

02291  
MFN 26984

**MARCEL DO NASCIMENTO BOTELHO**

**ESTUDO DE CARACTERÍSTICAS ADAPTATIVAS À  
SUBMERSÃO DE PLANTAS JOVENS DE INGÁ (*Inga vera*  
Willd.), VIROLA (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.)  
Warb.) E SERINGUEIRA (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)**

Dissertação apresentada a Universidade  
Federal de Lavras, como parte das exigências  
do Curso de Mestrado em Agronomia, área de  
concentração em Fisiologia Vegetal, para  
obtenção do título de "**Mestre**".

**Orientador**

**Prof. Dr. LUIZ EDSON MOTA DE OLIVEIRA**

CDD-581.5

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
1996**

**Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da  
Biblioteca Central da UFLA**

Botelho, Marcel do Nascimento

Estudo de características adaptativas à submersão de plantas jovens de ingá (*Inga vera* Willd), virola (*Virola surinamensis* (Rol.) Warb.) e seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) / Marcel do Nascimento Botelho. Lavras : UFLA, 1996.

52p. : il.

Orientador: Luiz Edson Mota de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Fisiologia vegetal. 2. Ingá. 3. Virola. 4. Seringueira. 5. Adaptação. 6. Inundação. 7. Característica morfológica. 8. Anatomia. 9. Redutase. 10. Nitrato. 11. Raiz adventícea. I. universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-581.5

**MARCEL DO NASCIMENTO BOTELHO**

**ESTUDO DE CARACTERÍSTICAS ADAPTATIVAS À  
SUBMERSÃO DE PLANTAS JOVENS DE INGÁ (*Inga vera*  
Willd.), VIROLA (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.)  
Warb.) E SERINGUEIRA (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)**

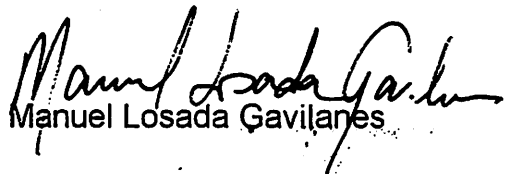
Dissertação apresentada a Universidade  
Federal de Lavras, como parte das exigências  
do Curso de Mestrado em Agronomia, área de  
concentração em Fisiologia Vegetal, para  
obtenção do título de "Mestre".

APROVADA, em 23 de Setembro de 1996

Prof. Antonio Claudio Davide



Prof. Manuel Losada Gavilanes



Prof. Luiz Edson Mota de Oliveira  
(Orientador)



**Ao meu pai Celso Iran Puget Botelho**

**A minha Mãe Maria de Fátima Nascimento Botelho**

**Aos Meus irmãos Giselle e Celso Jr.**

**À minha avó Leonor e aos meus tios e tias**

**Ao meu avô Oswaldo e ao "irmão" André Zayat "*in memoriam*"**

**Pelo apoio e exemplos durante as diferentes etapas da minha vida**

**OFEREÇO**

**A minha esposa, companheira e amiga Simone Jatene C. Botelho**

**Ao meu filho sapeca e fonte de inspiração Felipe Botelho**

**Pela paciência e todos os momentos inesquecíveis**

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

- À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade concedida para a realização deste curso.
- À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo e financiamento de parte do projeto.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento parcial do projeto.
- À Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG), pelo financiamento de parte do projeto, por intermédio do convênio CEMIG/UFLA/FAEPE.
- À Federação da Agricultura do Estado do Pará (FAEPA) e ao Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR/PARÁ), pelo apoio durante todo o curso e encadernação dos originais.
- Ao amigo, professor e orientador Luiz Edson Mota de Oliveira, pela orientação acadêmica e os ensinamentos valiosos para a vida profissional e pessoal.
- Ao professor Manuel Lousada Gavilanes pela alegre convivência e ensinamentos.
- Ao professor Antonio Cláudio Davide pelas sugestões e críticas ao trabalho.
- Aos professores do curso de Fisiologia Vegetal Donizeti, Amauri, Renato e Angela, pelos conhecimentos transmitidos.
- Aos meus amigos e pesquisadores da EMBRAPA-CPATU, Olinto Gomes da Rocha Neto e Cláudio Jasé Reis de Carvalho, pela preciosa ajuda durante a minha formação acadêmica e na elaboração desta dissertação.
- Aos funcionários do DBI: Izonel, Dartagnan, Evaristo, Eustáquio, Zélia, Ester, Eduardo, Joel, Odorêncio, Helena, Erundina, Nazaré, pelo apoio de sempre e alegre convívio.

- Aos amigos e amigas: Vespasiano, Lucivane, Cláudio, Leonardo, Patrícia, Marlos, Luciene, Thales, Telma, Leslie, Dalva, Edgard, Jucleide, Maguinho, Gidelma, Gilma, Luiz, Márcia, Vilma, Piauí, Lucas, Ilka, Leimi, Sônia, Adriana, Jair, Walter, Moemi, Lula, Maurício, Paulino, Denis, Crys, Alnex, Ricardo, Silvana, Evaristo, Guilherme, Célia e Yoko, pela paciência nas discussões e todos os momentos alegres que me proporcionaram no dia-a-dia e nas memoráveis reuniões.
- Aos colegas de trabalho: Paulino, Denis, Crys, "Zé", Ricardo, Silvana, Evaristo e Vespasiano, pela ajuda indispensável para a realização deste trabalho.
- A minha segunda família: André, Josirley, Marlos, Poliana e Vespasiano, por tudo, porque enumerar os motivos seria uma nova dissertação. Do fundo do meu coração, OBRIGADO.
- A todos aqueles que fizeram parte desta conquista e que aqui não foram mencionados (as) por falha da minha memória.

## **BIOGRAFIA**

Marcel do Nascimento Botelho, filho de Maria de Fátima do Nascimento Botelho e Celso Iran Puget Botelho é natural de Belém do Pará. Concluiu o primeiro grau em 1985, na Escola de Primeiro Grau Berço de Belém. Em 1988 concluiu o segundo grau no Grupo Técnico Ideal. Ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias do Pará em março de 1989, no curso de Engenharia Agrônômica, concluindo-o em 05 de março de 1994. Durante o período universitário, foi bolsista de iniciação científica durante três anos através do convênio FCAP/EMBRAPA-CPATU/CNPq. Em 07 de março de 1994, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal, concluindo o curso em 23 de setembro de 1996.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Características de um ambiente iniundado.....	3
2.2 Características das Espécies Estudadas e Adaptações Gerais das plantas a ambientes inundados.....	4
2.3 Assimilação do nitrogênio em ambientes inundados.....	8
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Obtenção das plantas e condução do experimento.....	11
3.2 Características avaliadas.....	15
3.2.1 Características morfo-anatômicas.....	15
3.2.2 Características biométricas e biofísicas.....	16
3.2.3 Características bioquímicas.....	16
3.2.3.1 Determinação de aminoácidos, proteínas solúveis totais e açúcares solúveis totais.....	16
3.2.3.2 Determinação do nitrogênio total.....	17
3.2.3.3 Atividade da redutase do nitrato.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Características morfológicas e anatômicas.....	19
4.2 Características biométricas e biofísicas.....	24



4.2.1 Comprimento foliar.....	24
4.2.2 Volume radicular.....	26
4.2.3 Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ).....	28
4.3 Características bioquímicas.....	29
4.3.1 Açúcares solúveis totais (AST).....	29
4.3.2 Aminoácido e proteína total.....	32
4.4 Concentração do nitrogênio total.....	36
4.5 Atividade da redutase do nitrato.....	38
4.6 Comentários finais.....	40
5 CONCLUSÕES.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXO.....	50

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1-Cortes transversais de caule (A), raiz (B) e folha (C) de plantas de ingá submetidas ao alagamento. A barra ( — ) corresponde a 100 $\mu$ m.....	21
2-Cortes transversais de caule (D), raiz (E) e folha (F) de plantas de virola submetidas ao alagamento. A barra ( — ) corresponde a 100 $\mu$ m.....	22
3-Comprimento foliar de plantas de ingá, virola e seringueira em função dos níveis de inundação .T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Médias de três repetições. As barras indicam o erro das médias.....	25
4-Volume radicular de plantas de ingá, virola e seringueira em função do tempo e dos níveis de inundação. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de alagamento, respectivamente.....	27
5-Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) as 13:00h, no final do período experimental (45 dias), em função do nível de alagamento. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras iguais indicam que as médias não tiveram diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.....	28

6-Teor de açúcares solúveis totais na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de inundação. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de inundação, respectivamente.....	31
7-Teor de aminoácidos na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de inundação. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de inundação, respectivamente.....	34
8-Teor de proteínas solúveis totais na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de inundação. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de inundação, respectivamente.....	35
9-Concentração de nitrogênio total na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de inundação. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de inundação, respectivamente.....	37
10-Atividade da redutase do nitrato na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de inundação. T1-cultivo sem inundação; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de inundação, respectivamente.....	40
11-Temperatura média ao longo do período experimental.....	51

## LISTA DE TABELAS

TABELA	Página
1-Composição e concentração dos elementos nas soluções nutritivas utilizadas no experimento .....	14
2-Valores médios do número, diâmetro polar e equatorial dos estômatos das plantas de ingá e virola, submetidas ao cultivo sem inundação (T1), com inundação do sistema radicular (T2) e submersão total das plantas (T3).....	23
3 Matéria seca total, das raízes e da parte aérea de ingá, virola e seringueira, nos três níveis de submersão aos 14 e aos 45 DAIT.....	52

## RESUMO

BOTELHO, Marcel do Nascimento. **Estudo de características adaptativas à submersão de plantas jovens de ingá (*Inga vera* Willd.), virola (*Virola surinamensis* (Rolland. ex Rottb.) Warb.) e seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.).** Lavras: UFLA, 1996 52p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia - Área de Concentração em Fisiologia Vegetal)\*.

