

## Atividade de redutase do nitrato e ajustamento osmótico em plantas jovens de ucuúba

A *Virola surinamensis*, conhecida como virola ou ucuúba, é uma espécie considerada tipicamente amazônica, cujo "habitat" são a várzea e os igapós, e que é conhecida por apresentar grande potencial econômico, vem sendo intensamente explorada nos últimos anos, culminando com a extinção de algumas populações, resultante do extrativismo seletivo. O objetivo desse estudo foi determinar a atividade da redutase do nitrato e os teores de algumas macromoléculas de plantas jovens de *Virola surinamensis* submetidas à aplicação de dois tratamentos hídricos (estresse/controlado) e a reidratação. O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Pará (UFPA - Campus Altamira, PA) no período de agosto a novembro de 2020. As plantas foram submetidas a dois tratamentos de regimes hídricos: irrigado (controle) e déficit hídrico, no qual a imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação por ciclos de 07 dias, durante 4 períodos, sendo o último de reidratação, assim distribuídos: Tempo 0 (zero dias de déficit hídrico), Tempo 1 (07 dias de déficit hídrico), Tempo 2 (14 dias de déficit hídrico) e Tempo 3 (Reidratação durante 07 dias), totalizando 21 dias de tratamentos. Durante o período do experimento as plantas no tratamento controle foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (controle e déficit hídrico) totalizando 24 unidades experimentais. A suspensão da irrigação por 14 dias alterou o metabolismo das plantas jovens de ucuúba afetando diretamente na atividade da enzima redutase do nitrato e promovendo um ajustamento osmótico nas plantas com a deficiência hídrica, causado pela diminuição do conteúdo relativo de água e dos aumentos nas concentrações de proteínas, aminoácidos solúveis totais, carboidratos solúveis totais e prolina, que foram revertidos após a reidratação, todavia não ocorrendo o mesmo com os teores dos pigmentos fotossintéticos estudados.

**Palavras-chave:** Ajustamento osmótico; Redutase do nitrato; *Virola surinamensis*.

## Nitrate reductase activity and osmotic adjustment in young ucuúba plants

*Virola surinamensis*, known as virola or ucuúba, is a species considered to be typically Amazonian, whose "habitat" are the floodplains and igapós, and which is known for having great economic potential, has been intensively exploited in recent years, culminating in extinction of some populations, resulting from selective extractivism. The aim of this study was to determine the nitrate reductase activity and the contents of some macromolecules of young plants of *Virola surinamensis* submitted to the application of two water treatments (stress/control) and rehydration. The experiment was conducted in the greenhouse of the Biotechnology Laboratory (BIOTEC) of the Federal University of Pará (UFPA - Campus Altamira, PA) from August to November 2020. The plants were subjected to two treatments of water regimes: irrigated (control) and water deficit, in which the imposition of water deficit was obtained by suspending irrigation for cycles of 07 days, during 4 periods, the last being rehydration, distributed as follows: Time 0 (zero days of water deficit), Time 1 (07 days of water deficit), Time 2 (14 days of water deficit) and Time 3 (Rehydration for 07 days), totaling 21 days of treatments. During the period of the experiment, the plants in the control treatment were irrigated daily to replace the water lost by evapotranspiration. The experimental design used was completely randomized in a factorial scheme (control and water deficit) totaling 24 experimental units. Suspension of irrigation for 14 days altered the metabolism of young ucuúba plants, directly affecting the activity of the nitrate reductase enzyme and promoting an osmotic adjustment in the water-deficient plants, caused by the decrease in the relative water content and increases in the concentrations of proteins, total soluble amino acids, total soluble carbohydrates and proline, which were reversed after rehydration, however, the same did not occur with the levels of the studied photosynthetic pigments.

**Keywords:** Osmotic adjustment; Nitrate reductase; *Virola surinamensis*.

Topic: **Proteção de Plantas e Fitotecnia**

Received: **04/08/2021**

Approved: **22/08/2021**

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Israeli Ingrid Costa de Brito 

Universidade Federal do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/4354084482734222>  
<http://orcid.org/0000-0002-8005-6543>  
[israeli.brito@altamira.ufpa.br](mailto:israeli.brito@altamira.ufpa.br)

Hairon Antonio Friedrich Rodrigues 

Universidade Federal do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/8355640491695366>  
<http://orcid.org/0000-0002-6201-7778>  
[haironfriedrich@gmail.com](mailto:haironfriedrich@gmail.com)

Cassiele Fonseca da Cruz 

Universidade Federal do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/7871899735899428>  
<http://orcid.org/0000-0003-2702-8786>  
[cassielef19@gmail.com](mailto:cassielef19@gmail.com)

Dhyene Rayne dos Santos Becker 

Universidade Federal do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/4263659575444105>  
<http://orcid.org/0000-0001-9997-2958>  
[drayneagro@gmail.com](mailto:drayneagro@gmail.com)

