas décadas na Amazônia brasileira vêm ocasionando grandes desequilíbrios ecológicos e intensa instabilidade climatológica, o que torna importante os estudos de espécies nativas que possam integrar programas de reflorestamento e/ou SAFs a fim de restaurar ecossistemas degradados (Cordeiro et al., 2009). Para isso, as mudas de plantas nativas selecionadas para programas de reflorestamento precisam ser tolerantes a veranicos e/ou as épocas do ano de menor disponibilidade hídrica, sendo importante ser levadas a campo nos meses de mais chuvas. Entretanto, a Região Amazônica em sua grande parte está sujeita a períodos de estações secas relativamente longas, sobretudo em áreas desmatadas das Regiões Sul e Sudeste do Estado do Pará, cujas condições climáticas favorecem um período seco definido de até cinco meses. (SILVA, 2009). Dessa forma, estudos que avaliem e estimem a capacidade de espécies de plantas nativas tolerantes à seca são necessários, a fim de desenvolver programas de reflorestamento/SAFs que possibilitem um desenvolvimento sustentável e permanente nessas regiões degradadas; e o entendimento das respostas fisiológicas e bioquímicas relacionado à tolerância à seca é de fundamental importância para o estabelecimento de tais programas.

Entre os mecanismos responsivos de defesa da planta para manter o turgor da folha em períodos de seca, o ajustamento osmótico parece ser um processo bastante eficiente. Neste, ocorre o acúmulo de solutos osmoticamente ativos nas células fazendo com que o potencial osmótico e o potencial hídrico da planta abaihem mais rapidamente que o do solo, aumentando o gradiente de potencial hídrico (Paiva; Oliveira, 2006; Taiz; Zeiger, 2013). Assim, o ajustamento osmótico possibilita o alongamento celular e favorece a condutância estomática, contribuindo para que ocorra o funcionamento do aparelho fotossintético sob um potencial hídrico que geralmente seria inibidor de tal processo (Kerbaury, 2012).

Entre os solutos osmoticamente compatíveis e mais estudados em plantas sob déficit hídrico, destacam-se a prolina, glicina-betaina, sacarose, carboidratos solúveis, aminoácidos solúveis, proteínas solúveis, entre outros compostos nitrogenados (ALVES, 2010; OLIVEIRA NETO, 2010; CORDEIRO, 2012).

O estresse hídrico afeta também significativamente o metabolismo do nitrogênio nas plantas, o que acarreta diminuição na síntese de proteínas e a acumulação de aminoácidos, amônia e poliaminas livres (Rabe, 1993).

Em busca de espécies chaves para a implantação de sistemas agroflorestais (SAFs) e/ou recuperação de áreas degradadas, a fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) surge com ótimos indicativos, uma vez que apresenta características naturais satisfatórias como adaptação em pleno Sol ou em sombra seletiva, boa uniformidade e um rápido crescimento, dominância apical acentuada e índices de sobrevivência e altura notáveis (CARVALHO FILHO; MARQUES, 1979; CARVALHO, 2010). No entanto, esta espécie ainda é pouco estudada com relação ao seu manejo em plantações e suas respostas fisiológicas e bioquímicas à estresses ambientais.

Visto que o plantio de espécies lenhosas é geralmente realizado por meio de mudas, é de extrema importância considerar a capacidade da planta, ainda enquanto indivíduo jovem, em tolerar satisfatoriamente à seca. Desta forma, o trabalho objetivou avaliar a magnitude das respostas bioquímicas de plantas jovens de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) em condições de déficit hídrico e reidratação.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1. Local do experimento

O trabalho foi realizado em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém-Pará (01°28'03"S, 48°29'18"W) no período de 23/07/2012 a 23/09/2012.

3.2.2. Produção das mudas

As mudas de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa* Ducke) utilizadas no experimento, vieram de 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 escarificadas para quebrar a dormência e imediatamente semeadas em bandejas de plástico, contendo areia e serragem esterilizada, na proporção de 1:1. Após a emergência, as mudas foram repicadas para sacos de polietileno, 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 de fava-atanã foram selecionadas uniformemente considerando altura, diâmetro do caule, número de folhas e número de folíolos sendo transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 14 L, contendo o mesmo substrato, não havendo necessidade de nenhuma correção de acordo com a análise química do solo realizada na EMBRAPA Amazônia Oriental (anexo I).

Antes de serem submetidas aos tratamentos, as plantas jovens de *P. gigantocarpa* foram irrigadas diariamente durante 45 dias para mantê-las na capacidade de campo e para aclimatá-las às condições ambientais do experimento, sendo efetuada a pesagem do conjunto vaso/planta periodicamente, para reposição da água evapotranspirada, conforme diferença de peso.

3.2.3 Tratamentos e condução das plantas

Após o período de aclimatação as plantas com cerca de quatro meses de idade foram separadas em dois grupos de regimes de água: um continuou recebendo irrigação regularmente (plantas controle), e o outro foi retido a irrigação por 16 dias (plantas estressadas). Às 17:00h do 16º dia foi retomada a irrigação para as plantas estressadas, mantendo-as irrigadas por quatro dias, ao final desse período foi feito as avaliações bioquímicas realizadas.

3.3.4 Determinação do potencial hídrico antemanhã e do conteúdo relativo de água

O Potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) foi determinado entre 4:30 e 5:30h por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (mod. 670, PMS Instrument Co., Albany, OR, USA) como descrito por Pinheiro et al. (2008). As medições ocorreram nos tempos 0, 4, 8,

12, 16 e 20 dias (este último dia corresponde a reidratação). foram selecionados como amostras de cinco diferentes réplicas, folíolos maduros completamente expandidos do segundo ou terceiro par de folhas a partir do ápice.

O conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias (este último dia corresponde a reidratação) sempre às 6:00h, pela fórmula a seguir, segundo Slavick (1979), no início de cada período de avaliação.

$$CRA = (MF_1 - MS) / (MF_2 - MS) \times 100, \text{ onde:}$$

CRA = conteúdo relativo de água (%);

MF₁ = massa fresca (g);

MS = massa seca (g) e

MF₂ = massa túrgida (g).

Foram retirados 05 discos foliares de 10 mm de diâmetro (um de cada folíolo), os quais foram pesados em balança analítica para obter a massa fresca (MF₁). Esses mesmos discos foram colocados para flutuar em água destilada (35 mL), contidas em placas de Petri por 24 h a 25°C, após este período os discos foram colocados em papel filtro, por um minuto, para retirar o excesso de água e em seguida foram pesados para determinar a massa túrgida (MF₂). Depois os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa (75° C) por 48 h e posteriormente foram pesados para determinar a massa seca (MS).

3.2.5 As análises bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas no laboratório pertencente ao Núcleo de Pesquisa Vegetal Básico e Aplicada (NPVBA), localizado no campus da UFRA em Capitão-Poço-PA. Todas as coletas para análise bioquímicas foram realizadas aos 0°, 4°, 8°, 12°, 16° e 20° dias logo após o período de aclimatação, entre 11:30 e 12:30h, o último dia (20°) corresponde a reidratação.

3.2.5.1. Determinação da atividade da redutase do nitrato (RN)

O método empregado para determinar a atividade da RN seguiu o método *in vivo* descrito por Hageman e Hucklesby (1971). Foram pesados 200 mg das raízes e das folhas (discos de 0,5 cm de diâmetro). As amostras foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH=7,5; contendo isopropanol 1% (v/v), (KNO₃ mM) e estes cobertos com papel alumínio (tratamento escuro). Em seguida, os tubos foram evacuados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Por seguinte, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 30 minutos, na ausência de luz. Em tubos de ensaio tipo pirex,

foram adicionados alíquotas de 1 mL de tampão fosfato + 2 mL do extrato diluído + 1,0mL de sulfanilamida 1% + 1,0mL de N-1-naftiletilenodiamina dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5mL. Em seguida, os tubos foram deixados em repouso por 15 minutos. A leitura foi no espectrofotômetro à 540 nm contra o branco (3,0mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO₂ no meio de reação, sendo expressa em µmoles de NO₂.g.MF⁻¹. h⁻¹, a partir de uma curva-padrão obtida com KNO₂ p.a (Sigma).

3.2.5.2. 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 absorbância 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 NO₃⁻ (0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 µmolmL⁻¹). Os resultados foram expressos em mmol de NO₃⁻. kg⁻¹ MS de tecido.

3.2.5.3. Determinação das concentrações de amônio livre (AL)

O método utilizado seguiu o descrito por Weatherburn (1967). Foram pesados 50 mg de massa seca em pó (MS) das raízes e das folhas, 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 serão 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.

3.2.5.4. Determinação da atividade da glutamina sintetase (GS)

A atividade da GS foi determinada pelo método “in vitro” segundo Kamachi et al. (1991). Adicionou-se 0,2 g de massa seca das raízes e das folhas em pó em 5 mL (2mL + 2 mL + 1mL/ 2 minutos cada) de tampão de extração TRIS-HCl 25 mM, pH 7,6, contendo : 10 mM de $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 10 mM de β -2-mercaptoetanol + PVP 5% (p/v) + 5 mM de EDTA-Na. Depois de trituradas, foram filtradas em pano fino de seda e centrifugadas a 30.000 g (21.000 rpm), em centrífuga refrigerada à 0° - 4 °C , por 30 minutos. O sobrenadante foi congelado para posterior análise. A reação foi preparada em tubo de ensaio, com 600 μ L de tampão de reação TRIS-HCl 0,25 M, pH 7 + 200 μ L de glutamato de sódio 0,3 M, pH 7 + 200 μ L de ATP 30 mM, pH 7 + 200 μ L de $\text{Mg SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 M + 500 μ L de extrato de folhas + 200 μ L 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, removeu-se os tubos do banho-maria e adicionou-se 500 μ L 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) com o branco. A atividade da 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.

3.2.5.5. Determinação do conteúdo de amido

O método empregado seguiu de acordo com Dubois et al. (1956). Foi feita uma extração etanólica de 50 mg da massa seca em pó (MS) das raízes e das folhas em 5,0mL de etanol 80%, por 30 min a 80°C), depois foi promovida uma nova extração com 5,0 mL de HClO_4 30% por 30 minutos a 25 0C. A partir da primeira e da segunda extração foram levadas para centrifuga (2000 g por 10 minutos) e coletados os sobrenadantes. Estes de cada extração foram unidos e aferidos ao volume para 10 mL com água destilada para obtenção do extrato total. Nos tubos de ensaio foram colocados 100 μ L do sobrenadante + 400 μ L de H_2O

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

3.2.5.6. Carboidratos solúveis totais (CST)

O conteúdo CST foi determinado de acordo com o método colorimétrico descrito por Dubois et al. (1956), com algumas modificações. Amostras de 50 mg de massa seca em pó (MS) das raízes e das folhas foram homogeneizadas em 5 mL de água destilada e o homogeneizado resultante foi incubado a 100°C, por 30 minutos. Após centrifugação a 700 g, por 10 min, o sobrenadante foi coletado e o procedimento de extração repetido por duas vezes. Os sobrenadantes foram combinados e homogeneizados e, do extrato final resultante, uma alíquota de 20 µL foi coletada para as demais etapas. A cada alíquota foi adicionado 480 µL de água destilada e, após agitação por 15 minutos, foram adicionados 500 µL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada amostra. Após vigorosa agitação (20 minutos), a ABS das amostras foi registrada a 490 nm. Para os cálculos foi utilizada uma curva padrão de glicose e os resultados expressos em mg de CST g⁻¹ MS.

3.2.5.7. Determinação do conteúdo de sacarose

O conteúdo foi determinado segundo o método de Van Handel (1968), com algumas modificações. Para a extração, amostras de 50 mL de massa seca em pó (MS) das raízes e das folhas foram maceradas em 1,5 mL de MCW (metanol: clorofórmio: água 12: 5: 3 v/v/v) durante 20 minutos em tubos de eppendorf de 2,0 mL, sob agitação e, posteriormente a homogeneização, a amostra foi centrifugada a 500 g, por 30 minutos, à temperatura ambiente. Após a coleta do sobrenadante, foi repetido o processo de extração por duas vezes consecutivas e os sobrenadantes reunidos e seu volume final determinado. A cada 2,0 mL do extrato final foram adicionados 0,5 mL de clorofórmio e 750 µL de água destilada, seguindo de agitação e nova centrifugação a 700 g, por 10 minutos, à temperatura ambiente. A fração aquosa metanólica foi coletada e transferida para tubos de ensaio, os quais foram incubados em banho-maria a 35°C, por 60 minutos até a evaporação do clorofórmio residual. Para cada alíquota de 100 µL do material obtido, foram adicionados 100 µL de KOH 30%. Após agitação, aquecimento a 100°C por 10 minutos e resfriamento em banho de gelo, um volume de 3,0 mL de solução de antrona 0,2% (em ácido sulfúrico) foi adicionado a cada tubo. A

mistura foi agitada e aquecida novamente (40 °C por 20 minutos) e, após resfriamento, a ABS das amostras foi determinada a 620 nm por meio de um espectrofotômetro (Genesys™ 10series, Thermo Electron Co., Wisconsin, USA). Para os cálculos, uma curva padrão de sacarose P.A. foi utilizada e os resultados foram expressos em mg sacarose g⁻¹ MS.

3.2.5.8. Determinação do conteúdo de glicina-betaína (GB)

O conteúdo foi determinado segundo o método de Grieve e Grattan (1983). Foram maceradas e transferidas 25 mg de massa seca em pó (MS) das folhas e das raízes para tubos eppendorfs de 2 mL, sendo associados a água destilada sob agitação constante, à temperatura ambiente, por um período de 4 horas, seguindo de centrifugação a 3.500 g por 10 minutos, a 25°C. O sobrenadante foi coletado e dele retirado uma alíquota de 250 µL para a quantificação de prolina. Para isso, 250 µL de ácido sulfúrico concentrado foram adicionados a cada amostra, seguindo de incubação em banho de gelo por 1 hora. Após esse tempo, 200 µL de iodeto de potássio (a aproximadamente 8°C) foram adicionados e a mistura incubada por 16 horas a 0°C. As amostras foram centrifugadas a 3.500 g, por 15 minutos a 0°C, e o resíduo coletado. Este foi lavado por duas vezes em 250 µL de ácido sulfúrico 1 N (a aproximadamente 8°C), após centrifugação a 3.500 g, por 5 minutos a 0 °C, o precipitado foi dissolvido em 3 mL de 1,2-dicloroetano, por meio de agitação vigorosa. Após 2,5 horas de repouso, a ABS das amostras foi obtida a 365 nm e para os cálculos foi utilizada uma curva padrão de glicina-betaína. Os resultados foram expressos em mg glicina–betaína g⁻¹ MS.

3.2.5.9. Proteínas solúveis totais (PST)

As concentrações de PST foram estimadas de acordo com 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 “shacker”. Após esse processo, os tubos foram centrifugados em centrífuga de bancada (2000g 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.