Neste trabalho objetivou-se avaliar o comportamento de algumas espécies arbóreas, à baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo, quanto as modificações morfológicas e anatômicas, tais como a formação de aerênquimas e lenticelas, emissão de raízes adventícias, número e tamanho dos estômatos, epinastia e abscisão foliar, modificações na atividade da redutase do nitrato e no teor de algumas macro e micro moléculas relacionadas com este fenômeno. Este experimento foi conduzido em uma área do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, utilizando como material vegetal plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Muell) Arg.), ingá (*Inga vera* Willd.) e virola (*Virola surinamensis* (Rolland. ex Rottb.) Warb.). Foram analisados três tratamentos: (T1) Cultivo sem inundação; (T2) Cultivo com inundação do sistema radicular; (T3) Cultivo com inundação total das planta, sendo que nas plantas de seringueira apenas o primeiro lançamento a partir do solo ficou submerso. Entre o quinto e o oitavo dias após a indução dos tratamentos (DAIT) todas as plantas cultivadas com submersão do sistema radicular e as plantas de seringueira com submersão parcial da parte aérea apresentavam um hipertrofiamento das lenticelas, persistindo assim até o final do período experimental (45 DAIT). Após 28

---

**\*Orientador: Luiz Edson Mota de Oliveira. Membros da Banca: Manuel Losada Gavilanes e Antônio Claudio Davide.**

DAIT, nas plantas de ingá sob submersão do sistema radicular, tornou-se visível a emissão de raízes adventícias, o que não ocorreu em nenhum outro tratamento e espécie durante todo o período experimental. Ao final do período experimental foram feitas as avaliações anatômicas nas plantas de ingá e virola, constatando a não formação de aerênquimas. Houve uma queda na atividade da redutase do nitrato na raiz e na folha das plantas sob submersão do sistema radicular e submersão total, mostrando não haver, nestas condições experimentais, a assimilação do nitrogênio por esta via, nestas espécies. O acúmulo de açúcares solúveis totais nas raízes das plantas de ingá e virola, sugere que estas espécies toleraram a submersão graças a uma distribuição e/ou redistribuição das reservas que favoreceu o sistema radicular. A paralização do crescimento apresentada pelas plantas de ingá e virola cultivadas em submersão total e as plantas de seringueira cultivadas com inundação do sistema radicular e submersão parcial da parte aérea, mostrou que de acordo com o nível de alagamento, estas espécies dispõem de estratégias diferentes para sobreviver, pois apesar de ter paralisado o crescimento, estas plantas permaneceram vivas até o final do período experimental.

## ABSTRACT

### **STUDIES OF ADAPTIVES CHARACTERISTICS TO SUBMERGED OF INGÀ (*Inga vera* Willd.) VIROLA (*Virola surinamensis* (Rolland. ex Rottb.) Warb.) AND RUBBER TREE (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) YOUNG PLANTS.**

The aim of this work was to evaluate the behavior of some tree species at low oxygen availability medium, as to both morphological and anatomical modifications, such as formation of aerenchyma and lenticels, emission of adventitious roots, number and size of stomates, epinasty and leaf abscission, modification in the nitrate reductase activity and amount of some macro and micro molecules related with this phenomenon. The experiment was conducted at the Biology Department at the Universidade Federal de Lavras, utilizing as plant material young rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), Inga (*Inga vera* Willd.) and virola (*Virola surinamensis* (Rolland. ex Rottb.) Warb.). Three treatments were analysed: (T1) cultivation with no flooding; (T2) cultivation with flooding of the root system; (T3) cultivation with total flooding of the plant. Between the fifth and eighth days after induction of the treatment (DAIT), all the plants cultivated with flooding of the root system and rubber trees with partial submersion of the aerial part showed an enlargement of lenticels, lasting this way till the end of the experimental period (45 DAIT). From the 28 DAIT on inga plants under flooding of the root system, emission of adventitious roots became visible, which did not occur in any other treatment and species throughout the experimental period. At the end of the experimental period, anatomical evaluations were done on plants of inga and virola, not finding formation of aerenchymas, as well as significant alterations were not found in the structure of stem, root and mesophyll, and stomate number of these plants. There was a fall in nitrate reductase activity in the root and leaf of the plants under flooding of the root system and

total flooding, showing that there was no nitrogen uptake in these species, in these experimental conditions. Total soluble sugars accumulation in the roots of the plants of inga and virola, denote that these species tolerated flooding because of the allocation and/or re-allocation of storages compounds which supported the root system. The break of the growth showed by inga and virola plants cultivated under total submersion, and by rubber trees cultivated with flooding of the root system and partial submersion of the aerial part, showed that according to the flooding level, these species dispose of different strategies to survive at the end of experiment.



## 1 INTRODUÇÃO

A vegetação de manguesais, áreas de várzea e matas ciliares desempenham um papel fundamental, por conservar o solo e sustentar a fauna herbívora destes ecossistemas. Mas, a degradação destes ambientes pelo desmatamento ou represamento de rios para a construção de reservatórios tem contribuído para a destruição desta vegetação.

A área de depleção da represa de Camargos no município de Itutinga, apresenta um aspecto interessante quanto ao regime hídrico, pois quando o nível do reservatório sobe, as plantas ficam total ou parcialmente cobertas pela água, causando um estresse gasoso, contudo quando o nível desce as plantas das cotas mais elevadas, principalmente, passam a enfrentar uma rigorosa falta d'água, pois este fato coincide com o período de menor precipitação nesta região.

Portanto, a composição florística neste ambiente é limitada por fatores como o nível de submersão e o tempo de submersão, além, é claro, do tipo de solo, temperatura, quantidade e qualidade de luz, dentre outros fatores edafoclimáticos a que estas plantas estão sujeitas.

Assim, é necessário estudar, as espécies (arbóreas e herbáceas) que ocorrem naturalmente em áreas alagadas, pois nestas plantas pode estar a resposta para a revegetação das áreas de depleção, bem como a exploração racional destas espécies nestas áreas inundáveis, por parte dos agricultores que tenham suas propriedades às margens dos reservatórios. Para tanto, estudos ecofisiológicos e anatômicos destas espécies são prerrogativas necessárias a qualquer iniciativa mais promissora, no sentido de uma recuperação mais segura e consciente destas áreas.

Neste contexto, poder-se-ia destacar e estudar aqui várias espécies arbóreas e arbustivas, consideradas potencialmente promissoras para a utilização em programas de revegetação de áreas sujeitas a inundações periódicas e permanentes (Pelacani, 1992), como o ingá (*Inga sp.*), a seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), a andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), a virola (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.) Warb.), a sesbania (*Sesbania sp.*) e o açai (*Euterpe sp.*).

Entretanto, neste trabalho estudou-se as espécies ingá (*Inga vera* Willd.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) e a virola (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.) Warb.), onde objetivou-se avaliar: as características morfológicas e anatômicas; o acúmulo de algumas macro e micromoléculas e a atividade da redutase do nitrato em raízes e folhas de ingá (*Inga vera* Willd.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), e virola (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.) Warb.), sob diferentes níveis e tempos de submersão.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Características de um ambiente inundado

Quando se menciona um ambiente inundado, comumente considera-se um solo completamente submerso, tal como ocorre nas várzeas e mangues, ou pela cheia exagerada de qualquer rio ou córrego, ou também pela inundação periódica das margens dos reservatórios. Todavia uma chuva pesada ou então uma irrigação mal dimensionada, principalmente em solos sem boa drenagem ou naqueles compactados, também pode ocasionar a inundação e/ou alagamento do solo.

Em um solo inundado ocorre uma rápida queda na concentração de oxigênio em função de sua baixa taxa de difusão na água e devido ao rápido consumo pelas plantas e microrganismos submersos (Kawase, 1981; Kozlowiski e Pallardy, 1984; Voesenek, Blom e Pouwels, 1989). Além da queda na disponibilidade de oxigênio, ocorrem alterações no pH, aumento da condutividade elétrica do solo, na concentração de ácidos orgânicos, íons tóxicos, compostos fenólicos e etileno e redução do potencial de oxiredução e no teor de nitrato (Kozlowiski, 1984; Kludze, Delaune e Patrick, 1993; Pezeshki, Pardue e Delaune, 1993). Estas alterações, ocasionam uma modificação drástica na composição microbiana do solo e na composição florística das espécies (Kozlowiski, 1984; Perata e Alpi, 1993).