Kleslie de Carvalho Moraes 

Universidade Federal do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/9996554531012144>  
<http://orcid.org/0000-0002-6757-5357>  
[kleslie.moraes.ufpa@gmail.com](mailto:kleslie.moraes.ufpa@gmail.com)

Mauro Junior Borges Pacheco 

Universidade Federal Rural da Amazônia, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/0756046215703468>  
<http://orcid.org/0000-0001-6024-7054>  
[mauro.ir720@gmail.com](mailto:mauro.ir720@gmail.com)

Rairys Cravo Herrera 

Universidade Federal do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/2153779197306503>  
<http://orcid.org/0000-0002-9699-8359>  
[rairys@ufpa.br](mailto:rairys@ufpa.br)

Roberto Cezar Lobo da Costa 

Universidade Federal Rural da Amazônia, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/8796391465358994>  
<http://orcid.org/0000-0002-2945-2073>  
[roberto.lobo.ufpa@gmail.com](mailto:roberto.lobo.ufpa@gmail.com)



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2021.008.0010

### Referencing this:

BRITO, I. I. C.; RODRIGUES, H. A. F.; CRUZ, C. F.; BECKER, D. R. S.; MORAES, K. C.; PACHECO, M. J. B.; HERRERA, R. C.; COSTA, R. C. L. Atividade de redutase do nitrato e ajustamento osmótico em plantas jovens de ucuúba. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, v.12, n.8, p.100-108, 2021. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.008.0010>

## INTRODUÇÃO

A *Virola surinamensis* (Rol. exRottb.) Warb., conhecida popularmente como ucuúba, virola ou ainda “árvore da manteiga” é uma árvore de origem brasileira, nativa de toda a região amazônica considerada de grande valor econômico, tanto para as indústrias madeiras, farmacêuticas, cosméticas e alimentícias, como também para as populações ribeirinhas e indígenas. Apesar de ter uma abundante distribuição em toda região amazônica, a exploração exagerada resultou em reduções populacionais de 90%, sendo assim considerada uma espécie vulnerável em relação ao seu risco de extinção. Como consequência, apesar de ser considerada uma espécie florestal capaz de resistir à pressão de exploração pela atividade madeira (MARTINI et al., 1998), foi incluída entre as espécies prioritárias para programas de conservação de recursos genéticos de grande valor econômico (IBAMA, 1992) e no Sistema de Controle de Madeira Serrada Contingenciada (BRASIL, 1999). Atualmente, é uma das espécies madeiras mais exportadas pela indústria madeira do estuário amazônico (LEITE, 2006).

É uma árvore de grande porte podendo atingir até 60 metros de altura, seus frutos são em formato de cápsulas esféricas contendo uma semente escura e muito oleaginosa que aparecem de dezembro à janeiro. Muito procurada por sua madeira leve e clara de excelente qualidade para produção de laminados e compensados razão pela exploração desencadeada da espécie, ameaçando intensamente o recurso florestal remanescente. No Brasil, concentra-se na Bacia Amazônica, atingindo todo o Estado do Amazonas, Pará, parte do Maranhão, Ceará e Goiás, onde predomina em locais alagados, nas margens dos rios, igarapés, furos e paranás, e em áreas que possam ser atingidas pelas cheias.

Segundo Carvalho et al. (1997), existem regiões na Amazônia, como o Sudeste do Pará, em que ocorrem períodos de déficit hídrico severos, com períodos de mais de 4 meses apresentando pluviosidade inferior a 40 mm. O clima da Amazônia é úmido, e quente quase o ano inteiro, com temperatura média de 25º C, pouco flutuante ao longo das estações (NEIMAN, 2012). De acordo com Jipp et al. (1998), florestas situadas no nordeste, sul e sudeste do estado do Pará, suportam em média 5 meses de precipitação abaixo de 50 mm, fazendo frente as perdas médias de 120 mm de evapotranspiração, devido ao fato de possuírem sistemas radiculares profundos, que asseguram a absorção de água das camadas inferiores do solo.

Devido o aumento da conscientização ambiental, e do interesse em pesquisas com espécies arbóreas nativas, tem-se dado mais importância à recuperação de áreas degradadas/ou reflorestamento (CARNEIRO, 1995; JOSÉ, 2003; PAIVA, 2003). Porém, o custo dessas pesquisas torna-se elevado diante da necessidade de replantio decorrente dos altos índices de mortalidade das mudas. Na maioria dos casos, esse problema ocorre devido à falta de conhecimento dos aspectos ecofisiológicos das espécies e dos regimes hídricos, sujeitando-as a áreas propensas a estresses ambientais aos quais não estão adaptadas (CARVALHO FILHO et al., 2003).