3.2.5.10. Aminoácidos livres totais (AALT)

A concentração de AALT foi determinada segundo método descrito por Peoples et al. (1989). Foram pesados 50mg de massa seca em pó (MS) das raízes e das folhas, e colocados em tubos de ensaio com 5mL de água destilada, fechados hermeticamente e incubados em banho-maria a 100°C, durante 30 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 6.000 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 de 0,4 mL de 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 bem em vortex os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em “banho-maria”, no qual permaneceram pelo tempo de 15 minutos à temperatura de 100° C. Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo, momento em que foram adicionados 1,5 mL de uma solução de etanol 50% (v/v). Após os tubos permanecerem por 20 minutos em temperatura ambiente e em seguida, efetivada leituras em espectrofotômetro, a 570nm, sendo os teores de aminoácidos livres totais, determinado com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações.

3.2.5.11 Determinação do conteúdo de prolina

Os teores de prolina foram determinados de acordo com Bates et al., (1973), utilizando-se tubos de ensaio de 15 mL. A extração foi realizada a quente, em banho-maria a 100°C, por 30 minutos, homogeneizando-se amostras de 50 mg de massa seca em pó (MS) das raízes e das folhas em 5 mL de água destilada. Após centrifugação a 700 g, por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado, e deste, utilizado uma amostra de 1 mL para a quantificação de prolina. Para esta operação foi adicionado 1 mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial (99,5%), seguindo-se de agitação em vortex e incubação em banho-maria a 100°C , por 1 hora. Após o desenvolvimento da cor, as amostras foram resfriadas em banho gelado sendo adicionadas às mesmas, 2 mL de tolueno, seguido de agitação em vortex por 20 segundos, para a separação das fases. Desprezando a fase incolor inferior, a fração contendo grupo cromóforo foi coletada e a absorvância (ABS) determinada a 520 nm em espectrofotômetro UV-Visível (mod. GenesysTM 10series, Marca Thermo Electron Corporation, Wisconsin, USA). A concentração de prolina foi determinada por meio de uma curva de calibração de L-prolina P.A. e os resultados expressos em mmolL prolina g⁻¹ matéria seca (MS).

3.2.6 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em fatorial do tipo 2 x 6 (condições hídricas x tempo), consistindo de dois tratamentos (Irrigado e Déficit hídrico) com 5 (cinco) repetições, totalizando 60 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).

3.3. RESULTADOS

A disponibilidade hídrica no solo alterou significativamente a quantidade de água disponível para realização de trabalho químico no tecido das plantas de fava-atanã, evidenciado pelos baixos valores encontrados no Ψ_{am} e no CRA das plantas sob estresse. Quanto maior o tempo sem irrigação mais significativa foi a redução do Ψ_{am} e o CRA ($P < 0,05$), apresentando ao 12º e ao 16º dia seus menores valores para as plantas estressadas. O Ψ_{am} apresentou a média de -0,32 MPa (12º dia) e -0,37 MPa (16º), reduzindo 18,5% e 37% respectivamente com relação ao controle (-0,27 MPa) (Fig. 1-a); o CRA apresentou média de 75,42% (12º dia) e 70,53% (16ºdia), reduzindo 13,7% e 19% respectivamente com relação ao controle (87%) (Fig. 1-b).

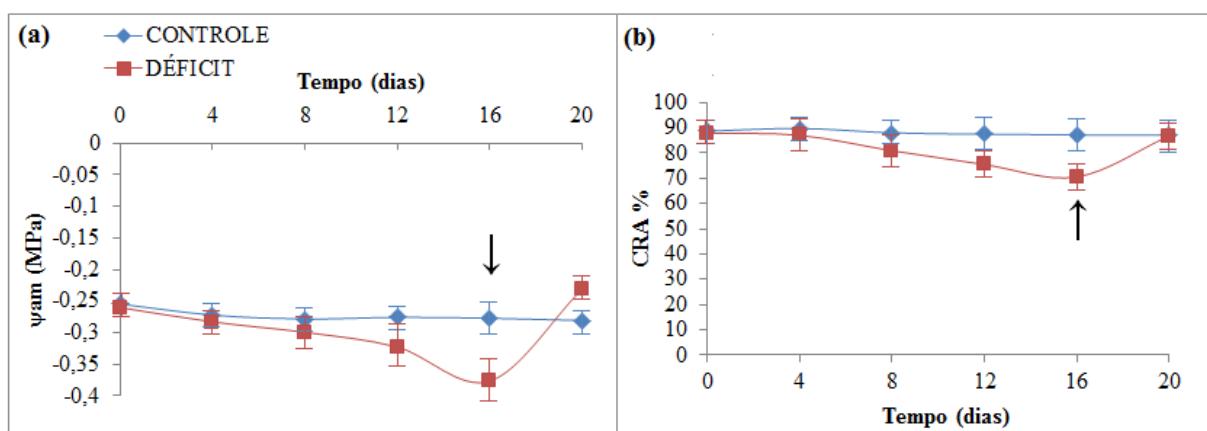


FIGURA 1: Potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) (a) e conteúdo relativo de água (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

O estresse hídrico por 16 dias afetou consideravelmente as variáveis bioquímicas, entretanto a retomada da irrigação por quatro dias possibilitou a recuperação das variáveis

estudadas, aproximando-se os solutos e enzimas das plantas estressadas do seu estado inicial, momento este, em que as mesmas se encontraram com suficiente disponibilidade hídrica, porém os quatro dias reidratação não foram suficientes para a recuperação total de seis das onze variáveis analisadas na folha (AALT, amido, GS, amônia, GB e prolina) no decorrer dos quatro dias de reidratação ($P < 0,05$). Nas raízes, das onze variáveis estudadas nas plantas sob deficiência hídrica cinco não apresentaram recuperação totalmente significante após quatro dias de reidratação (AALT, PST, CST, sacarose, amido e amônia) ($P < 0,05$).

Dentre as variáveis bioquímicas analisadas nas plantas sob déficit hídrico, a atividade da redutase do nitrato (RN) na folha foi a única que não apresentou diferenças significativas entre os tempos estudados e interação significativa entre tratamento *vs.* tempo ($P < 0,05$). O teor médio da RN para as plantas estressadas foi de 0,79 µmoles NO₂/g MF para todos os tempos, não havendo diferenças significativas (Fig. 2-a). Nas raízes, a atividade RN apresentou diferenças entre os tempos e interação significativa entre o tratamento *vs.* tempo ($P < 0,05$). Nas plantas sob déficit hídrico a atividade da RN nas raízes decresceu de 0,87 µmoles NO₂/g MF/h⁻¹ (dia zero) para 0,71 µmoles NO₂/g MF/h⁻¹ (16º dia), recuperando-se após quatro dias de reidratação (0,86 µmoles NO₂/g MF/h⁻¹) (Fig. 2-b).

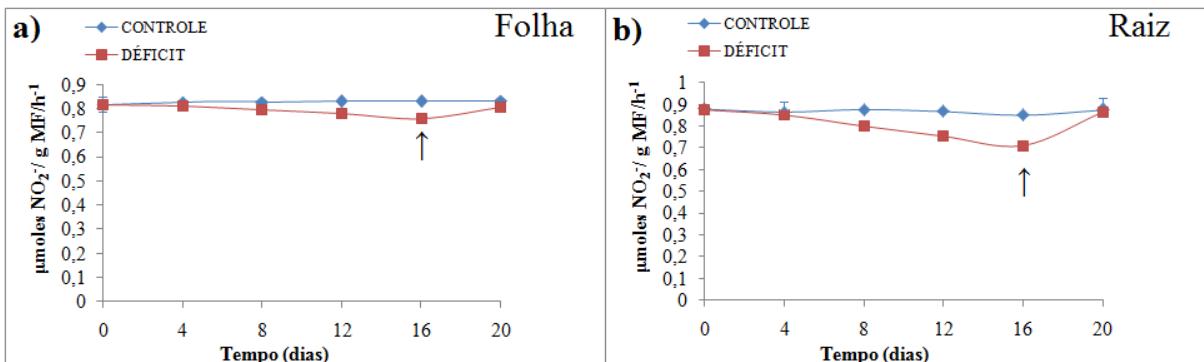


FIGURA 2: Atividade da redutase do nitrato nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

Foi observado um decréscimo significativo nas concentrações de nitrato (NO₃⁻) nas folhas e nas raízes para as plantas submetidas à deficiência hídrica (Fig. 3). O valor para as folhas tendeu a uma regressão linear, representada pela equação $y = -0,022x + 0,477$ ($R^2 = 0,99$). O mesmo comportamento foi observado nas raízes, onde a concentração de NO₃⁻ tendeu a uma regressão linear representada pela equação $y = -0,036x + 0,663$ ($R^2 = 0,97$). As concentrações de NO₃⁻ variaram entre 0,47 (dia zero) a 0,11 µmoles de NO₃⁻/g MS (16º dia) nas folhas e de 0,66 (dia zero) a 0,11 µmoles de NO₃⁻/g MS nas raízes das plantas estressadas ao longo de 16 dias de déficit hídrico. Tal variação representou redução 77% nas

folhas e de 83% nas raízes dessas plantas. Após quatro dias de reidratação as plantas estressadas tiveram uma recuperação na concentração de nitrato tanto nas folhas quanto nas raízes (0,34 e 0,52 µmoles de $\text{NO}_3^-/\text{g MS}$, respectivamente) aproximando-se das concentrações das plantas controle (Fig. 3).

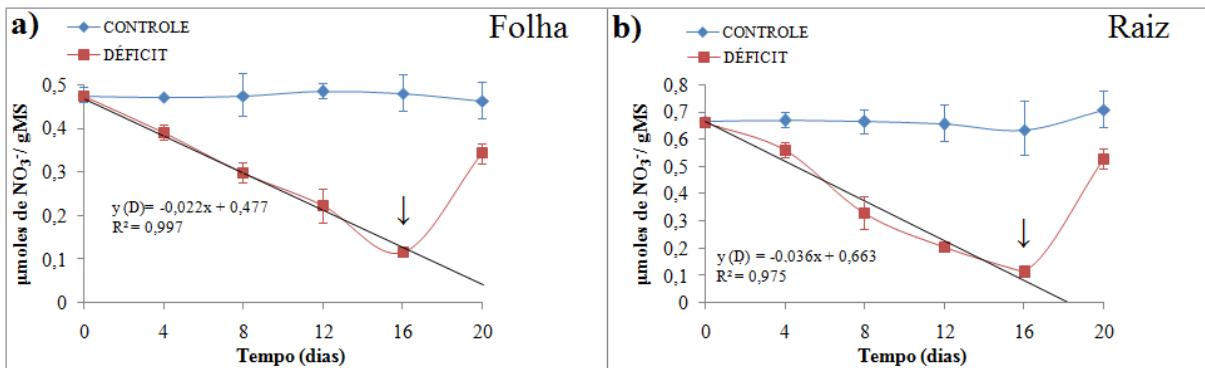


FIGURA 3: Concentrações de nitrato nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

As concentrações de amônio (NH_4^+) nas folhas e raízes foram significativamente aumentados nas plantas sob deficiência hídrica. Os valores tenderam uma regressão linear representado pelas respectivas equações: $y(D) = 0,845x + 6,236$ ($R^2 = 0,99$); $y(D) = 1,262x + 16,21$ ($R^2 = 0,99$). Ao 16º dia as plantas sob estresse apresentaram tanto nas folhas quanto nas raízes maiores concentrações de amônio (20 e 36mmol de $\text{NH}_4^+/\text{Kg MS}$), representando um aumento de 224% e 118%, respectivamente, com relação às plantas controle (6,2 e 16,5 mmol de $\text{NH}_4^+/\text{Kg MS}$, folha e raiz respectivamente). Após quatro dias da retomada da irrigação as plantas estressadas apresentaram redução nas concentrações de amônio nas folhas e raízes (9 e 20,7 mmol de $\text{NH}_4^+/\text{Kg MS}$, respectivamente), aproximando-se das concentrações apresentadas pelas plantas controle (Fig. 4)

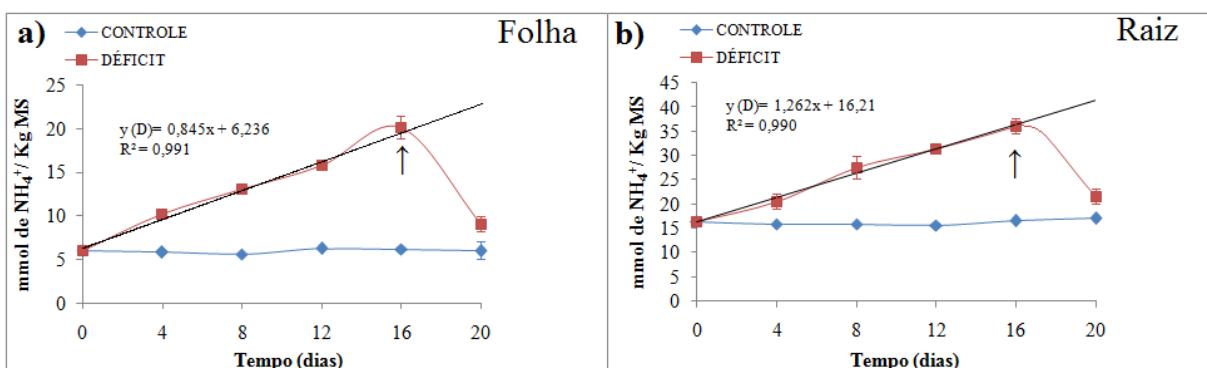


FIG. 4: Concentrações de amônio livre nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa. 2013.

As plantas submetidas à deficiência hídrica apresentaram redução significativa na atividade da enzima glutamina sintetase (GS) no decorrer do experimento (Fig. 5). Nas folhas, a redução tendeu uma regressão linear representada pela seguinte formula: $y(D) = -1,215x + 24,72$ ($R^2 = 0,99$). Já nas raízes a redução tendeu uma regressão polinomial de segunda ordem, representada pela equação $y(D) = 0,050x^2 - 1,892x + 23,69$ ($R^2 = 0,97$). Ao 16º dia de estresse tanto nas folhas quanto nas raízes a atividade da GS apresentou menor média (6 e 5,6mmoles GGH/ Kg MS), uma redução de 76,6% e 77,6%, respectivamente com relação às plantas controle (25,7 e 25,1 mmoles GGH/ Kg MS, folha e raiz respectivamente). Após a retomada da irrigação durante quatro dias, a atividade da enzima GS aproximou-se de seus *status* iniciais (22 e 21,9 mmoles GGH/ Kg MS) (Fig. 5).