Mesmo em um solo completamente inundado o oxigênio pode não estar totalmente ausente (anoxia), pois pode existir concentrações consideráveis de oxigênio nas camadas próximas à superfície da água, permitindo, assim, que as plantas

sobrevivam neste solos, utilizando estratégias morfológicas e/ou metabólicas para superar este estresse (Kozlowiski, 1984).

## 2.2 Características das Espécies Estudadas e Adaptações Gerais das plantas a ambientes inundados

De um modo geral, existe um número limitado de espécies vegetais que podem sobreviver e/ou crescer em ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio, causada pela inundação do solo (submersão do sistema radicular) ou mesmo pela submersão total da planta. As três espécies utilizadas neste experimento ocorrem naturalmente em áreas alagadas ou sujeitas a inundação, sendo que as espécies ingá e virola só ocorrem na beira de rios e lagos, sendo que em algumas situações pode-se encontrar a virola praticamente no meio do leito de pequenos igarapés. A seringueira é uma espécie que pode ser encontrada tanto nas margens dos rios como em áreas de terra firme. Ecologicamente, pode-se dizer que o ingá e a virola pertencem ao mesmo grupo e a seringueira a um segundo grupo de espécies, quanto ao hábito.

A tolerância destas espécies a baixa disponibilidade de oxigênio é possível graças a adaptações morfológicas e anatômicas, que permitem o transporte e o armazenamento do oxigênio para as partes submersas, respectivamente nas plantas parcialmente e totalmente submersas (Perata e Alpi, 1993), ou a adaptações metabólicas através do metabolismo anaeróbico (Crawford, 1978), ou então por uma ação sinérgica entre estas duas formas de adaptação.

Dependendo de alguns fatores tais como, a espécie, a altura da coluna d'água, e o tempo de submersão; o desenvolvimento de estruturas morfológicas e anatômicas pode ser mais evidenciado, na tentativa de sobreviver, ou até mesmo crescer em um ambiente hipóxico (Laan et al., 1990; Kawase, 1981; Vartapetian, 1980).

Dentre as características de adaptação a hipoxia e/ou anoxia, destacam-se: a formação de raízes adventícias, aerênquimas, lenticelas hipertrofiadas ou entumecidas, modificações no número, tamanho e localização dos estômatos,

epinastia, murchamento e abscisão foliar (Gill, 1970; Kawase, 1981; Kludze, Delaune, Patrick, 1993; He, Drew e Morgan, 1994).

O desenvolvimento das estruturas morfo-anatômicas parece estar relacionado com o aumento na concentração de etileno, devido a submersão da planta ou parte dela (Tang e Kozlowiski, 1984; Perata e Alpi, 1993; He, Drew e Morgan, 1994). Entretanto, o aumento da concentração de etileno em plantas submetidas a outras condições ambientais adversas, tais como o déficit hídrico e altas temperaturas não ocasiona a manifestação de nenhuma daquelas alterações supracitadas, indicando que deve existir outros produtos que sob anoxia e/ou hipoxia interagem com o etileno, induzindo a formação destas estruturas de adaptação (Kozlowiski, 1984).

Segundo Gill (1970), a formação de raízes adventícias parece ocorrer, principalmente, naquelas espécies que toleram a inundação. Hook e Scholtens (1980), consideram a formação de raízes adventícias como um fator decisivo para que as espécies, especialmente as arbóreas, sobrevivam em condições de baixa disponibilidade de oxigênio. A tolerância de plântulas de seringueira as condições de solo inundado, deve-se a formação de raízes adventícias, induzidas provavelmente pelo aumento na concentração de etileno (Sena Gomes e Kozlowiski, 1988).

Tanto as raízes adventícias, quanto as novas raízes secundárias, formadas após a inundação, apresentam-se mais macias, esponjosas e quebradiças, quando comparadas as demais raízes do sistema radicular original do mesmo indivíduo, em função da nova composição dos tecidos (Kozlowiski, 1984).

Tão importante quanto as raízes adventícias, é a formação de aerênquimas para a oxigenação das partes submersas, isto é, em plantas que não estão totalmente submersas, o oxigênio pode ser transportado da parte aérea para as raízes pelos aerênquimas (Kawase, 1981; Laan e Blom, 1990). Trabalhando com plântulas de *Pinus contorta* Boland. em condições de hipoxia Topa e McLeod (1986 a) encontraram na formação de aerênquimas, na região do córtex das raízes e a conseqüente aeração dos tecidos radiculares, a explicação para a sobrevivência e o crescimento destas plântulas sob hipoxia.

Os aerênquimas podem ser formados pelo afastamento das células do córtex do caule e/ou raízes (origem esquisogênica), ou pela lise de algumas destas

células (origem lisogênica). As enzimas envolvidas na formação lisogênica de aerênquimas nas raízes de plantas de milho (*Zea mays* L.), 1 Amino-ciclopropano-1 Ácido carboxílico sintase (ACC sintase) e celulasas, tem suas atividades estimuladas pela hipoxia e baixa concentração de nitrogênio (He, Drew e Morgan, 1994). Kludze, Delaune e Patrick (1993), citam haver uma relação positiva entre a baixa disponibilidade de oxigênio no meio e o grau de formação de aerênquimas em plantas de arroz (*Oryza. sativa* L.).

Ainda dentro das modificações morfo-anatômicas das plantas submetidas a inundação, pode ocorrer, na porção do caule próxima a lâmina d'água, o hipertrofiamento das lenticelas, que facilita a difusão dos gases para o interior do córtex (Hook e Scholtens, 1980; Tang e Kozlowiski, 1984). Além de facilitar a entrada do oxigênio, as lenticelas podem servir como elementos importantes na liberação de produtos fitotóxicos produzidos sob baixa disponibilidade de oxigênio, tais como o etanol e acetaldeído (Kawase, 1981).

Os estômatos são estruturas fundamentais para a vida das plantas, pois em condições normais de cultivo, isto é, sem submersão, é por eles que ocorre toda troca gasosa. Portanto, qualquer variação no número e/ou tamanho destes, pode acarretar uma maior ou menor eficiência da planta, seja quanto a taxa fotossintética ou no uso da água (Sun, et al., 1995).

Medri e Leras (1980), citam haver diferenças no número e tamanho dos estômatos de seringueira cultivadas em diferentes condições edafoclimáticas, entretanto Barbosa (1995) não encontrou diferenças significativas entre o número e o tamanho dos estômatos, trabalhando com espécies florestais amazônicas, submetidas a submersão do sistema radicular.

Todavia a submersão parcial e/ou total das plantas pode afetar, além do número e do tamanho, a condutância estomática, alterando conseqüentemente as taxas transpiratórias e de assimilação do carbono (Crane e Davies, 1988).

Em algumas espécies florestais foi observado um rápido fechamento dos estômatos em resposta a inundação, associado a uma queda brusca na fotossíntese líquida em folhas completamente expandidas (Tsukahara e Kozlowiski, 1986; Sun et al., 1995). Resultados semelhantes a estes foram relatados por Pelacani (1992), que

estudando o comportamento da condutância estomática em plantas de sesbânia (*Sebania sesban* Merrill), ameixa (*Eriobotrya japonica* Lindl.), jacarandá (*Macchaerium villosum* Vog.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) e ingá (*Inga vera* Willd.), observou uma redução significativa desta, nas plantas cultivadas em condições de baixa disponibilidade de oxigênio no meio, quando comparados com os valores das plantas cultivadas sem problemas de disponibilidade de oxigênio no meio. Porém, isto pode não ocorrer em folhas que completam a sua expansão durante a inundação (Newsome e Kozlowiski, 1982), ou em plantas menos sensíveis a submersão do sistema radicular, como o açai (*Euterpe oleracea* Engel.) (Pelacani, 1992).

Com relação as características metabólicas relacionadas ao cultivo de plantas sob hipoxia e/ou anoxia, a mais comumente citada é a aceleração da glicólise em virtude do bloqueio do ciclo de Krebs (TCA) e da cadeia transportadora de elétrons (CTE), resultando num baixo rendimento energético e aumento na produção de etanol e/ou lactato, chamado de metabolismo anaeróbico (Crawford, 1978).

Entretanto, para que ocorram estas modificações no metabolismo, alguns polipeptídeos devem ser formados, ou então apresentarem uma elevação na sua concentração, destacando-se na maioria das plantas as enzimas álcool desidrogenase (ADH) e lactato Desidrogenase (LDH), responsáveis pela produção de etanol e lactato, respectivamente (Sacks, 1986). Além destas duas enzimas, outros polipeptídeos anaeróbicos (ANPS) já foram identificados em altas concentrações, sendo que a maioria destas enzimas pertencem a via glicolítica, onde pode-se destacar a glicose 6-fosfato isomerase; aldolase; sacarose sintase; gliceraldeído 6-fosfato desidrogenase e piruvato decarboxilase (Kennedy et al., 1992).

A tolerância a baixa disponibilidade de oxigênio pode estar relacionada com a utilização de vias alternativas, que tenham produtos finais menos nocivos à sobrevivência das células, tais como o malato, aspartato, piruvato, succinato, alanina e serina, dentre outros (Crawford, 1980; Vartapetian, 1980 e Gill, 1970). Porém, esta tolerância pode ser devida, também ao controle da produção de etanol e lactato, e a capacidade de assimilação e excreção destes metabólitos por parte das plantas tolerantes (Hook e Scholtens, 1980).