A deficiência hídrica no solo limita intensamente o crescimento e o desenvolvimento das espécies vegetais em várias regiões do mundo e, particularmente, nas regiões nordeste e norte do Brasil, onde a distribuição dos recursos hídricos é irregular, essa limitação pode tornar necessário o uso da irrigação

regularmente, uma prática dispendiosa e inacessível aos reflorestadores. Uma estratégia utilizada é o desenvolvimento de variedades vegetais tolerantes a seca através do melhoramento genético. Entretanto, qualquer que seja a opção, torna-se necessário conhecer os mecanismos fisiológicos e bioquímicos de resposta da espécie a esse tipo de estresse. O crescimento celular se mostra como a resposta mais sensível a falta de água no solo. Uma pequena redução no potencial hídrico do solo provoca diminuição no crescimento das células (SALISBURY et al., 2012).

De acordo com Nogueira et al. (2005) a deficiência hídrica afeta todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo influenciar no alongamento e na diferenciação celular em função da redução na turgescência da célula, o que resulta na diminuição da área foliar, afetando a produção e a translocação de fotoassimilados para as novas áreas de crescimento (LUDLOW et al., 1990; LARCHER, 2006). O estresse hídrico tem como resposta final, a redução na produção e alocação de matéria seca por influenciar as trocas gasosas nas folhas (NOGUEIRA et al., 1998).

A tolerância ao déficit hídrico é uma característica muito importante em qualquer cultivo, principalmente de plantas nativas onde o processo de seleção natural ainda se encontra em andamento. A falta de água no solo constitui uma das mais importantes limitações à produtividade e a distribuição dos vegetais, apresentando influência negativa em mais de 10% das áreas agrícolas do globo terrestre (BARTELS et al., 2005). Além da diminuição da expansão celular (TAIZ et al., 2013), vários processos fisiológicos e/ou bioquímicos, entre eles a síntese de aminoácidos, são amplamente alterados (SILVEIRA et al., 2002; SODEK, 2004; MARIN et al., 2006). O objetivo desse trabalho foi investigar as respostas fisiológicas e/ou bioquímicas de tolerância ao estresse por deficiência hídrica, ajustamento osmótico e a reidratação em plantas de Ucuúba (*Virola surinamensis*).

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Pará (UFPA - Campus Altamira, PA) no período de agosto de 2020 à novembro de 2020. As plântulas da *Virola surinamensis* foram provenientes da própria UFPA com aproximadamente 10 meses de idade, transplantadas de sacos de polietileno 1 L para vasos plásticos de 6 L contendo terra preta e, posteriormente, levadas à casa de vegetação e submetidas a dois tratamentos de regimes hídricos: irrigado (controle) e déficit hídrico, no qual a imposição do déficit hídrico foi obtida pela suspensão da irrigação por ciclos de 07 dias, durante 4 períodos, sendo o último de reidratação, assim distribuídos: Tempo 0 (zero dias de déficit hídrico), Tempo 1 (07 dias de déficit hídrico), Tempo 2 (14 dias de déficit hídrico) e Tempo 3 (reidratação durante 07 dias, totalizando 21 dias de tratamentos). Durante todo os 4 ciclos, as plantas controles foram irrigadas diariamente para repor a água perdida pela evapotranspiração.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (duas condições hídricas: controle e déficit hídrico, e quatro tempos de avaliação), com 3 repetições, totalizando 24 unidades experimentais.

Os discos foliares de 1 cm de diâmetro foram retirados de cada planta às 6:00h, e foi determinada a massa imediata dos mesmos, em balança analítica. Os discos foram transferidos para placa de Petri, contendo água destilada e colocados sobre a mesa do laboratório (25 °C) por um período de 12 horas em constante iluminação. Após esse período, os discos foliares foram retirados da placa de petri, colocados em folhas de papel para eliminar o excesso de água e rapidamente pesados. Depois da pesagem, os discos foram colocados em placa de Petri e levados para estufa de ventilação forçada de ar à 75 °C por um período de 48 horas para determinar a massa seca do tecido. Os cálculos utilizados para determinar o CRA foi a metodologia descrita por Irigoyen et. al. (1992).