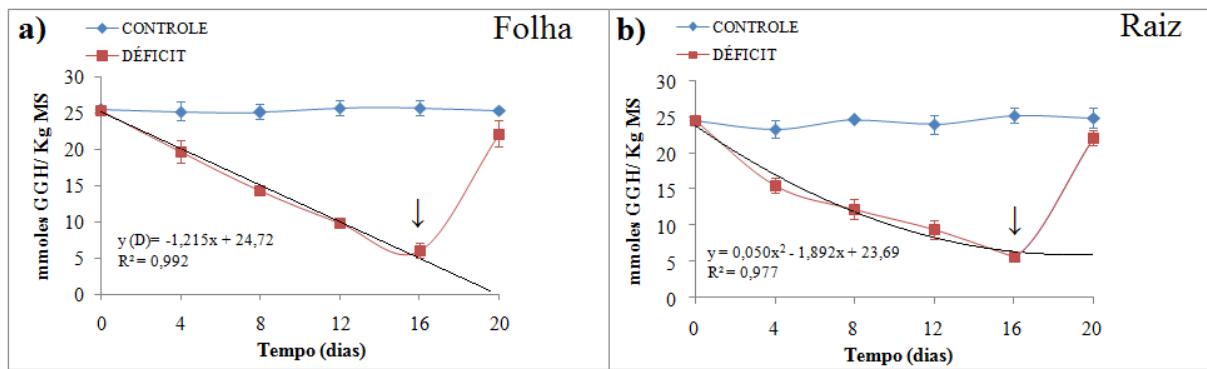


FIGURA 5: Atividade da glutamina sintetase nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

A deficiência hídrica reduziu consideravelmente as concentrações de amido, tanto nas folhas quanto nas raízes, o que não foi observado para as plantas sob irrigação (controle). A redução na concentração de amido foliar tendeu uma regressão linear representada pela seguinte equação: $y(D) = -0,009x + 0,227$ ($R^2 = 0,97$). Nas raízes a equação que melhor ajustou-se foi a polinomial de segunda ordem, representada por $y(D) = 0,000x^2 - 0,014x + 0,114$ ($R^2 = 0,98$). As menores médias observadas nas folhas e nas raízes ocorreram ao 16º dia de estresse, sendo de 0,076 e 0,019mmol de GLU/g de resíduo, respectivamente. Uma redução de 68,8% (folha) e 79% (raiz) com relação às plantas controle (0,244 e 0,091 mmol de GLU/g de resíduo, respectivamente). Após a reidratação (quatro dias) as plantas sob estresse recuperaram suas concentrações de amido nas folhas e nas raízes, mas não totalmente com relação às plantas controle. Entretanto, este aumento foi significativo atingindo valores de 0,16 e 0,04 mmol de GLU/ g de resíduo, folha e raiz respectivamente (Fig. 6).

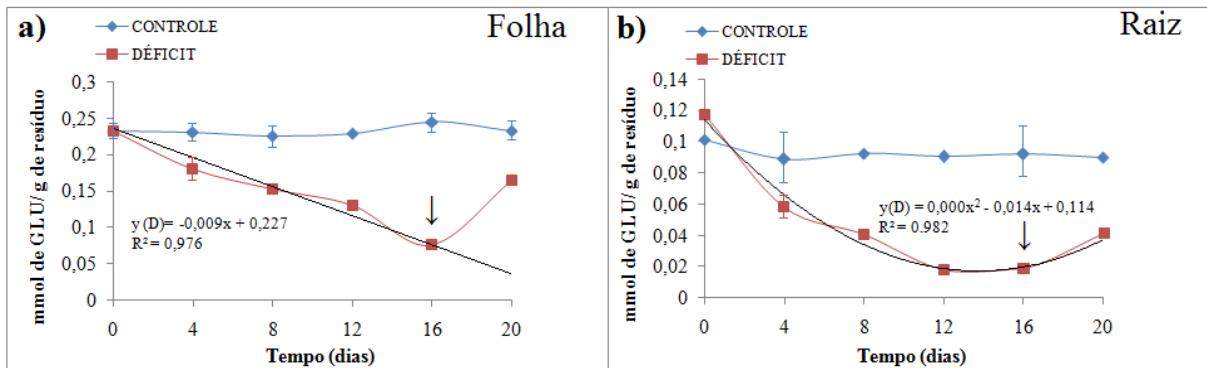


FIGURA 6: Concentrações de amido nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

No que concerne aos teores de carboidratos solúveis totais (CST), os resultados revelaram um incremento significativo para as plantas sob deficiência hídrica. Nas folhas o aumento tendeu uma regressão linear, representada pela equação $y(D) = 0,211x + 1,298$ ($R^2 = 0,99$). O mesmo comportamento foi observado para as raízes, nos quais o aumento nas concentrações de CST tendeu uma regressão linear representada por $y(D) = 0,121x + 1,196$ ($R^2 = 0,98$). Ao 16º dia as plantas sob déficit hídrico apresentaram suas maiores concentrações tanto nas folhas quanto nas raízes (4,7 e 3,2 mmol g⁻¹ MS, respectivamente) com relação as plantas controle (1,2 e 0,8 mmol g⁻¹ MS, respectivamente), correspondendo a um aumento de 291,6% 300% respectivamente. Após a reidratação durante quatro dias, os valores médios dos teores CST reduziram nas folhas e nas raízes (2,3 e 1,1 mmol g⁻¹ MS, respectivamente) (Fig. 7).

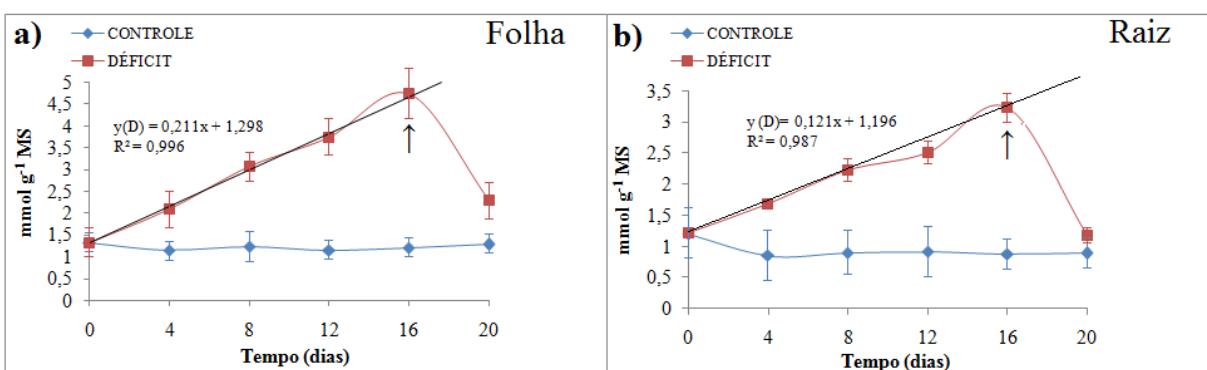


FIGURA 7: Concentrações de carboidratos solúveis totais nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

As plantas sob déficit hídrico apresentaram incrementos significativos nas concentrações de sacarose tanto na folha quanto nas raízes quando comparadas as plantas controle. O aumento nas folhas tendeu uma regressão linear representada pela equação $y(D) = 0,575x + 28,96$ ($R^2 = 0,97$). Comportamento similar foi observado nas raízes, nas quais o

incremento de sacarose tendeu uma regressão linear representada pela equação $y(D) = 0,589x + 11,42$ ($R^2 = 0,99$). As maiores médias, tanto para as folhas quanto para as raízes das plantas sob déficit ocorreram ao 16º dia de estresse, sendo de 38 e 20,7 mg sacarose g^{-1} MS, respectivamente, um incremento de 37,6% e 82,4% com relação as plantas controle (27,6 e 11,1 mg sacarose g^{-1} MS). A reidratação por quatro dias das plantas sob estresse reduziu a concentração de sacarose nas folhas e nas raízes (30,5 e 13,9 mg sacarose g^{-1} MS, respectivamente), aproximando-se das médias das plantas controle (Fig 8).

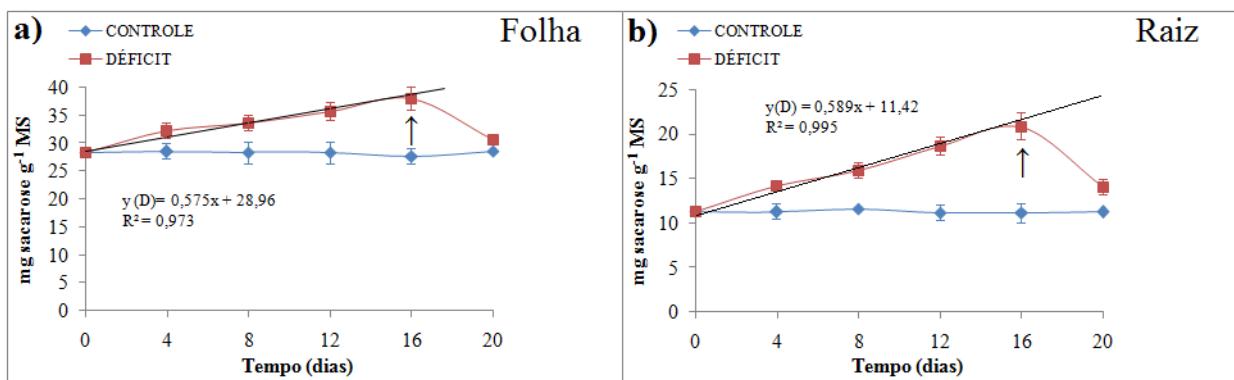


FIGURA 8: Concentrações de sacarose nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

Ocorreu aumento significativo no conteúdo de glicina-betaína tanto nas folhas quanto nas raízes das plantas sob déficit hídrico. Tal comportamento não foi observado nas plantas controle. O aumento no conteúdo de glicina-betaína foliar tendeu uma regressão polinomial de terceira ordem, representada pela equação $y(D) = -0,004x^3 + 0,107x^2 + 0,275x + 4,838$ ($R^2 = 0,98$). Já nas raízes o aumento tendeu uma regressão linear representada por $y(D) = 0,811x + 6,898$ ($R^2 = 0,99$). Ao 16º dia de estresse o incremento de glicina-betaína nas folhas e raízes apresentou sua maior média (17,5 e 19,6 μ grama de glicina-betaína/g MS, respectivamente), sendo 264% e 201% maior que as plantas controle (4,8 e 6,5 μ grama de glicina-betaína/g MS, respectivamente) (Fig. 9). Após quatro dias de reidratação das plantas sob deficiência hídrica, um decréscimo significativo foi observado no conteúdo de glicina-betaína na folha e raiz (6,3 e 8,2 μ grama de glicina-betaína/g MS, respectivamente), aproximando-se à média das plantas controle (Fig. 9).

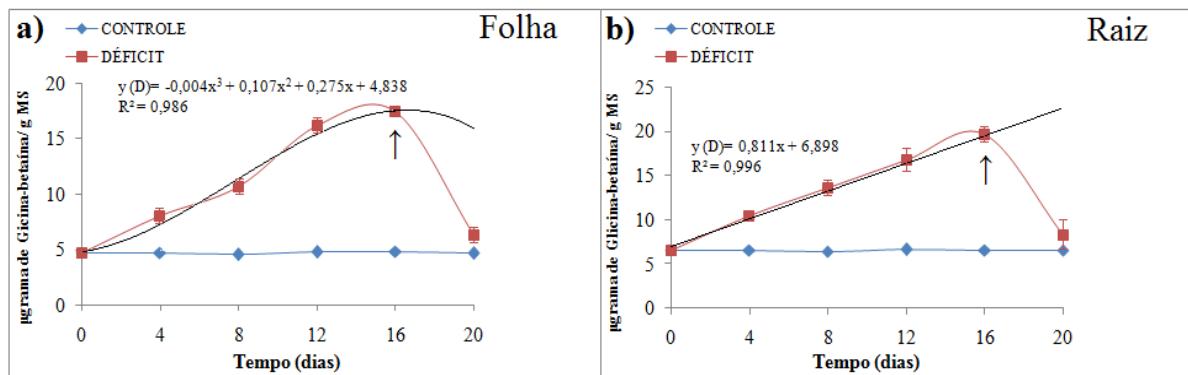


FIGURA 9: Concentrações de glicina-betaína nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

As concentrações de proteínas solúveis totais (PST) nas raízes e nas folhas foram reduzidas significativamente nas plantas sob déficit hídrico. As reduções nas folhas tenderam a uma regressão linear, representada por $y(D) = -0,121x + 2,482$ ($R^2 = 0,98$). O mesmo comportamento tendeu as raízes, ajustando-se a equação $y(D) = -0,108x + 2,147$ ($R^2 = 0,98$). As menores médias das concentrações PST ocorreram ao 16º dia de estresse, sendo de 0,6 e 0,4mg de proteína/ g MS, folha e raiz respectivamente. Uma redução de 76,9% e 80,9 com relação às plantas controle (2,6 e 2,1 mg de proteína/ g MS, respectivamente). A reidratação por quatro dias propiciou uma completa recuperação nas concentrações PST foliar (2,9 mg de proteína/ g MS), ultrapassando a concentração média das plantas controle (2,5mg de proteína/ g MS). Nas raízes, os quatro dias de reidratação propiciou recuperação (1,7 mg de proteína/ g MS), mas não ao ponto de se igualar as concentrações das plantas controle (2,1mg de proteína/ g MS) (Fig. 10).

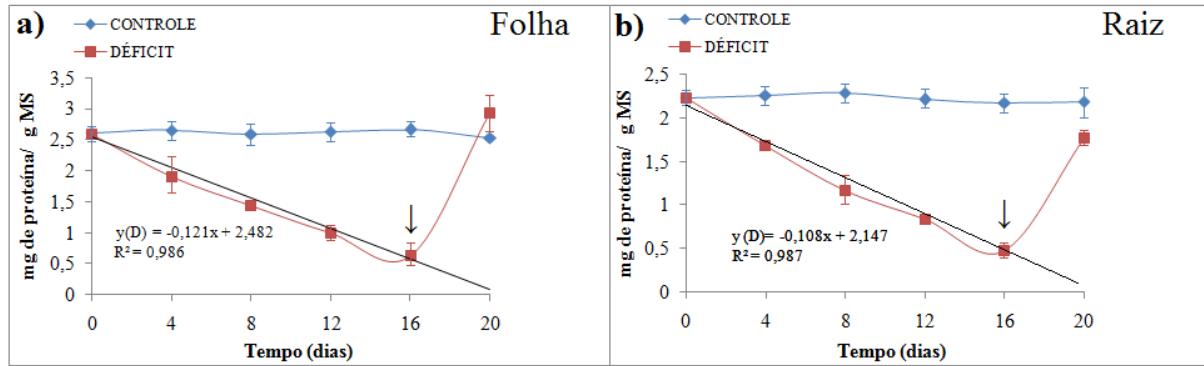


FIG. 10: Concentrações de proteínas solúveis totais nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

As concentrações de aminoácido livres totais (AALT) nas folhas e nas raízes em questão apresentaram um incremento significativo nas plantas submetidas ao estresse hídrico

no decorrer do experimento. O incremento nas folhas tendeu uma regressão linear, representada pela equação $y(D) = 1,822x + 36,49$ ($R^2 = 0,99$). O mesmo comportamento seguiu as raízes, as concentrações de AALT tenderam uma regressão linear, representada por $y(D) = 1,3x + 52,85$ ($R^2 = 0,98$). Ao 16º dia as plantas sob deficiência hídrica apresentaram suas maiores médias, tanto para as folhas quanto para as raízes, sendo de 65,8 e 72,8 μmol de AA/ g MS, respectivamente, um aumento de 79,3% e 39,4% com relação às plantas controle (36,7 e 52,2 μmol de AA/ g MS, respectivamente). A reidratação por quatro dias das plantas sob estresse reduziu as concentrações AALT (46,1 e 58,1 μmol de AA/ g MS), aproximando-se as médias das plantas controle (Fig. 11).