O tempo de inundação, também é um fator decisivo para a tolerância das espécies à baixa disponibilidade de oxigênio no meio, devido ao aumento da concentração de produtos tóxicos em algumas espécies, bem como, pelo consumo das reservas, dependendo da estratégia de cada planta (Joly, 1991).

Em condições naturais de alagamento de um solo, a concentração de oxigênio, no solo, declina gradualmente, permitindo que as plantas experimentem um período apreciável de hipoxia antes da anoxia. Assim, as plantas sujeitas a esta aclimação toleram a anoxia, enquanto que aquelas expostas diretamente a anoxia sucumbem rapidamente (Drew et al., 1994). Desta forma, a capacidade de plântulas intactas de milho em tolerar a anoxia é aumentada se estas plantas forem expostas, primeiramente, a uma condição hipóxica, pois a hipoxia permite o desenvolvimento de um sistema de transporte do lactato, além de um acúmulo de grande quantidade de energia (Andrews et al. 1994).

Arrese et al. (1993) e Mohanty, Wilson e Ap-Rees (1993), citam que a diferença entre as plantas tolerantes e as não tolerantes a baixa disponibilidade de oxigênio no meio está relacionada com o acúmulo de matéria seca, aumento da atividade catalítica, além da mudança na alocação dos fotoassimilados e na fixação e assimilação do nitrogênio

### 2.3. Assimilação do Nitrogênio em Ambientes Inundados

Dentre as fontes de nitrogênio existente no solo o nitrato é a principal forma disponível para as plantas cultivadas, pois o amônio adicionado ao solo pelas adubações é rapidamente convertido a nitrato pelos microorganismos nitrificadores (Redinbaught e Campbell, 1991). Entretanto em solos inundados ou encharcados, com baixa disponibilidade de oxigênio, ocorre a denitrificação aumentando a concentração de íons amônio nestes solos (Ponnamperuma, 1972; Fredeen e Field, 1992). Isto pode ser observado em florestas tropicais úmidas, onde o nitrogênio fica na forma amoniacal durante o período chuvoso, enquanto que no período seco predomina a forma nítrica. (Barrios e Herrera, 1994).



A Redutase do Nitrato (RN; E.C. 1.6.6.1.) é a enzima que catalisa a redução do nitrato a nitrito, que é o principal passo na assimilação do nitrogênio até aminoácido. A atividade desta enzima é fundamental para a incorporação do nitrogênio mineral, principalmente nas plantas não noduladas, podendo ser utilizada como um indicador da eficiência deste processo (Srisvatava, 1980). Por ser o nitrogênio um elemento fundamental para a vida das plantas, a atividade da redutase do nitrato pode ser utilizada, também, como um indicativo do metabolismo geral da planta (Solomonso e Barber, 1990).

Sob baixa disponibilidade de oxigênio no meio o ciclo dos ácidos tricarboxílicos (TCA) é limitado ou mesmo paralisado pela não oxidação do NADH na cadeia transportadora de elétrons (CTE). Neste contexto, a RN pode ter um papel fundamental juntamente com a via fermentativa (ADH e LDH) e a síntese de lipídeos, na oxidação do NADH, que é essencial para a continuidade do TCA e conseqüentemente a sobrevivência da planta (Drew, 1988; Fox, Kennedy e Rumpho, 1994).

Blom et al. (1994), trabalhando com plantas de *Rumex palustris* Sm. verificou que a presença de aerênquimas, além de promover a oxigenação interna, também permite a difusão do oxigênio na rizosfera, mantendo a nitrificação e conseqüentemente a atividade da redutase do nitrato, mesmo nas condições de alagamento do solo. Entretanto, Pelacani (1992), apesar de ter observado a formação de raízes adventícias em todas as espécies com que trabalhou (sesbânia, ameixa, jacarandá, seringueira, açaí e ingá), encontrou uma redução na atividade da redutase do nitrato em três das seis espécies com que trabalhou, quando comparada com as plantas cultivadas sob condições normais, já nas plantas de ingá o comportamento da enzima foi o contrário destas três espécies e nas plantas de açaí e seringueira não houve diferença estatística na atividade da redutase do nitrato entre as plantas sob inundação do sistema radicular e aquelas cultivadas sem inundação. Isto indica que há um comportamento diferenciado das plantas quanto as estratégias metabólicas adotadas diante da baixa disponibilidade de oxigênio no meio, ocasionada pela submersão total ou parcial da planta, mesmo quando as modificações morfológicas parecem semelhantes.

Em plantas de arroz sob anoxia foi encontrado um aumento da atividade da redutase do nitrato no ápice radicular quando fornecido  $\text{NO}_3^-$  exógeno, confirmando a existência de assimilação do nitrogênio em condições hipóxicas/anóxicas (Reggiane et al., 1993). Contudo, esses mesmos autores questionam a influência da atividade da redutase do nitrato na tolerância a anoxia, uma vez que a síntese de etanol não foi inibida, indicando não haver uma competição efetiva pelo NADH, com a enzima ADH, mostrando ainda que o fator limitante para a atividade da redutase do nitrato nestas condições foi o nitrato e não a baixa disponibilidade do oxigênio.

Tendo em vista que sob condições de solo alagado, o nitrato é convertido em amônio, as atividades das enzimas Glutamina Sintetase (GS; E.C. 6.3.1.2), Glutamato Sintase (Fd-GOGAT; E.C. 1.4.1.7 e NADH-GOGAT; E.C. 1.4.1.1.4), também assumem um papel importante na assimilação do nitrogênio, principalmente o amoniacal. Destas enzimas a GS é a mais importante, pois atua também na remobilização do nitrogênio através da atividade da sua isoforma citoplasmática ( $\text{GS}_1$ ) (Vanlerberghe et al., 1989). Trabalhando com plantas jovens de seringueira, Dellú Filho (1994), observou que o nitrato influenciou positivamente a atividade desta enzima nas folhas e Lemos (1996), observou que o cultivo com diferentes proporções de nitrato/amônio reduziu a atividade da GS tanto na folha como na raiz, por outro lado a adição exclusiva de amônio aumenta a atividade na folha, mas manteve-se baixa na raiz, provavelmente devido a presença de isoformas diferentes nestes dois órgãos.

Em condições de baixa disponibilidade de oxigênio no meio, que provoca a paralisação do TCA, ocorre uma diminuição da carga energética da planta e isto pode atuar diretamente na atividade da GS, pois esta enzima requer ATP para completar a reação de conversão do glutamato para glutamina.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido na área experimental de campo anexa ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, do Setor de Fisiologia Vegetal, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de 06/03/96 a 20/04/96, utilizando como material vegetal espécies arbóreas, que ocorrem em áreas inundadas ou sujeitas a inundação da Amazônia, seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), e virola (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.) Warb.) e do Alto Rio Grande, ingá (*Inga vera* Willd.).

#### 3.1 Obtenção das Plantas e Condução do Experimento

Neste experimento foram utilizadas plantas jovens de três espécies arbóreas: uma Euphorbiaceae, seringueira (*Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg.), uma Leguminosae, ingá (*Inga vera* Willd.) e uma Myristicaceae, virola (*Virola surinamensis* (Roland. ex Rottb.) Warb.).

As mudas de seringueira e ingá utilizadas foram produzidas a partir de sementes coletadas respectivamente na Fazenda Água Milagrosa, Tabapoã-SP e as margens do Rio Grande, Lavras-MG. As mudas permaneceram plantadas em sacos plásticos sob condições de viveiro por aproximadamente um ano. Depois de selecionadas quanto a uniformidade, com base no número de lançamentos foliares, no caso da seringueira, e altura média das plantas para ingá, as plantas utilizadas no experimento foram plantadas duas a duas em tubos de PVC de 25 cm de diâmetro x 20

cm de altura e em vasos plásticos com capacidade para 4 litros de areia, respectivamente para seringueira e ingá. O substrato colocado nos tubos de PVC e nos vasos foi o mesmo utilizado para a produção das mudas, completando-se o volume dos cilindros e vasos com areia grossa lavada para sustentação das plantas.

As plantas de virola foram obtidas a partir de mudas de raiz nua, nativas da Amazônia, coletadas em uma área de várzea as margens do Rio Pará em Belém-PA. No dia seguinte à coleta, as mudas foram transportadas de avião para o local do experimento, onde foram inicialmente plantadas em vasos contendo vermiculita sob câmara úmida, para a recuperação das plantas. Em seguida aquelas que sobreviveram, com altura entre 15 e 20 cm, foram transplantadas, também, duas a duas para vasos plásticos contendo 4 litros de areia grossa lavada.

As plantas das três espécies utilizadas no experimento, foram aclimatadas na área experimental por duas semanas, sem a indução dos tratamentos, recebendo semanalmente 2.000 mL de solução nutritiva completa pH 6,0 utilizada por Pelacani (1992), a 1/3 da força. Dos 2.000 mL, apenas 1.600 mL ficavam retidos pelo substrato e os 400 mL excedentes foram coletados em um prato colocado sob cada vaso. Diariamente completava-se esses 400 mL com água destilada com o pH corrigido para 6,0.