As amostras de folhas foram pesadas e colocadas em tubos de ensaio contendo 5 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH=7,5; contendo isopropanol 1% (v/v), KNO<sub>3</sub> mM). Em seguida, os tubos foram esvaziados com o auxílio de uma bomba de vácuo, durante 2 minutos. Por seguinte, os tubos foram colocados em “banho-maria” a 30 °C, por 3 minutos, na ausência de luz. Em tubos de ensaio, foram adicionadas alíquotas de 2,0 mL de tampão fosfato + 1,0 mL do extrato diluído + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de N-1-naftil-etileno-diamina-dicloridrato (NNEDA) 0,02%, totalizando um volume final de 5 mL. Em seguida, os tubos ficaram em repouso por 15 minutos. A leitura foi realizada no espectrofotômetro a 540 nm contra o branco (3,0mL de tampão fosfato + 1,0 mL de sulfanilamida 1% + 1,0 mL de NNEDA, 0,02 %). O resultado da atividade da redutase do nitrato foi estimado através da produção de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no meio de reação, sendo expressa em mmoles de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. g. MF<sup>-1</sup>. h<sup>-1</sup>, a partir de uma curva-padrão obtida com KNO<sub>2</sub> PA. O método utilizado foi o método *in vivo* preconizado por Hageman et al. (1971).

De acordo com o método para determinação de proteína, descrito por Bradford (1976), utilizamos tubos de ensaio de 15 mL adicionando 100 mg Massa Seca/ 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25 mM pH 7,6). Em seguida agitar durante 2 horas no shacker com os tubos devidamente lacrados. Após a extração, centrifugar os tubos em centrífuga de bancada (2000 rpm por 10 min) e coletar o sobrenadante para dosagem das proteínas solúveis. Em tubos de ensaio adicionar 100 µL da amostra ou ponto de diluição (no caso da curva padrão) +2,5 mL do reagente de Bradford. Em seguida agitar os tubos manualmente e delicadamente (para não desnaturar as proteínas). Após 15 min realizar as leituras a 595nm, contra o branco que encerra 100 µL de água + 2,5 mL do reagente de Bradford. Os resultados foram expressos em mg proteína/ g MS.

Utilizando o método para determinação de aminoácidos, de Peoples et al. (1989), foi transferido 50 mg matéria seca de folhas para tubos de ensaio de 15 mL, adicionar 5 mL de água destilada e levar ao banho-maria por 30 min a 100°C. Após a extração as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (1000 rpm) para coletar os sobrenadantes para obtenção do extrato total. Em tubos de ensaio adicionou-se alíquotas de 100 µL do extrato+ 400 µL de água destilada; Em seguida, acrescentou-se 250 µL do tampão citrato 0,2 M pH 5,0 e 250 µL do reagente de ninhidrina. Após misturar bem em vórtex, os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em banho-maria por 15 min à temperatura de 100 °C; Em seguida, a reação foi interrompida em banho de gelo e acrescentou-se 1,5 mL de etanol 50% (V/V). Após, os tubos permaneceram por 20 min em temperatura ambiente e em seguida realizou-se leituras em espectrofotômetro a 570 nm. Os resultados foram expressos mol de AA/ g MS.

Utilizando o método para determinação de prolina, descrito por Bates et al. (1973), foi transferido 50 mg de massa seca (MS) para tubos de ensaio de 15 mL, adicionado 5 mL de água destilada e levado 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. Em tubos de ensaio foram colocados 1,0 mL do sobrenadante + 1,0 mL de ninhidrina ácida+1,0 mL de ácido acético glacial (os tubos foram fechados hermeticamente); agitou-se os tubos hermeticamente fechados em vórtex. Colocou-se em banho-maria a 100o C por 1 hora. Após 1 hora, interrompeu-se a reação em banho de gelo. Adicionou-se 2,0 mL de tolueno e agitar vigorosamente em vórtex por 20 segundos. Esperou-se atingir a temperatura ambiente. Aspirou-se com o auxílio de uma pipeta Pasteur de plástico a fase não-aquosa (cromóforo + tolueno = parte superior). A leitura foi feita em espectrofotômetro a 520 nm usando tolueno como branco. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol PRO}/1,0 \text{ mL}$  alíquota.

Utilizando o método para determinação de carboidrato, descrito por Dubois et al. (1956), os carboidratos solúveis totais foram extraídos a quente (30 min a 100 °C), amostras de 50 mg de matéria seca homogeneizadas em 5 mL de água destilada. As amostras foram centrifugadas a (1000) rpm, por 10 min, e o sobrenadante foi coletado para a obtenção do extrato total. Deste, foram tomadas alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  por amostra e adicionadas 400  $\mu\text{L}$  de água destilada e 500  $\mu\text{L}$  de fenol 5% e agitar em vórtex. Após agitação, foi adicionado 2,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Os tubos foram agitados e após 20 min de repouso à temperatura ambiente foi realizada a leitura da amostra a 490 nm (DUBOIS et al., 1956). Para os cálculos foi utilizada a curva-padrão de glicose e os resultados expressos em  $\mu\text{g glicose g}^{-1} \text{ MS}$ .

A extração da clorofila foi determinada pelo método descrito por alguns autores, com base no clássico de Arnon (1949). As folhas secas foram maceradas em almofariz com acetona 80% (v/v) durante 5 minutos. Após centrifugação, os teores de clorofilas foram medidos através de leituras do sobrenadante em espectrofotômetro a 645, 652 e 663 nm. As concentrações de *clorofila a*, *clorofila b*, *a+b* e *carotenoides* foram determinadas segundo alguns estudos.