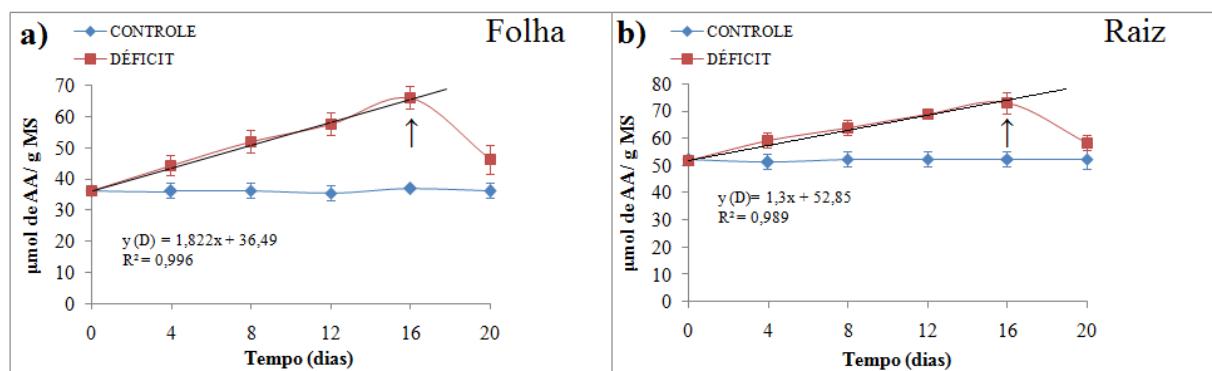


FIG. 11: Concentrações de aminoácidos solúveis totais nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

As concentrações de prolina nas folhas e raízes aumentaram significativamente nas plantas sob deficiência hídrica no período de suspensão hídrica. O incremento no conteúdo de prolina foliar tendeu uma regressão linear, representada pela equação $y(D) = 0,373x + 1,649$ ($R^2 = 0,98$). Comportamento semelhante tendeu as concentrações de prolina nas raízes, representado pela equação $y(D) = 0,468x + 0,86$ ($R^2 = 0,98$). Ao 16º dia de estresse o incremento de prolina nas folhas e raízes apresentou suas maiores médias (7,5 e 8,5 μmol de prolina/g MS, respectivamente), sendo 477% e 672,7% maiores que as plantas controle (1,3 e 1,1 μmol de prolina/g MS respectivamente). Após quatro dias de reidratação das plantas sob estresse foi observado um decréscimo significativo no conteúdo de prolina nas folhas e raízes (2,2 e 1,5 μmol de prolina/g MS, respectivamente), aproximaram-se à média das plantas controle (Fig. 12)

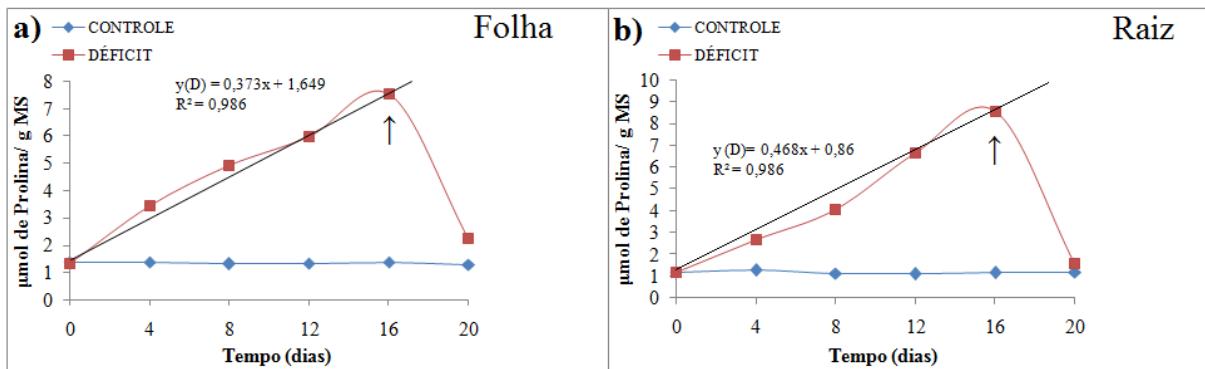


FIG. 12: Concentrações de prolina nas folhas (a) e nas raízes (b). Os dados referem-se às médias de cinco repetições \pm erro padrão da média, tomadas em um intervalo de quatro em quatro dias durante vinte dias. As setas indicam o momento em que a irrigação foi retomada. Belém-Pa, 2013.

3.4. DISCUSSÃO

As plantas de fava-anatã foram significativamente afetadas pela deficiência hídrica ($P < 0,05$), observada pelo baixo CRA e Ψ_{am} (Fig. 1). O potencial hídrico foliar é uma grandeza termodinâmica que nos permite determinar a quantidade de água celular disponível no tecido para a realização de trabalho químico (Kramer; Boyer, 1995). Ao ser determinado na antemanhã (entre 4:30 e 5:30h), fornece indiretamente o potencial hídrico do solo no qual as plantas se encontram, pois nestes horários as perdas de água por evapotranspiração são nulas ou desprezíveis, devido à ausência de luz e a alta umidade (próximo a saturação) e, nessas condições, um equilíbrio no sistema solo – planta – atmosfera é alcançado.

Desta forma, entende-se que o potencial hídrico do solo foi reduzido gradativamente quando comparamos com o Ψ_{am} de fava-ananã sob déficit hídrico (Fig. 1-a), o que pode ter afetado a quantidade de água disponível para realização de trabalho químico, uma vez que foi observado correlação significativa para as plantas estressadas tanto nas folhas quanto nas raízes entre o Ψ_{am} e variáveis bioquímicas analisadas ($P < 0,05$), com exceção da RN, a qual não apresentou correlação significativa nem para o Ψ_{am} nem para o CRA (Tab. 1). Entretanto as plantas controle apresentaram correlação significativa e positiva entre $\Psi_{am} \times RN$ ($P < 0,001$) e $CRA \times RN$ ($P < 0,05$). As mesmas correlações observadas entre o Ψ_{am} e as variáveis bioquímicas das plantas sob estresse foram observadas também para o CRA (Tab. 1). Os baixos valores encontrados para o Ψ_{am} e para o CRA, em plantas sob déficit, afetaram significativamente as concentrações de solutos tanto nas folhas quanto nas raízes, tais alterações podem ser interpretados como processos adaptativos e/ou mecanismos de proteção da plantas sob estresse com o intuito de adiar e/ou tolerar um período de seca (Chaves et al., 2009; Rhein et al., 2011), uma vez que não foi observado as mesmas correlações encontradas em plantas sob estresse nas plantas controle (Tab. 1 e 2).

TABELA 1

Coeficientes de correlação de Pearson entre o potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}), conteúdo relativo de água (CRA), redutase do nitrato (RN), nitrato (NO_3^-), amônio (NH_4^+), glutamina sintetase (GS), amido, carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (SAC), glicina betaina (GB), proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT) e prolina (PROL) em plantas irrigadas (controle) e sob déficit hídrico (estressadas) de fava-atanã (*P. gigantocarpa*).

VARIÁVEIS	FOLHA-CONTROLE	RAIZ-CONTROLE	FOLHA-ESTRESSADAS	RAIZ-ESTRESSADAS
Ψ_{am} x NR	0,98***	0,33	0,15	0,08
Ψ_{am} x NO_3^-	0,1	- 0,09	0,84*	0,87*
Ψ_{am} x NH_4^+	0,005	- 0,19	- 0,92**	- 0,89*
Ψ_{am} x GS	- 0,01	- 0,24	0,92**	0,92**
Ψ_{am} x Amido	- 0,002	0,86*	0,81*	0,57
Ψ_{am} x CST	0,49	0,91*	- 0,88*	- 0,97***
Ψ_{am} x SAC	0,01	- 0,05	- 0,91*	- 0,89*
Ψ_{am} x GB	0,11	0,07	- 0,91**	- 0,94**
Ψ_{am} x PST	0,24	0,13	0,96**	0,89*
Ψ_{am} x AALT	- 0,06	- 0,23	- 0,86*	- 0,88*
Ψ_{am} x PROL	0,58	0,12	- 0,93**	- 0,95**
CRA x NR	0,85*	0,37	0,28	0,14
CRA x NO_3^-	- 0,09	0,006	0,96**	0,98***
CRA x NH_4^+	- 0,03	- 0,32	- 0,98***	- 0,99***
CRA x GS	- 0,36	- 0,56	0,99***	0,97***
CRA x Amido	- 0,20	0,60	0,94**	0,85*
CRA x CST	- 0,28	0,67	- 0,98***	- 0,96***
CRA x SAC	0,22	0,14	- 0,98***	- 0,98***
CRA x GB	- 0,10	- 0,10	- 0,97***	- 0,99***
CRA x PST	0,31	0,46	0,93**	0,99***
CRA x AALT	- 0,14	- 0,62	- 0,98***	- 0,99***
CRA x PROL	0,60	0,43	- 0,99***	- 0,96**

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

O estresse hídrico pode comprometer a assimilação de alguns nutrientes, em especial o nitrogênio, que depende de uma série de reações bioquímicas complexas, que estão entre as que mais demandam por energia no organismo vegetal. Esse metabolismo de compostos nitrogenados pode ser influenciado por alterações ambientais, como luz, calor e água, afetando o crescimento e o desenvolvimento das plantas em condições adversas, pelo fato de o nitrogênio ser o nutriente mineral mais limitante para tais processos (Cazetta, 1997; Tischner, 2000; Taiz; Zeiger, 2013).

As plantas absorvem nitrogênio em maior quantidade na forma de nitrato (NO_3^-) diluído em água através das raízes (Perez, 2003), entretanto para que possa ser utilizado é necessário que seja reduzido à amônia, para que assim possa ser então incorporado em composto orgânico. A conversão do nitrato à amônia é constituída por várias etapas, sendo uma delas a redução do nitrato a nitrito, processo catalisado pela atividade da enzima redutase do nitrato (Andrade Netto, 2005; Lobato et al, 2008). Por esse motivo a atividade da RN tem sido frequentemente utilizada como indicadora de estresses e de outras mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas. Dentre os fatores ambientais moduladores da RN, são citados a modulação luz/escuro, concentração de CO_2 intercelular, hipoxia/anoxia, déficit hídrico, disponibilidade de O_2 , nitrato, dentre outros (Kaiser; Huber, 1994).

Neste trabalho, não foi observado correlação significativa entre o Ψ_{am} x RN e o CRA x RN para as plantas sob suspensão hídrica (Tab. 1). Esse comportamento pode ter sido influenciado por diversos fatores, como a presença constante do NO_3^- vindo de reserva do vacúolo e que por isso sua atividade foi mantida; a síntese *de novo* (Andrade Netto, 2005); ou a qualidade da intensidade luminosa no período do experimento, que variou de 183,5 a 511,3 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, associada a mínima absorção de CO_2 para fotossíntese, o que poderia fornecer fotoassimilados exportados dos cloroplastos, funcionando como sinalizadores capazes de ativar a RN (Debouba et al, 2007; Kaiser; Huber, 2001; Provan; Lillo, 1999).

Estudos realizados em plantas de *Campomanesia* sp. submetidas ao estresse hídrico demonstraram que a atividade enzimática da RN nas duas primeiras semanas sob estresse não diferiu dos resultados obtidos para as plantas irrigadas diariamente. Tal comportamento aponta uma provável adaptação da atividade da enzima após um determinado período de deficiência hídrica (Oliveira et al, 2011). Estes resultados também foram constatados em plantas de milho por Ferreira et al. (2002) que, ao estudar o metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica demonstrou que a atividade da enzima RN em milho não diferiu entre o tratamento de estresse hídrico e o controle. Diferentemente das plantas de teca

(*Tectona grandis*), na qual a suspenção hídrica por nove dias reduziram as contrações da atividade RN em 98,45% com relação às plantas controle (Castro et al., 2007).

Já nas raízes desse mesmo grupo de plantas, a redução da atividade da RN foi significativa ($P < 0,05$) (Fig. 2-b). Esta resposta pode estar diretamente relacionada à diminuição da absorção do nitrato (Fig. 3), em virtude da redução do fluxo de água para as raízes, devido à baixa transpiração, visto que essa enzima é altamente dependente de seu substrato. Entretanto, o déficit hídrico não afetou totalmente atividade da RN nas raízes, que foi mantida, possivelmente, pela distribuição do NO_3^- dos vacúolos para o citosol. Os resultados encontrados para as raízes das plantas sob déficit de fava-atanã foram também evidenciados em plântulas de arroz (Sharma; Dubey, 2005) e em *Arabidopsis* (Xu; Zhou, 2004), ocorrendo diminuição da atividade da enzima RN com o aumento da severidade da deficiência hídrica no solo. Comportamento similar foi observado por Luz (2012) em plantas jovens de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* sob déficit hídrico e reidratação.

O nitrato (NO_3^-), por ter carga negativa, com frequência torna-se componente da solução do solo, sendo facilmente lixiviado com a presença da água (Kerbauy, 2012). Considerando este aspecto, se houver deficiência hídrica no solo, como a imposta neste experimento, a absorção e o transporte de NO_3^- pelas raízes tende a diminuir significativamente, fato observado neste experimento (Fig. 3) e corroborado pela positiva e significativa correlação entre o $\Psi_{\text{am}} \times \text{NO}_3^-$ ($P < 0,05$) e o CRA x NO_3^- ($P < 0,001$) (Tab. 1). Além disso, o baixo fluxo transpiratório, causado pela suspensão hídrica reduz significativamente a absorção de NO_3^- pelas raízes. Fato que explica a baixa concentração desse íon observado nas folhas e nas raízes de plantas de fava-atanã estressadas (Fig. 3), podendo ainda a presença da atividade da enzima redutase do nitrato mantida nos tecidos analisados (Fig. 2), ter contribuído ainda mais para a redução do NO_3^- no tecido vegetal sob estresse, diminuindo significativamente o conteúdo desse íon para ambos os órgãos (folha e raiz). Nos trabalhos de Alves (2010), com ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*), Oliveira Neto (2010) com plantas jovens de *Hymenaea courbaril* e Castro et al., (2007) com de plantas de teca (*Tectona grandis*) foi observado que déficit hídrico no solo está fortemente relacionado com redução da concentração de NO_3^- no tecido vegetal, comprometendo o metabolismo do nitrogênio na planta.