Após o período de aclimação as plantas foram submetidas a três sistemas de cultivo (tratamentos): cultivo sem submersão (T1), com submersão do sistema radicular (T2) e submersão total da planta (T3), sendo que no tratamento três das plantas de seringueira apenas o primeiro lançamento foliar a partir do solo ficou submerso. As plantas cultivadas sem alagamento permaneceram nas mesmas condições em que estavam sendo cultivadas durante o período de aclimação, exceto pelo fato, que a partir da indução dos tratamentos as plantas passaram a receber semanalmente o mesmo volume de solução nutritiva, mas com os elementos em sua concentração máxima indicada na tabela 1 (força plena ou 3/3).

As trocas das soluções nutritivas foram feitas semanalmente, porém antes de proceder a troca da solução, o volume dos pratos era completado para 400 mL com água destilada pH 6,0, como descrito anteriormente, então este volume era retornado aos vasos coletando-se o excedente e retornando-o ao vaso três vezes. Em seguida,

descartava-se o conteúdo dos pratos e adicionava-se aos vasos 1.600 mL da nova solução, coletando o excedente nos pratos e retornando-o ao vaso três vezes para homogeneizar a solução (Lemos, 1996).

Antes de receberem a solução nutritiva os tanques, onde indusiu-se os tratamentos, foram cuidadosamente lavados e posteriormente foi aplicado 10 litros de uma solução de hipoclorito de sódio a 20% (v/v) em cada tanque. No dia em que foi colocada a solução nutritiva, também foram colocados, respectivamente nos tanques com 600 e 1800 L de solução nutritiva, 6 mL e 18 mL de um algicida comercial a base de cobre. A aplicação do algicida foi repetida semanalmente na tentativa de controlar o aparecimento de algas.

As plantas que foram submetidas a submersão do sistema radicular e submersão total da planta, foram colocadas em quatro tanques de concreto (300 cm x 100 cm x 60 cm), que haviam recebido previamente a solução nutritiva em dois níveis; 20 cm de altura (600 litros) e 60 cm de altura (1.800 litros). A solução nutritiva dos tanques foi preparada adicionando-se quatro vezes o volume da solução necessária a cada vaso contido no tanque para que as plantas contidas nos tanques tivessem a mesma quantidade de íons disponíveis, contudo a concentração destes íons foi diferente entre os tratamentos (Tabela 1). O volume de solução nutritiva foi calculado com base na altura dos vasos e das plantas, para que os tratamentos fossem induzidos corretamente.

Toda a área experimental foi protegida contra a radiação solar direta com uma malha de plástico preto que bloqueia em média 55% da radiação solar incidente e permitisse a aeração do local. Este procedimento não impediu que a água das chuvas atingissem os tanques, tão pouco foi controlado o volume d'água proveniente das chuvas, entretanto foi feito o acompanhamento do nível d'água nos tanques, para que as plantas submersas totalmente não fossem expostas ao ar e aquelas com o sistema radicular submerso não fosse submersa além do nível indicado no início do experimento.

As plantas foram colocadas aleatoriamente nos tanques e o experimento foi conduzido utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, seguindo um esquema fatorial 3X2, sendo três níveis de submersão e dois tempos de submersão. As

avaliações foram realizadas com três e quatro repetições, sendo que cada repetição foi constituída de um vaso com duas plantas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa ESTAT - Sistema Para Análises Estatísticas (V. 2.0), Universidade do Estado de São Paulo (UNESP), Campus de Jaboticabal (FCAV), Polo Computacional/Departamento de Ciências Exatas

TABELA 1 Composição e concentração dos elementos nas soluções nutritivas utilizadas no experimento.

*1 vaso com 2 plantas*

*12*

*24 plantas*

Elemento	Concentração em ppm		
	Tratamento 1 (2 L / vaso)	Tratamento 2 (600 L / tanque)	Tratamento 3 (1800 L / tanque)
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	77	4,62	1,71
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	28	1,68	0,62
P	31	1,86	0,68
K	97,5	5,85	2,16
Ca	40	2,4	0,88
Mg	24	1,44	0,53
S	32	1,92	0,71
Fe	1,12	0,0672	0,0249
B	0,27	0,0162	0,006
Mn	0,11	0,0066	0,0024
Zn	0,131	0,0079	0,0029
Cu	0,032	0,0019	0,00071
Mo	0,05	0,003	0,0011
Cl	1,77	0,1062	0,0393

## 3.2 Características avaliadas

### 3.2.1 Características morfo-anatômicas

Com relação a morfologia externa, a formação de lenticelas hipertrofiadas, raízes adventícias, epinastia, abscisão foliar e estado geral das plantas foram avaliados diariamente por meio de acompanhamento visual e anotação dos sintomas apresentados.

As avaliações anatômicas foram realizadas apenas nas plantas de ingá e virola, ao final do período experimental (45 dias), pois a seringueira é difícil de ser trabalhada quanto aos estudos anatômicos, principalmente em função do tempo disponível para fazê-lo. Como características anatômicas foram avaliadas a formação de aerênquimas em raiz, caule e folha, e o número, tamanho e localização dos estômatos nas folhas.

Os cortes, obtidos a mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear, foram clarificados com solução aquosa a 2% de hipoclorito de sódio, passados em água destilada (três vezes) para retirar o excesso de álcali e colocados em solução aquosa a 1% de ácido acético. Utilizou-se a coloração verde-iodo-acético e vermelho-congo, conforme Dop e Gantié (1907). Montaram-se lâminas semi-permanentes, utilizando como meio de montagem glicerina a 50% em água (Vasconcelos e Coutinho, 1960). Para aumentar a duração das lâminas, lutou-se as lâminas com uma solução de breu e cera de abelhas (1:3).

A localização e classificação, foi feita anteriormente a contagem do número e medição do tamanho dos estômatos, realizada segundo técnica de Laboriau, Oliveira, Salgado-Laboriau (1961) a partir de cortes paradérmicos feitos na região central do limbo de folhas localizadas no mesmo lançamento, sendo que em cada tratamento foram feitos 10 cortes em 5 folhas, isto é, dois por folha e, em cada corte, foram observados quatro campos totalizando 40 campos por tratamento. As técnicas de coloração e montagem das lâminas foram as mesmas descritas anteriormente.

Todas as contagens e observações foram feitas em um microscópio Olympus com câmara clara com aumento de 400X. As fotomicrografias foram realizadas em um microscópio Nikon com aumentos variados.

### 3.2.2. Características biométricas e biofísicas

A cada dois dias foi avaliado o comprimento foliar de três folhas recém lançadas de cada tratamento, nas três espécies, até a completa expansão da folha. Diariamente foram anotadas as temperaturas máxima e mínima no local do experimento. A cada época de coleta (14 e 45 dias após a indução dos tratamentos), as plantas foram divididas em lâminas foliares, caule mais pecíolos e raiz. Feito isso, foi avaliado o volume radicular ( $\text{cm}^3$ ), através da leitura do deslocamento da coluna d'água causado pela imersão das raízes em uma proveta de 500 mL, contendo 400 mL de água destilada, e o peso da matéria fresca de cada uma das partes (g MF). Então, cada uma das partes foi acondicionada em sacos de papel e levadas para secar em estufa com circulação de ar a  $70^\circ\text{C}$  até peso constante. Ao final do período experimental foram retiradas 5 folhas de cada tratamento para a determinação do potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ). as 13 horas, usando-se a Bomba de Pressão e os resultados foram expressos em MPa (Sholander et al. 1965).

### 3.2.3. Características bioquímicas

#### 3.2.3.1. Determinação de aminoácidos, proteínas solúveis totais e açúcares solúveis totais.

Em cada época de coleta foram retirados e congelados em nitrogênio líquido 1g de matéria fresca de folhas completamente expandidas e de raízes laterais. Ao final do período experimental as amostras foram maceradas num graal usando-se como extrator 10 mL de etanol 80%. Após a maceração, as amostras foram filtradas em 8 camadas de gaze e então, centrifugadas a 1.200g por 10 minutos, coletando-se o



sobrenadante para as quantificações de aminoácidos (AA), proteínas solúveis em etanol (PT<sub>1</sub>) e açúcares solúveis totais (AST). O precipitado foi ressuspendido em 4 mL de NaOH 0,1M e novamente centrifugado a 1.200g por 10 minutos, coletando-se o sobrenadante para a quantificação da proteína solúvel restante (PT<sub>2</sub>).

A determinação do teor de aminoácido foi feita pelo método da ninhidrina (Yemm e Cocking, 1955), utilizando os padrões de glicina para obter a curva padrão. Para a determinação da proteína solúvel total, foi utilizado o método idealizado por Bradford (1976) nos dois sobrenadantes separadamente, somando-se as concentrações (PT<sub>1</sub>+PT<sub>2</sub>). O padrão utilizado para a construção da curva padrão foi o BSA (Bovino Soro Albumina). Neste experimento não foi feita a separação das proteínas em relação aos aminoácidos pela precipitação com TCA, pois em pré-testes verificou-se que a interferência nas análises não foi significativa. A determinação do teor de açúcares solúveis totais foi feita pela reação colorimétrica da antrona com os grupos cromóforos formados pela desidratação dos açúcares em meio ácido a quente (Yemm e Willis, 1954), usando como padrão para construção da curva padrão a glicose. Os valores das concentrações foram expressos em mg. g<sup>-1</sup> MS, para AST e PT e μmol. g<sup>-1</sup> MS para AA.