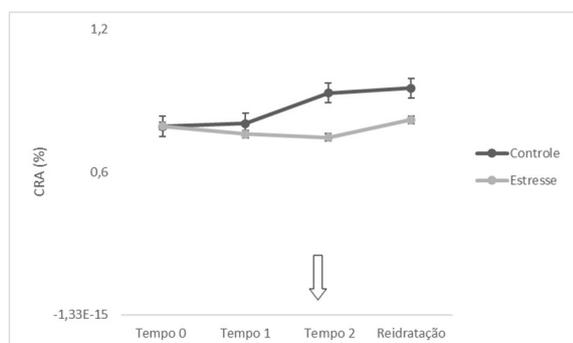
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ciclo de estresse aplicado reduziu significativamente o conteúdo relativo de água nas plantas de ucuúba durante 14 dias de estresse, quando comparadas às plantas mantidas sob irrigação contínua, porém o período de reidratação utilizado não foi suficiente para reverter totalmente o efeito desse estresse, embora apresente um pouco de recuperação. A falta de um suprimento adequado de água no solo diminui o conteúdo relativo de água (CRA) nos tecidos foliares, essa diminuição no CRA causa o fechamento estomático, afetando a fotossíntese, alterando a integridade das membranas e causa a diminuição da atividade das enzimas envolvidas nas reações fotossintéticas (FREITAS et al., 2016; SALISBURY et al., 2012; TAIZ et al., 2013). Nesse experimento, foram também avaliados os impactos relativos da seca (desidratação) progressiva e da reidratação sobre a assimilação do nitrogênio, oriundo da redução assimilatória do  $\text{NO}_3^-$ , para verificar a capacidade de sensibilidade e a capacidade de recuperação desse processo fisiológico/bioquímico diante de uma situação de seca e de reidratação.

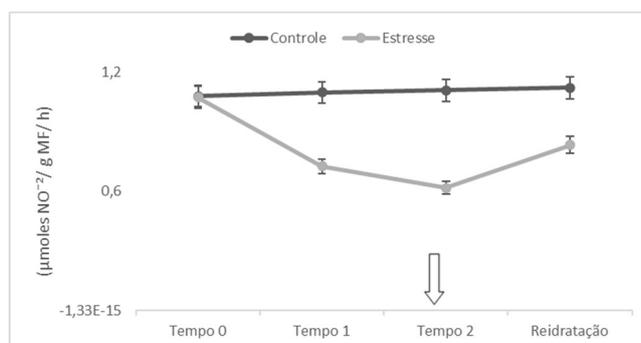
O estresse hídrico afetou significativamente a atividade da redutase do nitrato nas folhas das plantas sob estresse (Figura 2). É possível perceber reduções drásticas dessa atividade sob estresse, quando comparadas às plantas controle no tempo 3 (14 dias em estresse). Essa redução, provavelmente, irá afetar todo o metabolismo nitrogenado da planta, tais como: teores de aminoácidos, proteínas e outros. O nitrato é a principal forma com que as plantas absorvem nitrogênio do solo, seguido por Amônio.

A diminuição gradual da umidade do solo reduz a absorção do solo, reduzindo assim seu transporte para as folhas por meio da corrente de transpiração (xilema), a atividade da enzima da redutase do Nitrato também é reduzida, pois, depende de seu substrato  $\text{NO}^{-3}$  (FREITAS et al., 2016; SHANER et al., 1976).

De acordo com o estudo de Coll et al. (2001) e Freitas et al. (2016), o principal processo de transporte do nitrato é através do xilema, órgãos superiores da planta, onde acontece o processo de redução e absorção de nitratos. Através dessa análise é possível perceber a reidratação mostra que essa espécie submetida ao experimento pode se ajustar osmoticamente, uma vez que, também, a atividade dessa enzima começa a voltar a apresentar atividade próxima ao nível de controle respectivamente.



**Figura 1:** CRA em folhas de plantas jovens de ucuúba (*Virola surinamensis*) submetidas a 0, 07, 14 dias de déficit hídrico e 07 dias de reidratação. As barras representam os desvios padrões da média. A seta indica o início da reidratação.