O déficit hídrico nas plantas de fava-atanã pode ter induzido outras rotas para formação do amônio (NH_4^+) livre no meio celular, promovendo acúmulo desse íon tanto nas folhas quanto nas raízes (Fig. 4), o que explica a correlação negativa e significativa observada entre $\Psi_{\text{am}} \times \text{NH}_4^+$ nas folha ($P < 0,01$) e nas raízes ($P < 0,05$) das plantas estressadas (Tab. 1).

Esta alta concentração de NH_4^+ pode ter sido em consequência a diversos fatores, como: (i) na desaminação do glutamato pela enzima glutamato desidrogenase (GDH), que é dependente do NADPH; (ii) na fotorrespiração, que é fortemente aumentada em condições de estresse hídrico, uma vez que o fechamento estomático diminui a assimilação de CO_2 e deixa a rubisco mais suscetível ao O_2 da respiração, liberando o NH_4^+ na oxidação da glicina; (iii) no catabolismo de aminoácidos e; (iv) na redução da atividade da enzima glutamina sintetase (Fig. 5), responsável pela redução de amônio em glutamina (Luiz, 2009; Taiz e Zeiger, 2013), visto que foi observada uma forte correlação negativa e significativa entre a GS x NH_4^+ tanto nas folhas ($P < 0,001$) quanto nas raízes ($P < 0,01$) (Tab. 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Barreto et al., (2008) em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*) submetidos ao alagamento e deficiência hídrica, respectivamente, os quais observaram as altas concentrações de amônio livre.

TABELA 2

Coeficientes de correlação de Pearson entre redutase do nitrato (RN), nitrato (NO_3^-), amônio (NH_4^+), glutamina sintetase (GS) e aminoácidos livres totais (AALT) em plantas irrigadas (controle) e sob déficit hídrico (estressadas) de fava-atanã (*P. gigantocarpa*).

VARIÁVEIS	FOLHA controle	RAIZ controle	F x R controle	FOLHA- estressadas	RAIZ- estressadas	F x R estressadas
RN x NO_3^-	- 0,44 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,99***
RN x NH_4^+	- 0,57 ^{ns}	- 0,06 ^{ns}	0,18 ^{ns}	- 0,14 ^{ns}	- 0,21 ^{ns}	- 0,99***
RN x GS	- 0,63 ^{ns}	- 0,18 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,99***
GS x NO_3^-	0,61 ^{ns}	- 0,06 ^{ns}	- 0,49 ^{ns}	0,96**	0,93**	0,98***
GS x NH_4^+	0,98***	0,62 ^{ns}	0,10 ^{ns}	- 0,99***	- 0,94**	- 0,99***
GS x AALT	0,14 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,75 ^{ns}	- 0,97***	- 0,96**	- 0,99***

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

Esses resultados revelam que a possível redução da fotossíntese causada pela deficiência hídrica, aumentou expressivamente as concentrações de amônio livre, visto que o processo fotossintético mantém o metabolismo do nitrogênio através do fornecimento de energia (ATP) e pelas formações dos poderes redutores (NADPH, FADH e NADH) Oliveira Neto (2010).

A atividade da enzima glutamina sintetase (GS) foi fortemente afetada nas folhas e nas raízes das plantas de fava-atanã sob déficit hídrico (Fig. 5), apresentando uma expressiva correlação entre o Ψ_{am} x GS nas folhas e nas raízes ($P < 0,05$) (Tab. 1). Tal comportamento evidencia que a atividade desta enzima pode estar intimamente ligada às baixas concentrações

de ATPs no meio celular, devido à provável redução da atividade fotossintética nas folhas causada pela deficiência hídrica, o que poderia ter afetado a produção desta molécula (ATP) na fase fotoquímica da fotossíntese, reduzindo o açúcar disponível para a produção de energia e de poderes redutores (NADPH, FADH, Fd_{red} e NADH) (Kwinta; Cal, 2005; Swarbreck et al, 2011). Como consequência, ocorre a redução da glutamina, devido baixa atividade da GS, afetando o *ciclo da síntese do glutamato*, inter-relação que existe entre GS, GOGAT e aminotransferase (Kerbauy, 2012), o que pode reduzir ainda mais a atividade da GS, pois esta necessita de NH_4^+ , ATP e glutamato para sua ativação (Kerbauy, 2012).

A rota da síntese do glutamato nos cloroplastos e nos plástidos celulares depende da enzima glutamato sintetase (GOGAT), esta, por sua vez, é dependente da glutamina, produzida pela GS, e dois elétrons fornecidos pela ferrodoxina (Fd_{red}) (nos cloroplastos) ou NADH (no citossol) para sua ativação (Debouba et al. (2007). Com a redução da glutamina, esse ciclo é comprometido afetando a produção de glutamato. Além disso, o glutamato pode também ser desaminado pela GDH. Em conjunto, esses fatores podem ter contribuído para redução GS. Entretanto, esta enzima não fica totalmente inativa, devido aos altos níveis de NH_4^+ mantidos no tecido vegetal (Fig. 4), como já explicado (Ferreira et al., 2002). Oliveira Neto (2008) trabalhando com plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*) sob déficit hídrico encontrou resultados semelhantes. Já Luiz (2009) observou um aumento da atividade da GS em 40% em plantas de *Jatropha curcas* submetidas a 18 dias de estresse hídrico como relação às plantas controle, justificando que a atividade fotorrespiratória teve uma importância significativa para tal comportamento.

A suspensão da irrigação reduziu consideravelmente as concentrações de amido nas folhas das plantas estressadas (Fig. 6-a). Esta resposta está intimamente ligada com a diminuição da fotossíntese, além da quebra do amido em novos açúcares, como a sacarose, por meio das enzimas α e β -amilase e/ou a inativação da enzima chave na síntese de amido, realizada pela ADP-glicose pirofosforilase (Lawlor; Cornic, 2002; Pimentel, 2004; Cordeiro, 2012). Tal fato corroborado pela negativa e significativa correlação observada entre as concentrações de amido x CST e entre amido x sacarose ($P < 0,05$) (Tab. 3).

Já a redução de amido observada nas raízes (Fig. 6-b), pode estar relacionada ao baixo fluxo de fotoassimilados das folhas para esse órgão, devido a deficiência hídrica promover uma redução no potencial de pressão positiva no floema, além disso, as raízes podem utilizar a energia armazenada no amido para manter processos fisiológicos e/ou adaptativos, como a absorção de nutrientes, no metabolismo do nitrogênio e no investimento do crescimento

radicular, o que impossibilita qualquer tipo de armazenamento de reserva de açucares nesse órgão (Pimentel, 2004).

TABELA 3

Coeficientes de correlação de Pearson entre amido, carboidratos solúveis totais (CST) e sacarose (SAC) em plantas irrigadas (controle) e sob déficit hídrico (estressadas) de fava-atanã (*P. gigantocarpa*)

VARIÁVEIS	FOLHA controle	RAIZ controle	F x R controle	FOLHA- estressadas	RAIZ- estressadas	F x R estressadas
Amido x CST	0,04 ns	0,96**	- 0,07 ns	- 0,97***	- 0,87*	- 0,95**
Amido x SAC	- 0,88*	0,14 ns	- 0,62 ns	- 0,95**	- 0,86*	- 0,97***
SAC x CST	0,05 ns	0,04 ns	0,03 ns	0,97***	0,95**	0,99***

Obs.: ns Não significativo pelo teste F, * significativo pelo teste F ($P < 0,05$) e ** significativo pelo teste F ($P < 0,01$)

Comportamento similar foi observado por Luz (2012) em plantas jovens de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* sob déficit hídrico e reidratação, onde a redução do amido ocorreu a partir do 13º dia de estresse tornando-se mais acentuada ao 26º dia, para ambas as espécies. Silva et al. (2010) também obteve resultados semelhantes trabalhando com café Colínon (*Coffea canephora*) sob deficiência hídrica, observando uma redução de 70% na concentração de amido foliar. Estudos realizados por Grisi (2006) em mudas de café Siriema e Catuaí, também evidenciaram variações nos teores de amido, os quais apresentaram decréscimos na concentração ao quarto e ao sexto dias após a suspenção hídrica, respectivamente.

A deficiência hídrica também promoveu incremento significativo nas concentrações de carboidratos solúveis totais (CST) (Fig. 7). A alta concentração de CST, bem como de sacarose (Fig. 8), glicina-betaína (Fig. 9), AALT (Fig. 11) e prolina (Fig. 11) pode estar relacionada ao processo de ajustamento osmótico em resposta a desidratação do tecido das plantas estressadas, reduzindo seu potencial osmótico no sentido de manter a planta hidratada, e consequentemente, retardar a desidratação dos seus tecidos, além de fornecerem elementos base, como carbono e nitrogênio para serem transportados para outros drenos preferenciais (Carvalho, 2005; Cunha, 2010). O ajustamento osmótico permite o crescimento celular mesmo sob um potencial hídrico que geralmente seria inibidor em tal condição. Ele também auxilia a manutenção da abertura estomática e o funcionamento do aparelho fotossintético, permitindo que este opere mesmo em condições de baixo potencial hídrico (Praxedes et al., 2006). Diversos autores reportam também que as concentrações de CST podem estar relacionadas com o processo de sinalização de estresse, bem como a proteção de biomembranas, as quais podem ser degradadas com a falta de água no citossol e pelo aumento

de substâncias iônicas, tornando várias enzimas inativas no citosol (Valliyondan; Nguyen 2006; Silva et al. 2009; Chaves et al. 2009).

Não é raro encontrar na literatura estudos que aportam uma forte correlação entre o aumento na atividade das enzimas responsáveis pela hidrólise do amido e o acúmulo de açúcares em plantas submetidas à baixa disponibilidade de água, tais como α e β -amilase ou invertases (Martim, 2003; Chaves et al., 2003), como observado neste experimento (correlação negativa entre amido x CST, $P < 0,05$). Além disso, o déficit hídrico pode ter causado distúrbios no floema, reduzindo a translocação desses açúcares para outros órgãos. Nas raízes, o aumento nas concentrações de CST podem ser em resposta as mesmas condições apresentadas no tecido foliar, além das altas concentrações de CST auxiliar no reparo de biomembranas e no fornecimento de energia necessária à assimilação de nitrogênio para investir no crescimento radicular.

Carvalho (2005) também observou que plantas de *S. amazonicum* e *S. parahyba* sob déficit hídrico aumentou suas concentrações de CST. Os resultados encontrados por Cordeiro (2012) com três espécies arbóreas (mogno brasileiro, ipê-amarelo e jatobá) no período seco e por Lobato et al. (2008) trabalhando à deficiência hídrica em plantas de *Vigna unguilata* corroboram, também, com os resultados encontrados neste experimento.

A possível redução fotossintética, causada pelo déficit hídrico, e a consequente degradação do amido, através das enzimas α e β -amilase, aumentou os níveis de açúcares livres no tecido vegetal, principalmente da sacarose (Fig. 8), cujo coeficiente de correlação de Pearson foi positivo e altamente significativo para as concentrações de CST x sacarose tanto nas folhas ($P < 0,01$) quanto nas raízes ($P < 0,001$) e negativo entre amido x sacarose, sendo extremamente significativo nas raízes das plantas estressadas ($P < 0,001$) (Tab. 3). A sacarose é o principal açúcar exportado, seu teor pode ter aumentado para suprir regiões de consumo ou armazenamento, devido à redução da fotossíntese, visto que as hexoses liberadas a partir da hidrólise de sacarose podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos, podendo também estar relacionado ao fornecimento de açúcares redutores, sendo muito utilizado para o processo de ajustamento osmótico (Silva et al., 2010).

Muitos trabalhos com plantas sob déficit hídrico têm mostrado uma forte correlação entre o acúmulo de açúcares e a tolerância ao estresse (Chave et al. 2003, Oliveira, 2005; Cordeiro, 2007). Assim como os demais açúcares, a sacarose, pode se ligar às moléculas de água na folha e nas raízes com o intuito de manter o nível de água nesses tecidos, induzindo, juntamente com outros osmólitos compatíveis, um ajustamento osmótico na planta, o que pode ser observado em plantas de fava-atanã sob estresse hídrico. Cunha (2010) observou

aumento significativo nas concentrações de sacarose em folhas de plantas de *K. ivorensis* e *S. macrophylla* no período seco (157% e 69%, respectivamente). Alves (2010) trabalhando com *Tabebuia serratifolia* em déficit hídrico observou um incremento nas concentrações de sacarose de 40,6% e 76,5 (folha e raiz, respectivamente). Ambos os resultados corroboram com os encontrados neste experimento.

A deficiência hídrica promoveu um acúmulo significativo nos teores de glicina-betaína nas folhas e nas raízes (Fig. 9). A síntese de glicina-betaína pode ser induzida pelo estresse, fato que justifica a ausência de correlação significativa entre Ψ_{am} x GB para as plantas controle, diferentemente das plantas sob suspenção hídrica, as quais apresentaram uma forte correlação negativa entre Ψ_{am} x GB, tanto nas folhas quanto nas raízes ($P < 0,01$) (Tab. 1). Este comportamento é bastante evidenciado na literatura, pois a expressão dos genes que estão envolvidos na síntese das enzimas que regulam a formação da glicina-betaína (colina monooxigenase-CMO e betaína aldeído desidrogenase-BADH) são ativados por estresses osmóticos e/ou salínico, tanto em folhas quanto em raízes (Chaves et al., 2003; Taiz; Zeiger, 2013).

A glicina betaína desempenha um papel importante na proteção de plantas expostas a estresses ambientais, conferindo ajuste osmótico juntamente com o aumento no conteúdo de outros osmólitos compatíveis. Como suas quantidades, muitas vezes, representam uma porção muito pequena do ajuste osmótico, outras funções são sugeridas à glicina-betaína, como: estabilizar e ativar estrutura de muitas moléculas; induzir a atividade enzimática do complexo de proteína, na manutenção da integridade de membranas contra os efeitos prejudiciais de diferentes estresses abióticos; além de proteger os processos fisiológicos como fotossíntese e síntese de proteína dos resultados de déficit de água e outras tensões (Valliyodan; Nguyen, 2006; Ashraf; Foolad, 2007; Silva et al., 2008)

A capacidade das plantas em acumular glicina-betaína em respostas a deficiência hídrica com o intuito de desenvolver adaptações para evitar a perda de água, foi também registrada em plantas de girassol (Iaqbal, 2008); em seis cultivares de algodoeiro (Sarwar et al. 2006), em plantas de *S. macrophylla* e *T. serratifolia* (Cordeiro, 2012) e em *Carapa guianenses* (Silva, 2009).