### 3.2.3.2. Determinação do nitrogênio total

O nitrogênio total foi determinado em cada época de coleta pelo método de micro-Kjedahl na matéria seca de folha e raiz, previamente e moída em moinho tipo Wiley em peneira de 40 mesh. Os valores são expressos em % de nitrogênio em relação a matéria seca.

### 3.2.3.3. Atividade da redutase do nitrato

Em cada época de coleta foi realizado o ensaio *in vivo* da Redutase do Nitrato (RN; E.C. 1.6.6.1.) nas lâminas foliares das folhas totalmente expandidas e nas

raízes laterais, segundo Lemos, 1996, com modificações. De cada tratamento e de cada espécie tomou-se uma amostra de 500 mg das partes supra citadas, as quais foram cortadas em pedaços de mais ou menos 3 mm, e transferidas para beckers de 20 mL, contendo 5 mL de tampão fosfato de potássio 0,1M pH 7,5, onde as amostras permaneceram por mais ou menos 30 minutos até o momento de ser iniciado o ensaio. Neste instante, o tampão foi substituído pelo meio de incubação, que foi constituído do mesmo tampão acrescido de 1% de n-propanol (v/v) e 0,1M de  $\text{KNO}_3$ , então os beckers contendo o meio de reação foram submetidos a infiltração a vácuo durante 2 minutos por duas vezes. Em seguida foram transferidos para o banho-maria a 30 °C, com agitação ao abrigo da luz. Aos 10 e 40 minutos foram retiradas alíquotas de 500  $\mu\text{L}$ , adicionando-as a um meio de reação constituído por 1 mL de sulfanilamida 1% (p/v) em HCl 1,5N, adicionado previamente ao tubo de ensaio, e 1 mL de N-2-etilenodiamino di-HCl 0,02% (p/v) e 1,5 mL de água destilada, adicionados posteriormente a alíquota do meio de incubação.

A quantidade de nitrito formado no meio de incubação foi determinado colorimetricamente num espectrofotômetro BECKMAN DU 640B a 540 nm. A atividade da RN foi expressa em  $\text{mmol NO}_2^- \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{MS} \cdot \text{h}^{-1}$ .

A determinação do peso da matéria seca foi feita utilizando-se amostras paralelas de 1 g de tecido fresco, que foi levado a estufa a 70 °C com circulação de ar até atingir peso constante. O teor de água obtido foi extrapolado para a amostra utilizada no ensaio e a determinação do peso da matéria seca foi feito por uma regra de três simples.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Características morfológicas e anatômicas

Observou-se que entre o quinto e o sexto dia após a indução dos tratamentos, ocorreu o aparecimento de lenticelas hipertrofiadas no caule das plantas submetidas a submersão do sistema radicular e nas plantas de seringueira sujeitas ao alagamento até o primeiro lançamento foliar a partir do solo. As plantas dos demais tratamentos, incluindo as plantas sob submersão total não apresentaram a formação de lenticelas hipertrofiadas até o final do período experimental. Pelacani (1992) e Barbosa (1995), também observaram a formação de lenticelas hipertrofiadas nas plantas cultivadas sob alagamento do sistema radicular.

As plantas de ingá e virola cultivadas sob submersão total, não desenvolveram estas estruturas, pela inexistência de oxigênio no meio (anoxia), pois as lenticelas são formadas como uma estratégia para favorecer uma melhor troca gasosa entre as partes submersas e o meio aeróbico (Hook e Scholtens, 1980; Kawase, 1981; Tang e Kozlowiski, 1984). Estes resultados sugerem que o oxigênio, em baixas concentrações parece ser importante na indução da formação das lenticelas hipertrofiadas.

Até o final do período experimental, somente as plantas de ingá cultivadas com submersão do sistema radicular haviam apresentado a formação de poucas raízes adventícias esbranquiçadas, esponjosas e quebradiças, logo acima do colo.

O período experimental pode ter sido insuficiente para a formação destas estruturas, pois Sena Gomes e Kozlowiski (1988) observaram a formação de raízes

adventícias nas plântulas de seringueira em períodos mais longos de alagamento do sistema radicular, e Pelacani (1992), observou a formação de raízes adventícias em plantas de seringueira sob submersão do sistema radicular somente próximo do final do período experimental (55 dias).

Devido as condições experimentais, tais como temperaturas baixas e a ausência de trocas de solução nutritiva, neste trabalho a quantidade de oxigênio dissolvido na água, ao longo do período experimental, pode ter sido menor que nos trabalhos de Sena Gomes e Kozlowiski (1988) e Pelacani (1992) e assim como para a formação de lenticelas hipertrofiadas o oxigênio em baixas concentrações parece ser fundamental para o desenvolvimento de raízes adventícias.

Outras características morfológicas tais como, epinastia, abscisão e murchamento foliar, foram claramente notadas nas plantas de seringueira, a partir do oitavo dia após a indução dos tratamentos, nas plantas cultivadas com submersão do sistema radicular e submersão parcial da parte aérea. As outras duas espécies não apresentaram estas características.

Os cortes transversais característicos de cada região das plantas de ingá e virola [Figura 1 e 2 (A-F)], mostram a região do córtex da raiz e do caule sem qualquer indício da formação de aerênquimas, da mesma forma, no mesofilo a relação entre os parênquimas paliçádico e lacunoso, bem como a epiderme, não apresentaram modificações entre os tratamentos, embora muitos autores relatem a existência e a importância dos aerênquimas para a sobrevivência de espécies como (*Triticum aestivum* L.; *Cucumis sativum* L.; *Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) em ambientes inundados (Kawase, 1981; Topa e McLeod, 1986a; Laan e Blom, 1990; He Drew e Morgan, 1994; Drew et al., 1994; Pelacani, 1992; Barbosa, 1995).

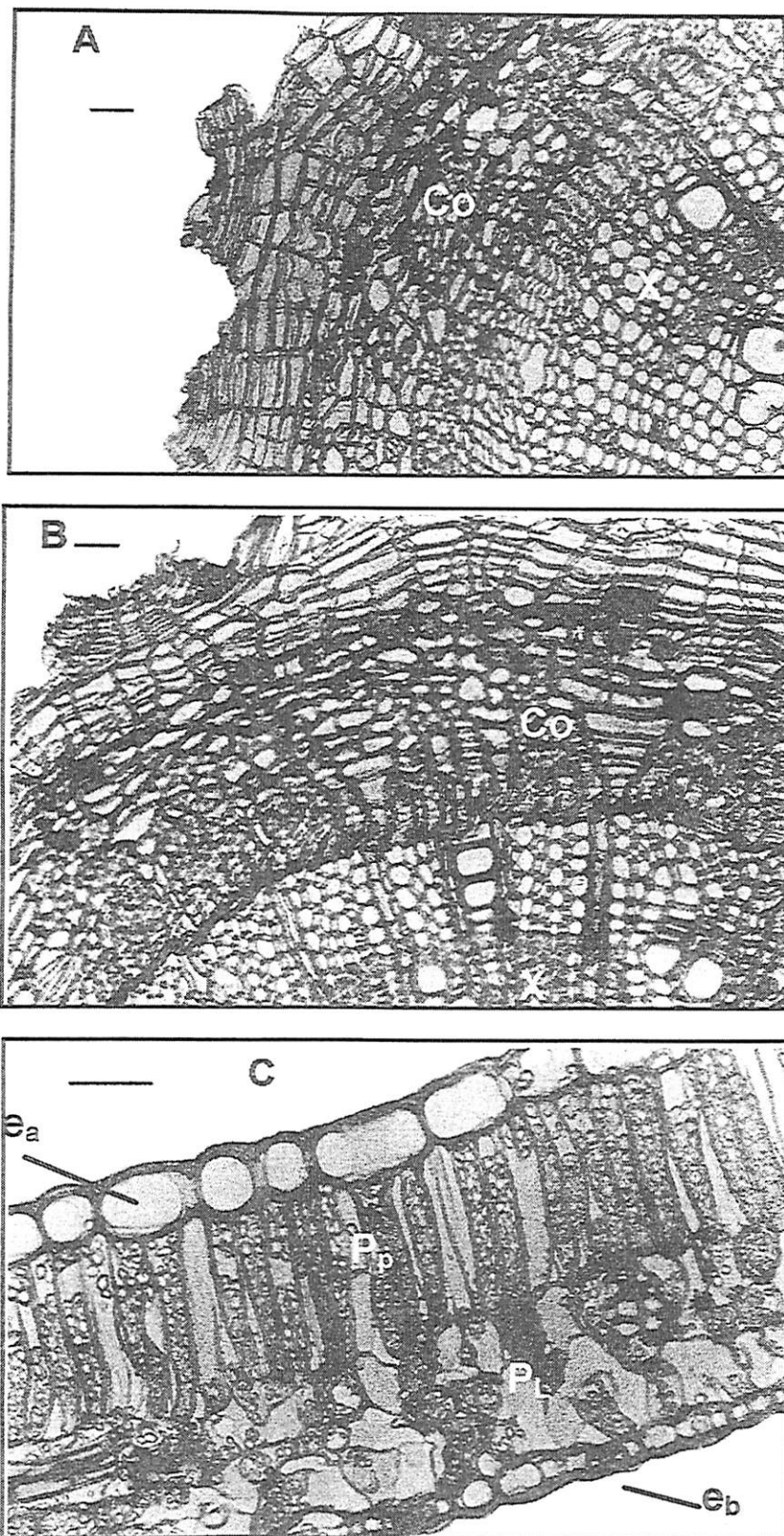


FIGURA 1 Cortes transversais de caule (A), raiz (B) e folha (C) de plantas de ingá submetidas ao alagamento. A barra ( — ) corresponde a 100 $\mu$ m. Co-córtex; X- xilema; P<sub>p</sub>- parênquima paliádico; P<sub>L</sub>- parênquima lacunoso; e<sub>a</sub>- epiderme adaxial; e<sub>b</sub>- epiderme abaxial.