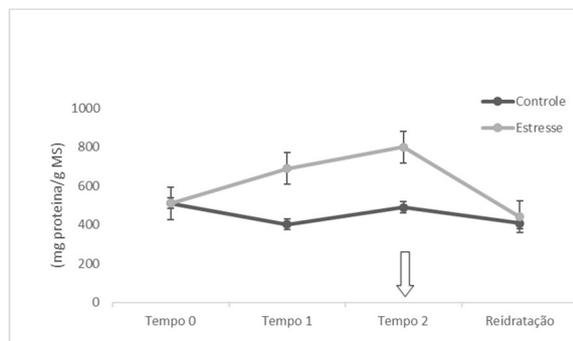


**Figura 2:** Atividade da redutase do nitrato em folhas de plantas de ucuúba (*Virola surinamensis*) submetidas a 0, 07, 14 dias de déficit hídrico e Reidratação. As barras representam os desvios padrões das médias. A seta indica o início da reidratação.

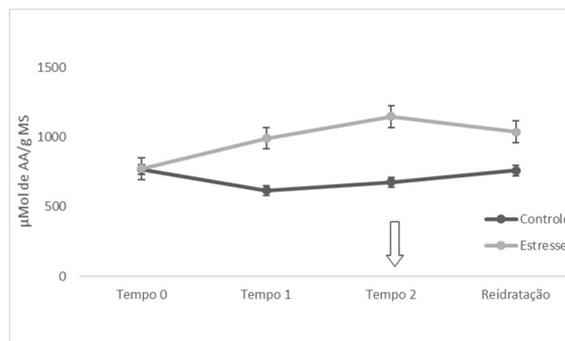
Os teores de proteínas solúveis totais aumentaram significativamente nas folhas dessa espécie nas plantas submetidas a 14 dias de estresse, provavelmente pelo aumento da atividade de proteases que quebram proteínas, tornando-as solúveis e, portanto, apresentaram um ajustamento osmótico após a reidratação, uma vez que apresentaram valores iguais ao das plantas controles. O estresse apresentou os seguintes resultados respectivamente Tempo 0, (510,51), Tempo 1, (690,69) Tempo 2, (800,8) e Reidratação, (441,87). Esse resultado mostra que quanto menor o potencial hídrico do solo, maior a atividade da Enzima proteolítica responsável pela degradação da proteína de reserva das plantas, além de reduzir a síntese "de novo" das plantas, também reduz seu conteúdo nas folhas durante a escassez de água (FREITAS et al., 2016).

A figura 4 mostra que houve acréscimo significativo na concentração de aminoácidos solúveis totais nas folhas da espécie estudada, conforme a intensidade do estresse hídrico foi aumentando e na reidratação teve uma leve recuperação a níveis de controle, indicando que essa planta tende a se ajustar osmoticamente ao estresse aplicado. Durante a falta de água, provavelmente, há aumento da atividade das enzimas proteolíticas, que degradam as proteínas em aminoácidos, e esses compostos são importantes para diminuir

o potencial hídrico e manter a turgescência das células, servindo ainda de reserva de nitrogênio, para uma possível retomada de crescimento da planta, quando o estresse cessar ou amenizar, ou seja, ela tenta se adaptar a falta de água e quando há a reidratação ela pode se recuperar (FREITAS et al., 2016; SALISBURY et al., 2012). Resultados do estresse respectivamente Tempo 0, (774,37), Tempo 1, (991,87), Tempo 2, (1147,15) e Reidratação (1036,87).



**Figura 3:** Concentrações de proteínas solúveis totais em folhas de plantas de ucuúba (*Virola surinamensis*) submetidas há 0, 07, 14 dias de déficit hídrico e reidratação. As barras representam os desvios padrões das médias. A seta indica o início da reidratação.

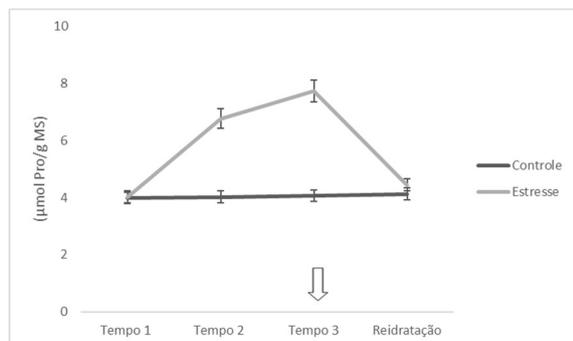


**Figura 4:** Teores de aminoácidos solúveis totais em folhas de plantas de ucuúba (*Virola surinamensis*) submetidas a 0, 0,7, 14 dias de déficit hídrico e Reidratação. As barras representam os desvios padrões das médias. A seta indica o início da reidratação.