As plantas sob suspensão hídrica reduziram significativamente as concentrações de proteínas solúveis totais (PST) nas folhas e raízes (Fig. 10). Tal comportamento está ligado à degradação das proteínas em aminoácidos e/ou a redução de síntese das mesmas, por meio, de um possível aumento, da atividade de enzimas proteolíticas. Muitos estudos correlacionam a quebra de proteínas em aminoácidos, tais como a prolina, como um mecanismo de defesa ao

estresse abiótico ao qual a planta está submetida, podendo auxiliar no ajustamento osmótico em situações de déficit hídrico (Chaves et al. 2003; Cunha, 2010). Tais correlações foram observadas neste experimento para as plantas estressadas, onde a correlação entre PST x AALT foi negativa e significativa tanto nas folhas ($P < 0,05$) quanto nas raízes ($P < 0,001$) (Tab. 4). Estudos apontam, também, que o estresse hídrico pode induzir genes reguladores a codificar proteínas associados ao transporte entre membranas, incluindo ATPases e aquaporinas (proteínas de canal de água) (Taiz; Zeiger, 2013).

TABELA 4

Coeficientes de correlação de Pearson entre nitrito (NO_3^-), amônio (NH_4^+), glicina betaína (GB), proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (AALT) e prolina (PROL) em plantas irrigadas (controle) e sob déficit hídrico (estressadas) de fava-atanã (*P. gigantocarpa*).

VARIÁVEIS	FOLHA controle	RAIZ controle	F x R controle	FOLHA- estressadas	RAIZ- estressadas	F x R estressadas
$\text{NH}_4^+ \times \text{AALT}$	0,02 ns	0,18 ns	0,40 ns	0,98***	0,99***	0,99***
$\text{NO}_3^- \times \text{AALT}$	0,005 ns	- 0,10 ns	0,35 ns	- 0,99***	- 0,98***	- 0,98***
GB x AALT	0,20 ns	- 0,01 ns	0,05 ns	0,95**	0,98***	0,97***
GB X PROL	0,46 ns	0,14 ns	0,00 ns	0,97***	0,98***	0,97***
PROL x AALT	0,43 ns	0,86 ns	- 0,45 ns	0,96***	0,96***	0,95**
PST x AALT	0,27 ns	- 0,43 ns	- 0,40 ns	- 0,87*	- 0,99***	- 0,91*
PST x PROL	0,88*	0,08 ns	0,09 ns	- 0,96**	- 0,94**	- 0,95**
PST x NH_4^+	0,28 ns	- 0,61 ns	- 0,85 ns	- 0,92**	- 0,99**	- 0,91*
PST x NO_3^-	0,65 ns	0,03 ns	- 0,84*	0,84*	0,99***	0,90*

Obs.: ns Não significativo pelo teste F, * significativo pelo teste F ($P < 0,05$) e ** significativo pelo teste F ($P < 0,01$)

A atividade de enzimas proteolíticas na célula é de extrema importância para manter a homeostase das proteínas sob estresse osmótico, visto que muitos autores interpretam seu aumento sob condições de seca como uma forma de eliminar proteínas danificadas provocadas pelo estresse, reciclando-as *de novo* em proteínas envolvidas na proteção e no reparo do tecido vegetal estressado (Catala et al. 2007; Oliveira Neto, 2008). Algumas proteínas, como a LEA (*late embryogenesis abundant*), que se acumulam no tecido vegetal sob estresse hídrico, podem estar envolvidas na estabilização de enzimas complexas, na recuperação e proteção de membranas, além de estarem envolvidas no sequestro de íons e na retenção de água (Chaves et al, 2003).

O estresse hídrico induzido com redução no teor de PST foi também observado por Lobato et al. (2008) em plantas de *Vigna urigulata* submetidas a nove dias de estresse hídrico,

as quais reduziram 47,3% nas folhas. Mohammadkhani e Heidari, (2008) estudando duas variedades de milho em condições de déficit hídrico, observou a diminuição na concentração de proteínas principalmente na cv. 704 que na cv. 301. Comportamento semelhante tendeu plantas de *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* sob estresse hídrico (Luz, 2012)

As elevadas concentrações de aminoácidos livres totais (AALT) observadas para as plantas de fava-atanã estressadas (Fig. 11) estão em função das degradações de proteínas e/ou da redução de sua utilização para síntese *de novo*, como já explicada, bem como possíveis danos provocados pela deficiência hídrica nos tecidos do floema, reduzindo a translocação desses aminoácidos para outros órgãos (Oliveira, 2005). O acúmulo de aminoácidos livres no tecido desempenha importante papel nas plantas sob estresse hídrico, podendo atuar como fonte de nitrogênio e carbono prontamente utilizáveis após o término ou redução de tensões ambientais, além de estar provavelmente ligado ao ajustamento osmótico (Turner, 1997).

Cunha (2010) ao trabalhar plantas de *K. ivorensis* e *S. macrophylla* observou que os incrementos nas concentrações foliares de aminoácidos foram aproximadamente duas vezes maiores no período seco quando comparadas com o período chuvoso, mostrando que a deficiência hídrica altera a concentração desses elementos no tecido foliar. Resultados semelhantes foram relatados por Alves (2010) em plantas de *Tabebuia serratifolia*, observando um incremento em AALT de 27,1% nas folhas e 31,1% nas raízes de plantas sob déficit hídrico. Mesmo comportamento foi observado em plantas de *H. courbaril* submetidas a 30 dias de suspensão hídrica, as quais apresentaram um incremento nas concentrações de AALT de 98,1 nas folhas e 35,4% nas raízes (Oliveira Neto, 2010). Ambos os trabalhos estão em consonância aos encontrados neste experimento.

Em condições de déficit hídrico, o metabolismo de aminoácidos é extremamente afetado, ocorrendo a redução de proteínas solúveis por conta do aumento da atividade de proteases. Sob estas condições, genes que regulam a biossíntese da prolina são ativados, como Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato sintase (Chaves et al., 2003; Taiz; Zeiger, 2013). Tal comportamento pode ser observado neste experimento, no qual plantas sob déficit hídrico apresentaram aumento significativo no conteúdo de prolina nas folhas e raízes (Fig. 12), sendo observada uma alta e negativa correlação entre Ψ_{am} x prolina, entre o CRA x prolina (Tab.1) e entre PST x prolina nas folhas e nas raízes ($p < 0,01$) (Tab. 4). Sendo esperada uma alta e positiva correlação entre prolina x AALT ($p < 0,001$), nas folhas e raízes (Tab. 4).

O aminoácido prolina pode ser sintetizado tanto no citossol quanto em mitocôndrias a partir do glutamato via Δ^1 -pirrolina-5-carboxilase. Seu acúmulo em condições ambientais adversas, como estresse hídrico, não está associado apenas a osmorregulação. Como suas

quantidades, muitas vezes, representam uma porção muito pequena do ajuste osmótico, outras funções são sugeridas para a prolina, tais como desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (EROs), promovendo a proteção de membranas e interação com resíduos de proteínas hidrofóbicas. Além disso, a prolina, e outros osmólitos podem atuar como moléculas sinalizadoras ou reguladoras, capazes de ativar múltiplas respostas do processo de adaptação a estresses ambientais (MAGGIO et al., 2002; Ashraf; Foolad, 2007).

De forma geral, a alteração nas concentrações de prolina observada neste experimento ocorreu possivelmente para proteger o metabolismo vegetal, uma vez que a prolina pode atuar como osmólito compatível, mantendo o balanço de água entre a célula vegetal e o ambiente e estabilizando as macromoléculas. Este mesmo comportamento pode ser observada nas raízes de plantas sob estresse hídrico (Fig. 12-b), pois a prolina sintetizada nos tecidos foliares pode ser translocada pelo floema até as raízes, onde se acumula para preservar e manter o turgor das células radiculares (Raymond; Smirnoff, 2002, Giannakoula et al., 2008).

Diversas pesquisas com plantas sob condições de déficit hídrico apontam um acúmulo significativo no conteúdo de prolina. Cordeiro et al., 2009 observou um alto acúmulo de prolina (400%) nas folhas *S. macrophylla* entre 13:00 e 15:00h avaliadas sob deficiência hídrica, com relação as plantas controle ao período. Rhein et al. (2011) também observou aumento no conteúdo de prolina em raízes de cana-de-açúcar sob estresse hídrico. Aumentos no conteúdo de prolina foram observados em planta de *K. ivorensis* (Cunha, 2010) e em plantas de *Sorghum bicolor* (Oliveira Neto, 2008). Tais resultados estão de acordo com os encontrados neste experimento.

Apesar de o déficit hídrico ter afetado significativamente o metabolismo bioquímico das plantas de fava-atanã submetidas a 16 dias de estresse, este não foi suficiente para promover danos irreversíveis a planta, pois após quatro dias de reidratação, as variáveis bioquímicas voltaram a se recompor, sugerindo que plantas de fava-atanã apresentam bons mecanismos reguladores que auxiliam na tolerância ao déficit hídrico, tais como solutos compatíveis.

3.5. CONCLUSÃO

Os baixos valores do Ψ_{am} e do CRA, em plantas sob déficit, afetaram significativamente as concentrações de solutos tanto nas folhas quanto nas raízes das plantas de fava-atanã.

As concentrações da redutase do nitrato na folha não sofreram significativamente com o déficit hídrico imposto neste experimento, diferentemente das raízes, as quais sofreram decréscimos significativos.

O déficit hídrico promoveu reduções também nas concentrações de folhas e raízes para o nitrato, glutamina sintetase, amido e proteínas, acentuando-se ao 16º dia da suspensão hídrica. Enquanto os teores de amônio, carboidratos, sacarose, glicina-betaína, aminoácidos e prolina aumentam significativamente no mesmo período para as plantas estressadas.

Embora os potenciais osmóticos na turgescência plena e no ponto de plasmólise incipiente não tenham sido determinados neste experimento, é possível inferir que o acúmulo de solutos em alta quantidade nas folhas e nas raízes das plantas estressadas possa estar fortemente relacionado ao mecanismo de osmorregulação e de osmoproteção na espécie *Parkia gigantocarpa*.

Tais alterações podem ser interpretados como processos adaptativos e/ou mecanismos de proteção da plantas sob estresse com o intuito de adiar e/ou tolerar um período de seca, uma vez que não foi observado as mesmas correlações encontradas em plantas sob estresse nas plantas controle.

A espécie *Parkia gigantocarpa* recuperou-se em todas as variáveis analisadas após quatro dias de reidratação, desta forma, inferimos que os 16 dias de estresse não foram suficientes para causar danos irreversíveis à planta, o que demonstra a alta plasticidade da espécie durante o período de seca deste experimento, podendo ser submetidas a mais dias de estresse para melhor estimar sua capacidade em acumular ou reduzir os solutos analisados.

REFERÊNCIAS

- Alves, G. A. R. 2010. Aspectos Ecofisiológicos, Bioquímicos e Crescimento de Plantas Jovens de Ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) em Condições de Déficit Hídrico e Alagamento, 2010. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.
- Alves, R. N. B.; Homma, A. K. O. 2008. Amazônia: do verde ao cinza, 2^a Ed. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental.
- Andrade Netto, J. F. 2005. Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeiro arábica.60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Ashraf, M; Foolad, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59, 206-216.
- Barreto, A. G. T; Costa, R. C. L; Cruz, F. J.R; Camargo, P. M. P; Luz, L. M. 2008. Respostas bioquímicas e fisiológicas em plantas de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] submetidas ao alagamento. VI Seminário de Iniciação Científica da UFRA e XII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205–207.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.
- Calbo, M. E. R.; Moraes, J. A. P.V. DE. 2000. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açaí).Revista Brasileira Botânica. 23, n.3, 225-230.
- Carvalho, C.J.R., 2005. Responses of *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *Amazonicum*] and *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] plants to water stress. Revista Árvore. 29, 907–914.
- Carvalho Filho, A. P.;Marques, L. C. T. 1979. Seleção de espécies promissoras para atividade de reflorestamento em função das características silviculturais relatório técnico de avaliação preliminar. Brasil Florestal, Rio de Janeiro.10, n. 37, 72-87.

Carvalho, P. E. R. 2010. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas; Colombo-PR: Embrapa Florestas. 644p.

Cataldo, D. A.; Haroon, S. L. E; Yougs, V. L. 1975. Rapidcolorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Commun Soil Science Plant Analyse. 6, (1),71-80.

Cazetta, J. O. 1997. Influência do nitrogênio e potássio no metabolismo, no desenvolvimento e na produção de plantas de milho. Jaboticabal, 1997. 121 f. Tese (Livre Docênciа) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, FCAV, Campus de Jaboticabal.

Chaves M.M., Maroco J.P., Pereira J.S. 2003. Understanding plant responses to drought – From genes to the whole plant. Functional Plant Biology. 30, 239-264.

Chaves, M. M.; Flexas , J.; Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany. 103, 551 – 560.

Cordeiro, Y. E. M. 2007. Aspectos biofísicos e bioquímicos de plantas jovens de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) sob dois regimes hídricos. 2007. 44 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal Rural da Amazônia.

Cordeiro, Y. E. M.; Pinheiro, H. A.; Santos Filho, B. G. DOS.; Correa, S. S.; Silva, J. R.R. e.; Dias-Filho, M. B. 2009. Physiological and morphological responses of young mahogany (*Swietenia macrophylla* King) plants to drought. Forest Ecology and Management. 258, 1449–1455.

Cordeiro, Y. E. M. 2012. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* (King)), ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson) e jatobá (*Hymenaea courbaril* L) cultivadas sob dois períodos: chuvoso e seco, no município de Igarapé- Açu-PA. 2012. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Costa, G.F., Marenco, R.A. 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.). Acta amazônica .37, 229-234.

Costa, R. C. L. da; Lobato. A. K. S.; Silveira, J. A. G. da; Laughinghouse IV, H. D. 2009. ABA-mediated proline synthesis in cowpea leaves exposed to water deficiency and rehydration. Turk J Agric. 35, 309-317.

Castro, D. S.; Lobato, A. K. S.; Mendes, F. S. M.; Oliveira Neto, C. F.; Cunha, R. L. M.; Costa, R. C. L. C. 2007. Atividade da Redutase do Nitrato em Folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.) sob Déficit Hídrico. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre. 5, supl. 2, 936-938.

Catala, R.; Ouyang, J.; Abreu, I.A.; Hu, Y.; Seo, H.; Zhang, X.; Chua, N.H. 2007. The Arabidopsis E3 SUMO ligase SIZ1 regulates plant growth and drought responses. Plant Cell.19, 2952-2966.

Cunha, R. M. da. 2010. Comportamento ecofisiológico de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) e mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev) submetidos a adubação potássica nas condições edafoclimáticas no município de Igarapé-Açu-PA, Amazônia-Oriental-Brasil. 2010. 122 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Debouba M.; Maâroufi-Dghimi H.; Suzuki A.; Ghorbel M.H.; Gouia H. 2007. 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. 99, n. 6, 1143-1151.

Dias, P.C.; Araujo, W.L.; Moraes, G.A.B.K.; Barros, R.S.; DaMatta, F.M. 2007. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. Journal of Plant Physiology. 164, 639-1647.

Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analitical Chemistry 28, n.3, 350-356.