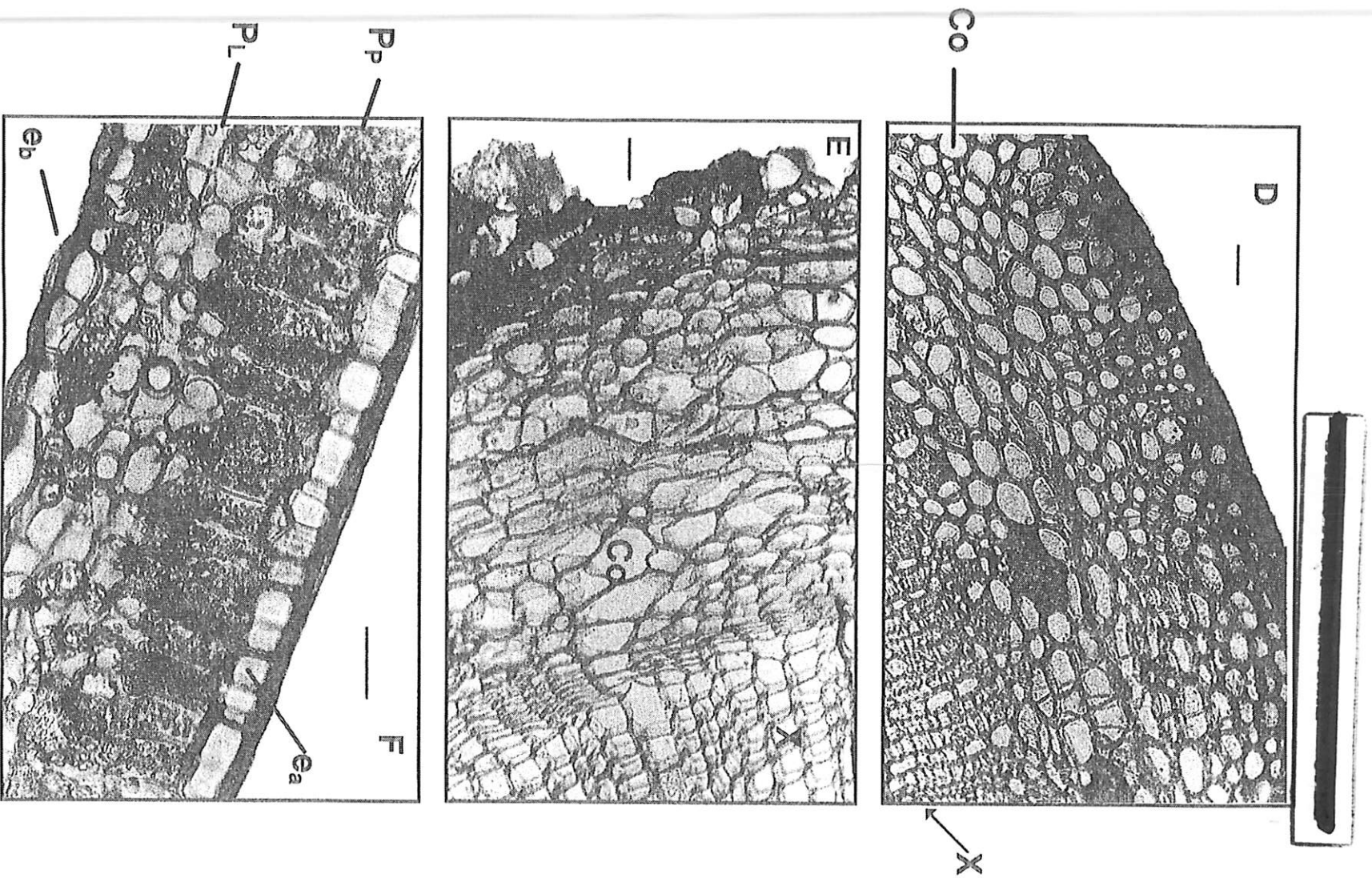


FIGURA 2 Cortes transversais de caule (D), raiz (E) e folha (F) de plantas de virola submetidas ao alongamento. A barra ( — ) corresponde a 100 $\mu$ m. Co- c6rtex; X- xilema; P<sub>p</sub>- par6nquima pali6c6dico; P<sub>L</sub>- par6nquima lacunoso; e<sub>a</sub>- epiderme adaxial; e<sub>b</sub>- epiderme abaxial.

Quanto aos estômatos observou-se que não houve diferença no diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) entre os tratamentos nas plantas de ingá e virola. Com relação ao número de estômatos por milímetro quadrado observou-se uma redução nas plantas de virola totalmente submersas e um aumento em plantas de ingá submersas parcialmente e totalmente (Tabela 2). Em plantas de ingá esta diferença pode ter sido devida a maior área foliar das plantas cultivadas sem submersão (Figura 3), com relação a virola, o aumento no número de estômatos por milímetro quadrado acompanhou o crescimento das folhas, indicando talvez uma melhor taxa fotossintética, como o que ocorreu no experimento de Sun et al. (1995).

TABELA 2 Valores médios do número, diâmetro polar e equatorial dos estômatos das plantas de ingá e virola, submetidas ao cultivo sem submersão (T1), com submersão do sistema radicular (T2) e submersão total das plantas (T3).

Espécie	Tratamento	Número/mm <sup>2</sup>	DP ( $\mu$ m)	DE ( $\mu$ m)
Ingá	T1	192b*	26,0a	13,41a
	T2	255a	28,1a	14,02a
	T3	296a	27,8a	17,07a
Virola	T1	162a	26,8a	14,63a
	T2	210a	25,0a	16,46a
	T3	111b	26,2a	15,85a

(\*) - As médias seguidas pelas mesmas letras, em cada espécie e nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Barbosa (1995), trabalhando com espécies florestais amazônicas sob submersão do sistema radicular, observou alterações significativas apenas em algumas das espécies estudadas, sem uma tendência uniforme quanto ao número e tamanho dos estômatos, ficando as diferenças na maioria das espécies por conta da variabilidade genética destas espécies.

A não manifestação de algumas características de tolerância a hipoxia/anoxia nas espécies estudadas, como aerênquimas e raízes adventícias pode ser devido a baixa disponibilidade e/ou ausência de oxigênio no meio e cultivo, enquanto que em outros trabalhos (Sena Gomes e Kozlowiski, 1988; Sun et al., 1995), devido as trocas diárias de água o estresse hipóxico pode ter sido menos severo. Nos experimento de Pelacani (1992) e Barbosa (1995), apesar de não haver a troca de solução nutritiva durante todo o período experimental a fina lâmina d'água pode, apesar dos testes preliminares realizados, permitir uma aeração da zona superficial da água pelo simples movimento dos vasos, enquanto que nos tanques esta possibilidade foi menor.

Apesar da ausência de aerênquimas nas três espécies e de raízes adventícias em duas das três espécies, nenhuma planta morreu durante o período experimental (45 dias), provavelmente porque o hipertrofiamento das lenticelas foi suficiente para permitir a aeração interna e/ou liberar os produtos tóxicos da respiração anaeróbica, como sugerido por Pelacani (1992).

## 4.2 Características biométricas e biofísicas

### 4.2.1 - Comprimento foliar

O alagamento do sistema radicular, bem como a submersão parcial da parte aérea das plantas reduziram significativamente o comprimento foliar das plantas de seringueira, enquanto que nas outras duas espécies apenas o cultivo sob submersão total afetou significativamente o comprimento foliar. Nas plantas de ingá e virola cultivadas sob submersão total, a paralisação no crescimento das plantas (Figura 3) pode ter contribuído para a tolerância à submersão, tal como ocorre nas plantas de floresta tropical úmida (Barrios e Herrera, 1994). Estes resultados, também, acompanham aqueles obtidos por Pelacani (1992) para a seringueira e o ingá. Por outro lado, Barbosa (1995), também encontrou variabilidade no comportamento fenológico entre as espécies estudadas por ele.