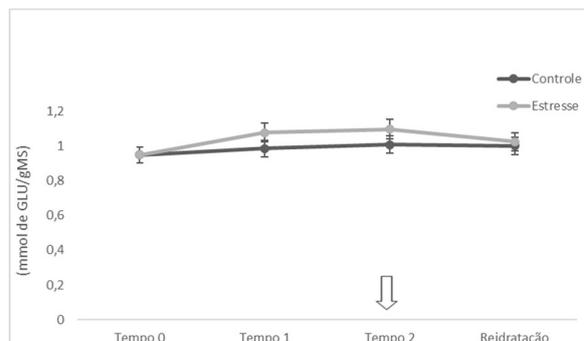
Ao analisarmos os teores do aminoácido prolina, foi observado que houve um aumento significativo na concentração de prolina nas folhas em relação aos regimes das plantas submetidas a falta de água, aumentando significativamente com o aumento dos dias de estresse hídrico nas plantas estressadas, e também conforme foi aumentando o tempo de estresse hídrico (Figura 5). As concentrações de prolina nas folhas das plantas sob suspensão hídrica foram de 1,78; 3,58; 5,68 e 6,81  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ , nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias, respectivamente. As plantas mantidas sob controle hídrico não diferiram estatisticamente entre os tempos, mantendo uma constante.

Para Rhodes et al. (1986), Freitas et al. (2016) e Salisbury et al. (2012), a escassez de água para as plantas em estresse pode ser o resultado do aumento da síntese da concentração de Prolina e do aumento do teor de umidade, como o decréscimo em sua degradação. Para Kishor et al. (2005) a prolina é uma substância responsável pelo ajustamento osmótico das células sujeitas a estresses, evitando a redução da turgescência celular, preservando a integridade celular, e permitindo a continuidade de processos fisiológicos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

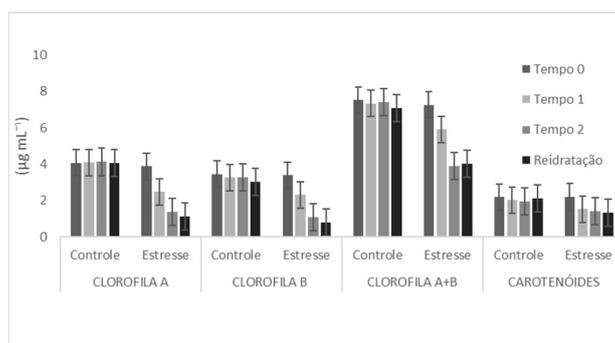
Os dias de estresse provocaram um aumento significativo na concentração de carboidratos solúveis totais nas folhas dessa espécie. Isso, provavelmente, indica que essa planta está se ajustando osmoticamente a esse período de falta de água, uma vez que após a reidratação ela consegue voltar aos níveis do controle. Os valores obtidos para as folhas das plantas estressadas no tempo de 0, 07, 14 dias e reidratação foram respectivamente, de 0,948, 1,077, 1,097, 1,025  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$ , havendo uma pequena diferença estatística no tratamento de estresse. Isso ocorre porque essa substância é responsável pelo ajuste osmótico das plantas, sendo muito importante para a manutenção da turgescência celular (FREITAS et al., 2016; SALISBURY et al., 2012).



**Figura 5:** Determinação da Prolina em folhas de plantas de ucuúba (*Viola surinamensis*) submetidas a 0, 0,7, 14 dias de déficit hídrico e Reidratação. As barras representam os desvios padrões das médias. A seta indica o início da reidratação.



**Figura 6:** Concentrações de carboidratos solúveis totais em folhas de plantas de ucuúba (*Viola surinamensis*) submetidas a 0, 07, 14 dias de déficit hídrico e reidratação. As barras representam os desvios padrões das médias. A seta indica o início da reidratação.



**Figura 7:** Teores de Clorofilas e carotenoides em folhas de plantas de ucuúba (*Viola surinamensis*) submetidas a 0, 0,7, 14 dias de déficit hídrico e Reidratação. As barras representam os desvios padrões das médias.

Os resultados da Figura 7, mostram que a falta de água reduziu os teores das clorofilas a, b e (a+b), e que não foram recuperados após a reidratação, porém não apresentou nenhum efeito sobre teores de carotenoides. O teor de clorofilas diz muito sobre a aclimatização das plantas aos diferentes ambientes de luz. Nesse sentido a quantificação das clorofilas pode dar respostas fisiológicas sobre o comprometimento tanto à falta de aclimatização como também por estar em casa de vegetação (FREITAS et al., 2016).

## CONCLUSÕES

O tempo de quatorze (14) dias de déficit hídrico foi suficiente para alterar o metabolismo das plantas jovens de ucuúba, pois, a falta de água no solo afeta diretamente o conteúdo relativo de água (C.R.A) e a atividade da redutase do nitrato, indicando que esse tempo foi suficiente para mostrar que o metabolismo da planta foi alterado e que a reidratação é necessária para ajudar a reverter os danos causados pelo estresse hídrico.

**AGRADECIMENTOS:** A CAPES/UFPA-Campus de Altamira-PA/PIBIC, ao Laboratório de Biotecnologia (BIOTEC) e ao projeto PROCAD Amazônia – Edital 21/2018.