Ferreira, V. M.; Magalhães, P. C.; Durães, F. O. M.; Oliveiras, L. E. M. DE; Purcino, A. A. C. 2002. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. Ciência Rural. 32, n. 1, 13-17.

Fisch, G.; Marengo, J.A.; Nobre, C.A. 1998. Uma revisão geral sobre o clima da Amazônia. Acta Amazonica, 28, 101-126.

Giannakoula, A.; Moustakas, M.; Mylona, P.; Papadakis, I.; Yupsanis, T. 2008. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. Journal of Plant Physiology, Stuttgart. 165, n.4, 385-396.

Gonçalves, J.F.C., Silva, C.E.M., Guimarães, D.G., 2009. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e a reidratação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 44, 8–14.

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

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

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

Huber, S.C. Bachmann, M.; Huber, J. L., 1996. Post-translational regulation of nitrate reductase activity: a role for Ca^{2+} and 14-3-3 proteins. *Trends in Plant Science*. 1, 432-438.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2006. Desmatamento na Amazônia1995-2005. São José dos Campos- SP.

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

Kaiser, W.M., Huber, S.C. 1994. Post-translational regulation of nitrate reductase in higher plants. *Plant Physiology*. 106, 817-821.

Kaiser, W.M., Huber, S.C. 2001. Post-translational regulation of nitrate reductase : mechanism, physiology relevance and environmental triggers. *Journal of Experimental Botany* 52, n. 363, 1981-1989.

Kamachi, K.; Yamaya, T.; Mae,T.; Ojima, K. 1991. A. Role for glutamine synthetase in remobilization of leaf nitrogen during natural senescence in rice leaves. *Plant Physiology*. 96, 411-417.

Kerbauy, G. B. 2012. *Fisiologia Vegetal*. 2^a Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 431p.

Kramer, P. J.; Boyer, J. S. 1995. *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press. San Diego.p.495.

Kwinta, J.; Cal, K. 2005. Effects of Salinity Stress on the Activity of Glutamine Synthetase and Glutamate Dehydrogenase in Triticale Seedlings. *Journal of Environmental Studies*. 14, n. 1, 125-130.

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

Larcher W. 2006. Tradução: Prado, C.H.B.A. São Carlos-SP: Ed. RIMA.

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

Lobato, A.K.S.; Oliveira Neto, C.F.; Costa, R.C.L; Santos Filho, B.G.; Cruz, F.J.R.; Laughinghouse IV, H. D. 2008. Biochemical and physiology behavior of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. under water stress during the vegetative phase. *Asian Journal of plant sciences*. 7 (1), 44-49.

Luis, R. M. F. C. B. 2009. Resposta de *Jatropha curcas* L. ao défice hídrico. Caracterização bioquímica e ecofisiológica. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronômica). Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.

Luz, L. M. da. 2012. Respostas ecofisiológicas e bioquímicas de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. e *H. stigonocarpa* Mart. submetidas à deficiência hídrica e reidratação. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém-PA.

Maggio, A.; Miyazaki, S.; Veronese, P.; Fujita, T.; Ibeas, J. I.; Damsz, B.; Narasimhan, M. L.; Hasegawa, P. M.; Joly, R. J.; Bressan, R. A. 2002. Does proline accumulation play a active role in stress-induced growth reduction? *The Plant Journal*. 3, 699-712.

Marengo, J.; Bhatt, U.; Cunningham, C. 2000. Decadal and multidecadal variability of climate in the Amazon basin. *International Journal of Climatology*. 20, 503-518.

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

Meinzer, F.C., 2003. Functional convergence in plant responses to the environment. *Ecologia*. 134, 1-11.

Mohammadkhani, N.; Heidari, R. 2008. Effects of Drought Stress on Soluble Proteins in two Maize Varieties. *Turk J Biol.* 32, 23-30.

Ngugi, M. R., Doley, D., Hunt, M. A., Ryan, P., Dart, P. 2004. Physiological responses to water stress in *Eucalyptus cloeziana* and *E. argophloia* seedlings. *Trees.* 18, 381–389.

Nobre, C.A; Sampaio, G.; Salazar, L. 2009. Mudanças climáticas globais. *Ciência e Cultura* 59, 22-27.

Oliveira, E. R. N. 2005. Respostas ao déficit hídrico de quatro leguminosas arbóreas, com uso potencial em sistema de corte e Trituração. 2005. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Oliveira, L. J.; Silva, S. M.; Costa Netto, A. P.; Silva, S. M.; Siqueira, F. M.; Silva, M. 2011. Características agronômicas e atividade da redutase do nitrato em plantas de *Campomanesia* sp. sob estresse hídrico. *Revista Agrarian.* 4, n.11, 43-53.

Oliveira Neto, C.F. 2008. Crescimento, produção e comportamento fisiológico e bioquímico em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) submetidas à deficiência hídrica. 2008. 114f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Oliveira Neto, C.F. 2010. Crescimento, alterações ecofisiológicos e bioquímicos em plantas jovens de jatobá (*Hymenea courbaril* L) submetidas a deficiência hídrica e ao alagamento, 2010. 93f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Paiva, R.; Oliveira, L. M. de. 2006. *Fisiologia e Produção Vegetal.* 1^a Ed. Lavras-MG: Editora UFLA.

Peoples, M. B.; Faizah, A. W.; Reakasem, B. E.; Herridge, D. F. 1989. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Australian Centre for International Agricultural Research Canberra. 76p.

Perez, L. E. P. 2003. Nutrição Mineral de Plantas. ESALQ/USP. Disponível em <http://orion.cpa.unicamp.br/sbfv/arquivos/aulas/grad01/05_nutricao_mineral/nutricao_mineral.pdf> Acesso em 20 de outubro de 2012.

Praxedes, S.C.; DaMatta, F.M.; Loureiro, M.E.; Ferrão, M.A.G.; Cordeiro, A.T. 2006. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta

coffee (*Coffea canephora* Pierre var. kouillou) leaves. Environmental and Experimental Botany. 56,263-273.

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

Raymond, M. J.; Smirnoff, N. 2002. Proline metabolism and transport in maize seedlings at low water potential. Annals of Botany, Oxford. 89, n. 7,813-823.

Rhein, A. F. L.; Santos Durvalina, M. M.; Carlin, S. D. 2011. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob os estresses hídrico e ácido no solo. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 32, n. 4, 1345-1360.

Pimentel, C. 2004. A relação da planta com a água. EDUR : Seropédica. 191p

Pinheiro, H. A.; Da Matta, F. M., Chaves, A. R. M.; Loureiro M. E.; Ducatti, C. 2005. Drought Tolerance is Associated with Rooting Depth and Stomatal Control of Water Use in Clones of *Coffea canephora*. Annals of Botany. 96, 101–108.

Provan, F.; Lillo, C. 1999. Photosynthetic post translation activation of nitrate reductase. Journal of Plant Physiology. 154, 605-609.

Santos, R.F.; Carlesso, R. 1998. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental2, n.3, 287-294, Campina Grande, PB, DEAg/UFPB.

Sarwar, M. K. S.; Ihsan Ullah; Mehboob-Urrahman, M .; Yasin Ashraf; Yusuf Z. 2006. Glycinebetaine accumulation and its relation to yield and yield components in cotton genotypes grown under water deficit condition. Pak. J. Bot. 38(5), 1449-1456.

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

Slavick, B. 1979. Methods of studying plant water relations. New York : Springer Verlang, p.449.

Silva, J. R. R. e. 2009. Comportamento Ecofisiológico de Plantas Jovens de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) Sob Dois Regimes Hídricos. 2009. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém-PA.

Silva, V. A.; Antunes, W. C.; Guimarães, B. L. S.; P. R. M. C.; Silva, V. F.; Ferrão, M. A. G.; DaMatta, F. M.; Loureiro, M. E. 2010. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília. 45, n.5, 457-464

Silva, M. A.; Silva, J. A. G.; Enciso, J.; Sharma, V.; Jifon, J. 2008. Yield components as indicators of drought tolerance of sugarcane. *Scientia Agrícola*, Piracicaba. 65, n.6, 620-627.

Swarbreck, S. M.; Defoin-Platel, M.; Hindle, M.; Saqi, M.; Habash, D. Z. 2011. New perspectives on glutamine synthetase in grasses. *Journal of Experimental Botany*. 62, n. 4, 1511–1522.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2013. Tradução: Santarém, E. R. [et al.]. *Fisiologia Vegetal*, 5^a ed. Porto Alegre: Artmed.

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

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

Valliyodan, B.; Nguyen, H.T. 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 9, 189-195.

Van handel, E. 1968. Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry* 22, p. 280-283.

Victoria, R.; Matinelli, L.; Moraes, J.; Ballester, M.; Krusche, A.; Pellegrino, G.; Almeida, R.; Richey, J. 1998. Surface air temperature variations in the Amazon region and its border during this century. *Journal of Climate*. 11, 105-1110.

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

Xu,Z.; Zhou, G. 2004. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation. *Journal Applied of Ecology*, Beijing. 15, n.3, 511-516.

CONCLUSÕES GERAIS

De forma geral, os resultados apresentados neste experimento sugerem que plantas de fava-atanã (*Parkia gigantocarpa*) respondem positivamente a 16 dias de restrição hídrica, apresentando adaptações a fim de manter seus processos fisiológicos e metabólicos mesmo sob condições desfavoráveis. Tal comportamento pode ser evidenciado nas alterações ocorridas no potencial hídrico, no conteúdo relativo de água, nas trocas gasosas, na condutividade hidráulica e no conteúdo dos solutos durante e após o período de estresse (reidratação).

Os efeitos obtidos nesse estudo podem ser utilizados como um dos critérios na seleção desta espécie vegetal (*Parkia gigantocarpa*) por ser tolerante a períodos curtos de seca. E se tratando de espécie perene, esse fato é de grande importância, pois conferem a espécies mecanismos adaptativos de tolerância a deficiência hídrica, os quais geralmente ocorrem em campo, tornando alta a taxa de sobrevivência desta espécie, além de favorecer o crescimento e formação de biomassa mesmo em épocas secas. No entanto, sugere-se que novas pesquisas possam ser desenvolvidas com um maior nível de estresse para que o comportamento fisiológico e bioquímico dessa espécie possa expressar um nível mais crítico, principalmente, com relação à redutase no nitrato.

APÊNDICE

TABELA A

Os valores apresentados são as médias e erro padrão das variáveis fisiológicas: condutância estomática (gs), transpiração (E), potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}) e do xilema foliar (Ψ_x), conteúdo relativo de água (CRA), e condutividade hidráulica (K_L). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam valores entre os tempos, enquanto que as maiúsculas comparam os valores entre os tratamentos.

Tratamento	Variáveis	Tempo (dias)					
		0	4	8	12	16	20 (reidratadas)
Controle	Ψ_x (MPa)	-0,84±0,04aA	-0,8±0,1aA	-0,81±0,02aA	-0,86±0,4aA	-0,84±0,1aA	-0,81±0,1aA
Déficit		-0,87±0,06aA	-1,27±0,2aB	-1,7±0,1bB	-1,83±0,1cB	-2,01±0,1cB	-0,84±0,1aA
Controle	Ψ_{am} (MPa)	-0,25±0,03aA	-0,27±0,01aA	-0,27±0,007aA	-0,27±0,01aA	-0,27±0,01aA	-0,28±0,01aA
Déficit		-0,26±0,003aA	-0,28±0,01aA	-0,3±0,02aA	-0,32±0,04bB	-0,37±0,06cB	-0,23±0,01aA
Controle	CRA (%)	88,6±2,7aA	89,7±2,1aA	87,9±5,8aA	87,4±4,7aA	87,1±5,1aA	87±6,3aA
Déficit		87,9±1,2aA	87±4,0aA	80,9±aB	75,4±bB	70,5±cB	86,7±aA
Controle	gs (mmol m ⁻² s ⁻¹)	0,28±0,1aA	0,33±0,07aA	0,39±0,04bA	0,36±0,05bA	0,33±0,03aA	0,33±0,06aA
Déficit		0,33±0,06aA	0,33±0,1aA	0,21±0,06bB	0,09±0,03cB	0,05±0,03cB	0,28±0,07aA
Controle	E (mmol m ⁻² s ⁻¹)	7,5±1,5aA	7,8±1,5aA	7,6±0,5aA	7,7±0,26aA	7,8±0,5aA	7,8±1,6aA
Déficit		8,02±0,6aA	7,4±2,3aA	5,6±0,6bB	2,6±0,9cB	1,8±0,6cB	7,2±1aA
Controle	K_L (mmmol m ⁻² g ⁻¹ MPa ⁻¹)	0,23±0,07aA	0,17±0,06aA	0,3±0,1aA	0,38±0,1bA	0,29±0,08aA	0,28±0,09aA
Déficit		0,26±0,07aA	0,11±0,08aA	0,05±0,02bB	0,02±0,01bB	0,01±0,008bB	0,2±0,05aA

TABELA B

Os valores apresentados são as médias e o erro padrão das variáveis morfométricas: nº de folhas (NF), nº de folíolos (Nfol), diâmetro do caule (DC) e altura (H). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam valores entre os tempos, enquanto que as maiúsculas comparam os valores entre os tratamentos.

Tratamento	Variáveis	Tempo (dias)				
		0	4	8	12	20 (reidratadas)
Controle	Nº de folha (unidade)	19,6±1,6aA	20±1,4aA	20,4±1,6aA	21,2±2,3aA	22,4±2,9aA
		19,6±1,6aA	19,4±1,9aA	19±1,5aA	18,8±0,83aA	18,2±1aB
Controle	Nº folíolo (unidade)	414,8±28,2aA	414,4±18,6aA	429,6±57,7aA	442±60,2aA	455,2±47,8aA
		417,6±44,2aA	399,6±45,5aA	396±48,4aA	379,6±32aA	349,6±32,1aB
Controle	Diâmetro (mm)	8,7±0,9aA	8,74±0,23aA	8,8±0,22aA	8,98±0,2aA	9,1±0,16aA
		8,1±0,25aA	8,1±0,27aA	8,02±0,13aA	7,98±0,53aA	7,9±0,19aB
Controle	Altura (cm)	32,9±1,8aA	33±0,8aA	34±0,22bA	34,7±0,73bB	34,3±0,8bB
		32,6±1,3aA	32,98±1,2aA	32,92±0,74aA	32,96±0,83aA	33±1,3aA
Déficit						33,7±0,8aA

TABELA C

Os valores apresentados são as médias e o erro padrão das variáveis morfométricas (massa seca da planta): massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e razão entre raiz e parte aérea (RRPA). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Letras minúsculas comparam valores entre os tempos, enquanto que as maiúsculas comparam os valores entre os tratamentos.