## REFERÊNCIAS

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

BARTELS, D.; SUNKAR, R.. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.24, n.1, p.23-58, 2005.

- BRADFORD, M. M.. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, v.72, p.248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério Do Meio Ambiente. **Instrução Normativa N. 1 - 08 De Janeiro De 1999**. Brasília: 1999.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. D.; ARRIGONI-BLANK, M. D. F.; BLANK, A. F.; RANGEL, M. S. A.. Produção De Mudanças De Jatobá (*Hymenaea Courbaril* L.) Em Diferentes Ambientes, Recipientes E Composições De Substratos. *Cerne*, v.9, n.1, p.109-118, 2003.
- CARVALHO, C. J. R.; NEPSTAD, D. C.. Amazonian forests at the edge: canopy phenology, water use and flammability of seasonally-dry forests. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6. *Anais*. Belém: sociedade brasileira de fisiologia vegetal, 1997. p.71-85.
- CARNEIRO, J. G. A.. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR; Campos: UENF, 1995.
- COLL, J. B.; RODRIGO, G. N.; GARCÍA, B. S.; TAMÉS, R. S.. **Fisiologia Vegetal**. 9 ed. Madrid: piramide, 2001.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F.. Colorimetric method for determination of sugar sandre lated substances. *Analytical Chemistry*, v.28, n.3, p.350-356, 1956.
- FREITAS, J. M. N.; COSTA, R. C. L.; NETO, C. F. O.; SILVA, D. A. S.; CONCEIÇÃO, S. S.; OKUMURA, R. S.; VIÉGAS, I. J. M.; CARDOSO, K. P. S.. **Osmoregulators compounds in young plants of vouacapoua americana aubl. submitted to water deficit**. 2016.
- HAGEMAN, R. H. G.; HUCKLESBY, D. P.. Nitrate reductase from higher plants. In: *Methods In Enzimology*, v.17, p.491-503, 1971.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Portaria n. 37 - 03 de abril de 1992**. Brasília: IBAMA, 1992.
- JIPP, P. H.; NEPSTAD, D. C.; CASSEL, D. K.; CARVALHO, C. J. R.. Deep soil moisture storage and transpiration in forests and pastures of seasonally-dry Amazonia. *Climate Change*, v.39, p.395-412, 1998.
- JOSÉ, A. C.. **Utilização de mudas de espécies florestais produzidas em tubetes e sacos plásticos para revegetação de áreas degradadas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- KISHOR, P. B. K.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; LAXMI, P. S.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N.. Regulation of proline biosynthesis, degradation, up take and transport in higher plants: its implications in plant grow thand abiotic stress tolerance. *Current Science*, v.88, p.424-438, 2005.
- LARCHER, W.. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006.
- LEITE, H. G. Et Al. Função De Afilamento Para Virola Surinamensis (Roll.) Warb. *Revista Árvore*, v.30, n.1, p.99-106, 2006. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-67622006000100012>
- LUDLOW, M. M.; MUCHOW, R. C.. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited. *Advances In Agronomy*, v.43, p.107-153, 1990.
- MARTINI, A.; ROSA, N. A.; UHL, C.. **Espécies de árvores potencialmente ameaçadas pela atividade madeireira na Amazônia**. Belém: Imazon, 1998.
- MARIN, A.; SANTOS, D. M. M.; BANZATTO, D. A.; CODOGNOTTO, L. M.. Influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.2, p.355-358. 2006.
- NEIMAN, Z.. **Era Verde? ecossistemas ameaçados**. 23 ed. São Paulo, 2012.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; BARBOSA, D. C. A.; MORAES, J. A. P. V.. Trocas gasosas e relações hídricas em plantas jovens envasadas de três espécies da caatinga, submetidas à deficiência de água. *Phyton*, v.62, n.1-2, p.37-46, 1998.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C.. **Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da Caatinga**. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2005. p.22-31.
- PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F.. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Australian center for international agricultural research Canberra. 1989.
- RHODES, D.; HANDA, S.; BRESSAN, R. A.. Metabolic changes associated with adaptation of plant cells to water stress. *Plant Physiology*, Maryland, v.82, p.890-903, 1986.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W.. **Fisiologia Das Plantas**. Cengage Learning. 4 ed. São Paulo. 2012.
- SHANER, D. L.; BOYER, J. S.. Nitrate reductase activity in maize (*Zeamays* L.) Leaves. I. regulation by nitrate flux. *Plant Physiology*, Maryland, v.58, p.499-504, 1976.
- SILVEIRA, J. A. G.; ROCHA, I. M. A.; VIEGAS, R. A.. **Metabolic responses of cowpea and cashew plants exposed to salt and water stress: new aspects on proline accumulation**. 2002.
- SODEK, L.. Metabolismo do Nitrogênio. In: KERBAUY, G. B.. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.94-113.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.