Tratamento	Variáveis	Tempo (dias)					
		0	4	8	12	16	20 (reidratadas)
Controle	MSPA (g)	6,87±0,33aA	7,1±0,28bA	7,32±0,34bA	7,62±0,45bB	7,79±0,6cB	8,7±0,3cB
Déficit		6,87±0,33aA	6,93±0,41aA	6,97±0,31aA	7,05±0,12aA	7,04±0,27aA	7,08±0,5aA
Controle	MSR (g)	1,24±0,03aA	1,32±0,12aA	1,39±0,07bA	1,51±0,05bA	1,61±0,02cA	1,67±0,01cA
Déficit		1,28±0,25aA	1,37±0,24bA	1,48±0,13cB	1,59±0,06cB	1,69±0,09Db	1,76±0,03dB
Controle	RRPA (g)	0,18±0,01aA	0,18±0,04aA	0,19±0,02aA	0,19±0,03aA	0,2±0,03bA	0,19±0,02bA
Déficit		0,18±0,01aA	0,19±0,03bA	0,21±0,03bA	0,22±0,02Cb	0,24±0,04dB	0,25±0,03dB
Controle	MST (g)	8,12±0,38aA	8,4±0,24aA	8,72±0,39bB	9,13±0,48bB	9,4±0,6cB	10,4±0,38dB
Déficit		8,15±0,5aA	8,3±0,5aA	8,45±0,31aA	8,64±0,07aA	8,7±0,3aA	8,85±0,5aA

TABELA D

Valor dos Quadrados Médios e níveis de significância das variáveis Morfométricas e Ambientais: número de folha (NF), número de folíolo (NFOL), diâmetro do caule (DC), altura (H), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), razão raiz parte aérea (RRPA), massa seca total, umidade relativa do ar (UR), radiação fotosinteticamente ativa (RFA), temperatura da folha (T_{fol}), temperatura do ar (T_{ar}) e déficit de pressão e vapor entre a folha e ar (DPV_{fa}).

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado médio												
		NF	NFOL	DC	H	MSPA	MSR	RRPA	MST	UR	RFA	Tfol	Tar	DPV
Regime Hídrico (RH)	1	114,81**	63635,26**	17,82**	13,73**	5,05**	0,07*	0,01**	3,9**	1,06 ^{ns}	0,81 ^{ns}	2,4 ^{ns}	2,64*	0,001 ^{ns}
Tempo (T)	5	5,71 ^{ns}	570,78 ^{ns}	0,13 ^{ns}	3,44*	1,37**	0,31**	0,002**	2,9**	304,9**	114622,43 ^{ns}	18,82**	18,74**	0,06**
Interação (RH x T)	5	21,9**	11173,34**	1,06**	1,06 ^{ns}	0,89**	0,001 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,85**	4,39 ^{ns}	52673,73 ^{ns}	0,98 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,0006 ^{ns}
Resíduo	48	3,31	2009,1	0,14	1,04	0,15	0,01	0,0004	0,18	30,56	54203,53	0,62	0,63	0,005
Média Geral		20,15	412,23	8,41	33,53	7,28	1,5	0,2	8,78	66,3	366,75	32,48	32,39	0,41
CV (%)		9,03	10,87	4,51	3,04	5,37	8,29	9,6	0,42	8,34	63,48	2,43	2,46	18,02

ns, * e ** - não significativo, significativo ao nível de 5 e 1%, respectivamente

TABELA E

Valor dos Quadrados Médios e níveis de significância das variáveis Fisiológicas: Condutividade hidráulica (K_L), conteúdo relativo de água (CRA), transpiração (E), condutância estomática (gs), potencial hídrico na antemanhã (Ψ_{am}) e potencial hídrico do xilema (Ψ_x).

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado médio					
		K_L	CRA	E	gs	Ψ_{am}	Ψ_x
Regime Hídrico (RH)	1	0,40**	140,94**	77,92**	0,22**	0,007**	5,21**
Tempo (T)	5	0,2*	56,09**	16,87**	0,03**	0,007**	0,64**
Interação (RH x T)	5	8,04**	18,98*	17,72**	0,05**	0,006**	0,61**
Resíduo	48	0,007	16,94	1,39	0,005	0,0007	0,03
Média Geral		0,19	86,8	6,6	0,28	2,71	1,87
CV (%)		42,89	4,74	17,86	24,61	0,1	9,71

ns, * e ** - não significativo, significativo ao nível de 5 e 1%, respectivamente

TABELA F

Valor dos Quadrados Médios e níveis de significância das variáveis Bioquímicas das folhas: Aminoácidos livres totais (AALT), proteínas solúveis totais (PST), carboidratos solúveis totais (CST), sacarose, amido, glutamina sintetase (GS), nitrato (NH_3^-), amônio (NH_4^+), glicina-betaína (GB), prolina e redutase do nitrato (RN)

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado médio										
		AALT	PST	CST	SACAR	AMIDO	GS	NH_3^-	NH_4^+	GB	PROLINA	RN
Regime Hídrico (RH)	1	3020,34**	11,29**	36,21**	341,05**	0,084**	1290,38**	0,41**	608,144**	516,15**	126,55**	0,027**
Tempo (T)	5	285,31**	1,89**	3,85**	27,49**	0,005**	134,28**	0,03**	67,24**	70,58**	13,75**	0,001 ^{ns}
Interação (RH x T)	5	268,77**	2,18**	4,07**	35,02**	0,007**	145,44**	0,04**	61,45**	68,2**	13,58**	0,001 ^{ns}
Resíduo	48	1,94	0,02	0,26	1,03	0,0001	1,13	0,24	0,66	0,25	0,03	0,0005
Média Geral		43,15	2,18	2,1	30,68	0,19	20,8	0,4	9,16	7,61	2,78	0,8
CV (%)		3,22	7,03	24,62	3,31	6,38	5,11	18,26	8,9	6,63	6,73	2,9

ns, * e ** - não significativo, significativo ao nível de 5 e 1%, respectivamente

TABELA G

Valor dos Quadrados Médios e níveis de significância das variáveis Bioquímicas das raízes: Aminoácidos livres totais (AALT), proteínas solúveis totais (PST), carboidratos solúveis totais (CST), sacarose, amido, glutamina sintetase (GS), nitrito (NH_3^-), amônio (NH_4^+), glicina-betaina (GB), prolina e redutase do nitrito (RN).

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado médio										
		AALT	PST	CST	SACAR	AMIDO	GS	NH_3^-	NH_4^+	GB	PROLINA	RN
Regime Hídrico (RH)	1	1620,32**	11,3**	16,98**	305,64**	0,028**	1559,61**	1,07**	1268,22**	540,72**	129,03**	0,039**
Tempo (T)	5	155,61**	1,1**	1,41**	29,08**	0,004**	130,63**	0,13**	138,85**	63,95**	21,21**	0,004*
Interação (RH x T)	5	140,84**	1,03**	1,9**	30,87**	0,002**	137,01**	0,10**	145,61**	63,37**	22,18**	0,005**
Resíduo	48	0,99	0,01	0,01	0,81	0,00008	0,88	0,005	1,03	0,71	0,03	0,001
Média Geral		57,2	1,8	1,47	13,52	0,07	19,57	0,53	20,8	9,53	2,63	0,84
CV (%)		1,73	6,53	7,56	6,66	13,03	4,8	14,47	4,9	8,85	7,48	4,07

ns, * e ** - não significativo, significativo ao nível de 5 e 1%, respectivamente

ANEXO I

TABELA A: Propriedades químicas e físicas do solo na profundidade de 0-20 cm

ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO									
pH	N	MO	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al
H ₂ O 5,1	% 0,29	g/kg 96,16		Mg/dm ³ 120	263	252		cmol _c /dm ³ 4,0	0,2 5,61

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

Fonte: Embrapa Amazônia Oriental. Belém, 2013.

ANEXO II

Normas Journal Environmental and Experimental Botany

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Aims and Scope of the Journal Environmental and Experimental Botany

Environmental and Experimental Botany (EEB) publishes research papers on the physical, chemical, biological, molecular mechanisms and processes involved in the responses of plants to their environment.

In addition to research papers, the journal includes review articles. Submission is in agreement with the Editors-in-Chief.

The Journal also publishes special issues which are built by invited guest editors and are related to the main themes of EEB.

The areas covered by the Journal include:

- (1) Responses of plants to heavy metals and pollutants
- (2) Plant/water interactions (salinity, drought, flooding)
- (3) Responses of plants to radiations ranging from UV-B to infrared
- (4) Plant/atmosphere relations (ozone, CO₂, temperature)
- (5) Ecophysiology of Northern plants under global change and environmental stress

Each submitted manuscript related to these areas should be based on an explicitly elaborated mechanistic hypothesis.

The following types of manuscripts are not suitable for EEB: purely descriptive studies, use of unicellular or micro-organisms as models, agricultural investigations, phytopathological studies, ecological reports, studies of plant biology without considering environmental factors.

Types of issues

Alongside the standard issues, the journal publishes two other types of issues: Special issues and Virtual special issues. Special issues focus on a specific research topic and are organised by a guest editor. Virtual special issues bring together content already published on Science Direct. Articles appearing in virtual special issues have been selected by the Journal editor, highlighting topics that are of particular interest to the readers. The virtual issues are hosted on Elsevier.com, linking directly to the original articles on Science Direct.

Types of paper

- 1. Original full papers (Regular Papers)
- 2. Review articles on Environmental Issues in Plant Science.

Original papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Reviews should be related to an area covered by the journal. These are written on invitation or after initial contact with the Editor-in-Chief.

PREPARATION

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

Article structure

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names.

Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Authors and Editor(s) are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.

All biota (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Math Formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible. In principle, variables are to be presented in italics.

Number consecutively any equations that have to be displayed separate from the text (if referred to explicitly in the text).

Subscripts and superscripts should be clear.

Greek letters and other non-Roman or handwritten symbols should be explained in the margin where they are first used. Take special care to show clearly the difference between zero (0) and the letter O, and between one (1) and the letter l.

Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Also powers of e are often more conveniently denoted by exp. Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are: *P <0.05, **P <0.01 and ***P <0.001. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g., Ca²⁺, not as Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.

- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include

a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference

Note: Authors are strongly encouraged to check the accuracy of each reference against its original source.

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates -- publications of the same author with one co-author -- publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1994a, 1994b, etc.
5. Use the following system for arranging your references, please note the proper position of the punctuation:
 - a. For periodicalsChettri, M.K., Sawidis, T., Zachariadis, G.A., Stratis, J.A., 1997. Uptake of heavy metals by living and dead Cladonia thalli. *Environ. Exp. Bot.* 37, 39-42.
 - b. For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical Rice, K., 1992. Theory and conceptual issues. In: Gall, G.A.E., Staton, M. (Eds.), *Integrating Conservation Biology and Agricultural Production. Agriculture, Ecosystems and Environment* 42, 9-26.
 - c. For booksGaugh, Jr., H.G., 1992. *Statistical Analysis of Regional Field Trials*. Elsevier, Amsterdam.
 - d. For multi-author booksDeLacy, I.H., Cooper, M., Lawrence, P.K., 1990. Pattern analysis over years of regional variety trials: relationship among sites. In: Kang, M.S. (Ed.), *Genotype by Environment Interaction and Plant Breeding*. Louisiana State University, Baton Rouge, LA, pp. 189-213.
6. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references according to the Bibliographic Guide for Editors and Authors (The Chemical Abstracts Service, The Ohio State University, Columbus, OH 43210, USA).
7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Roman alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".
9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith , R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references according to the Bibliographic Guide for Editors and Authors (The Chemical Abstracts Service, The Ohio State University, Columbus, OH 43210, USA).

ANEXO III

Normas do Journal Forest Ecology and Management

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Forest Ecology and Management publishes scientific articles that link forest ecology with forest management, and that apply biological, ecological and social knowledge to the management and conservation of man-made and natural forests. The scope of the journal includes all forest ecosystems of the world.

A refereeing process ensures the quality and international interest of the manuscripts accepted for publication. The journal aims to encourage communication between scientists in disparate fields who share a common interest in ecology and forest management, and to bridge the gap between research workers and forest managers in the field to the benefit of both.

Authors should demonstrate a clear link with forest ecology and management. For example, papers dealing with remote sensing are acceptable if this link is demonstrated, but not acceptable if the main thrust is technological and methodological. Similarly, papers dealing with molecular biology and genetics may be more appropriate in specialized journals, depending on their emphasis. The journal does not accept articles dealing with agroforestry. The journal does not recognize 'short communications' as a separate category.

The editors encourage submission of papers that will have the strongest interest and value to the Journal's international readership. Some key features of papers with strong interest include:

1. Clear connections between the ecology and management of forests;
2. Novel ideas or approaches to important challenges in forest ecology and management;
3. Studies that address a population of interest beyond the scale of single research sites (see the editorial, Three key points in the design of forest experiments, *Forest Ecology and Management* 255 (2008) 2022-2023);
4. Review Articles on timely, important topics. Authors are encouraged to contact one of the editors to discuss the potential suitability of a review manuscript.

We now receive many more submissions than we can publish. Many papers are rejected because they do not fit within the aims and scope detailed above. Some examples include:

1. Papers in which the primary focus is, for example, entomology or pathology or soil science or remote sensing, but where the links to, and implications for, forest management are not clear and have not been strongly developed;
2. Model-based investigations that do not include a substantial field-based validation component;
3. Local or regional studies of diversity aimed at the development of conservation policies;
4. The effects of forestry practices that do not include a strong ecological component (for example, the effects of weed control or fertilizer application on yield);
5. Social or economic or policy studies (please consider our sister journal, 'Forest Policy and Economics').

Types of paper

1. Regular papers. Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.
2. Review articles. Review articles are welcome but should be topical and not just an overview of the literature. Before submission please contact one of the Chief Editors.
3. Papers for Special Issues. Forest Ecology and Management publishes Special Issues from time to time. If your paper has been invited by a Guest Editor as a contribution to a Special Issue, please mark it as such on the title page.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or

spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop <http://webshop.elsevier.com/languageediting/> or visit our customer support site <http://support.elsevier.com> for more information.

Full Online Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

PREPARATION

Use of wordprocessing software It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format, and 1.5 line-spacing and line-numbering should be used throughout. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text". Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required (not longer than 400 words). The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.)

Units

SI (Système International d'unités) should be used for all units except where common usage dictates otherwise. Examples of non-SI that may be more appropriate (depending on context) in many ecological and forestry measurements are ha rather than m², year rather than second. Use Mg ha⁻¹, not tonnes ha⁻¹, and use µg g⁻¹, not ppm (or for volume, µL L⁻¹ or equivalent). Tree diameter will generally be in cm (an approved SI unit) rather than m. Units should be in the following style: kg ha⁻¹ year⁻¹, kg m⁻³. Non-SI units should be spelled in full (e.g. year). Do not insert 'non-units' within compound units: for example, write 300 kg ha⁻¹ of nitrogen (or N), not 300 kg N ha⁻¹.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure Captions

Number figures consecutively in accordance with their appearance in the text. Ensure that each figure has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the figure. Keep text in the figures themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/ensyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to

select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to

Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>;

List of title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>;

CAS (Chemical Abstracts Service): <http://www.cas.org/content/references/corejournals>.