Smit, Stachoniak e Van (1989), observaram que a extensibilidade da parede celular é reduzida em condições de baixa concentração de oxigênio, enquanto que Vu e Yelenosky (1991), verificaram que sob estas condições ocorre um acúmulo de ácido abscísico (ABA), e Jackson e Drew (1984), observaram um aumento na concentração de etileno. Estes dados corroboram com a redução do comprimento foliar observado nas plantas de seringueira cultivadas sob submersão do sistema radicular e submersão parcial da parte aérea, e nas plantas de ingá e virola cultivadas sob submersão total. A abscisão foliar das folhas submersas verificada nas plantas de seringueira cultivadas com submersão parcial da parte aérea, também pode ser devida ao acúmulo de ABA, juntamente com o etileno.

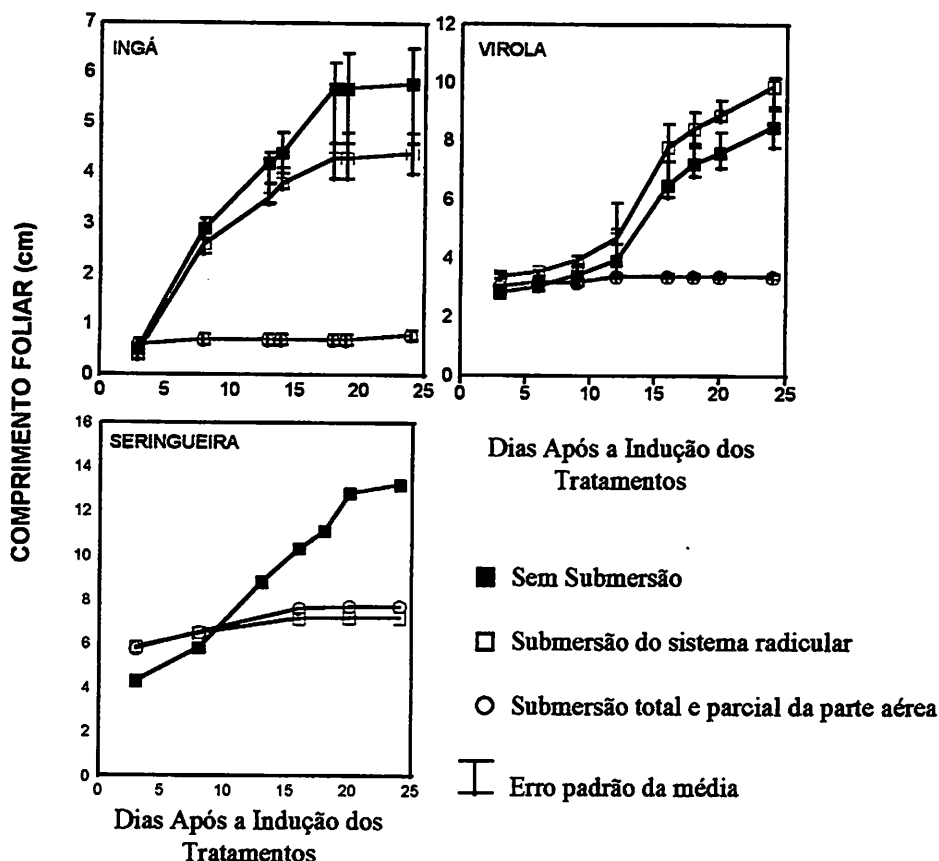


FIGURA 3 Comprimento foliar de plantas de ingá, virola e seringueira em função dos níveis de submersão .T1-cultivo sem submersão; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Médias de três repetições. As barras indicam o erro padrão das médias.

Outrossim, a paralisação do crescimento das plantas de seringueira cultivadas nos dois níveis de submersão e das plantas de ingá e virola submetidas a submersão total pode ter sido uma estratégia decisiva para a sobrevivência destas plantas até o final do período experimental (45 dias).

#### 4.2.2. Volume radicular:

A baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo reduziu significativamente o volume do sistema radicular das as plantas de seringueira nos dois tratamentos sob submersão, quando comparados com as plantas cultivadas sem submersão aos 14 DAIT, enquanto que aos 45 DAIT esta diferença foi reduzida entre as plantas cultivadas sem submersão e com submersão do sistema radicular. As plantas de ingá e virola apresentaram um comportamento semelhante, onde só houve diferença estatística entre os tratamentos aos 45 DAIT, com as plantas do tratamento sem submersão apresentando o maior volume radicular, seguido dos dois tratamentos com submersão sem diferença estatística nas plantas de ingá enquanto que nas plantas de virola, aquelas submetidas a submersão do sistema radicular apresentaram um maior volume deste, quando comparadas com as plantas sob submersão total (Figura 4).

Ao longo do período experimental foi observada, em todas as espécies, a morte de parte do sistema radicular original, nas plantas submetidas a submersão do sistema radicular e submersão total, preferencialmente as raízes laterais mais profundas. Porém, a formação de novas raízes secundárias, terciárias e etc., mais superficiais, proporcionou a manutenção do volume radicular em todas as plantas, exceto nas plantas de virola sob submersão total, onde o crescimento das novas raízes foi menor. Também foi observado que apenas as raízes laterais do sistema radicular original morreram, enquanto que a raiz principal continuou viva em todas as plantas e em todos os tratamentos até o final do período experimental. A manutenção preferencial das raízes superficiais e das raízes formadas após a indução dos

tratamentos nas três espécies foi devido, provavelmente, ao hipertrofiamento das lenticelas que abasteciam estas raízes com oxigênio, como sugerido por Topa e McLeod (1986a), e a ausência de aerênquimas que dificultou a difusão do oxigênio até as raízes mais profundas.

Apesar de não aumentar o volume do sistema radicular, provavelmente, a formação destas novas raízes superficiais contribuiu para uma maior eficiência do sistema radicular quanto a absorção de água e nutrientes nas plantas submersas parcial e totalmente.

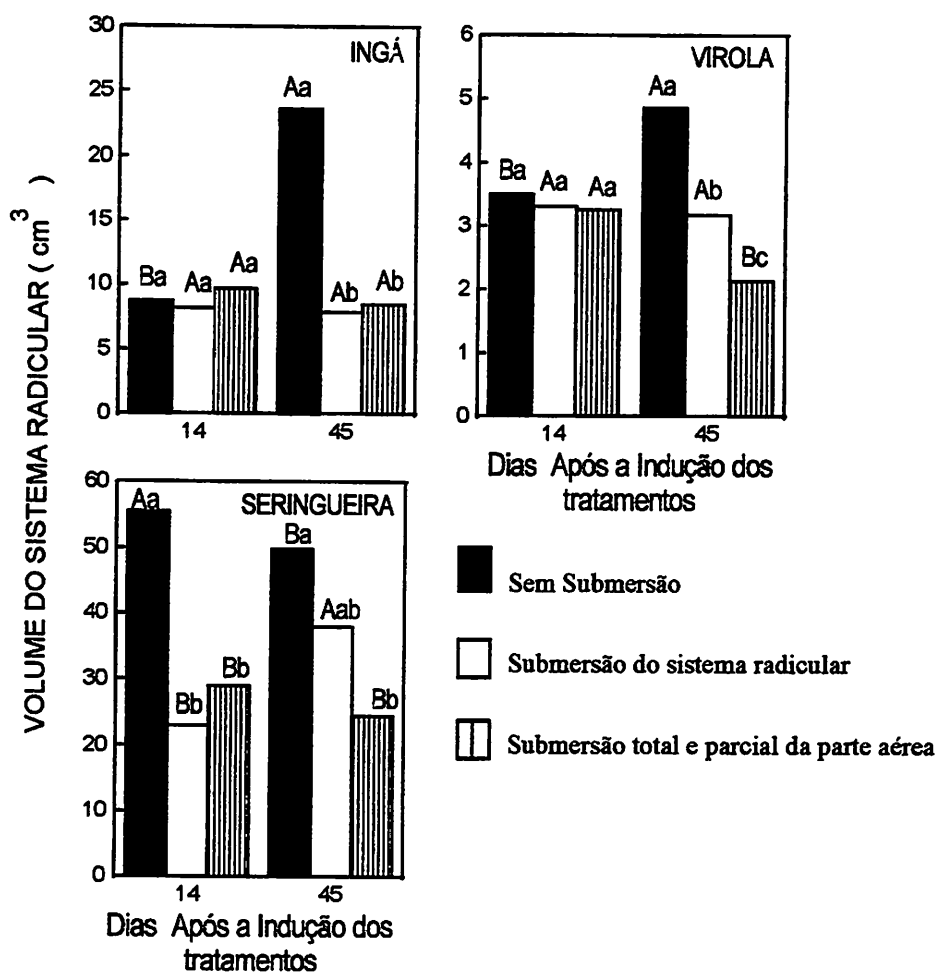


FIGURA 4 Volume radicular de plantas de ingá, virola e seringueira em função do tempo e dos níveis de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey entre o tempo e os níveis de submersão, respectivamente.

### 4.2.3 Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ )

Uma das características das plantas submetidas a baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo é desenvolvimento de potenciais hídricos baixos (Osubi e Orundina, 1987). Isto pode ser observado nas plantas de ingá e virola que tiveram mais uma vez comportamento semelhante, onde o  $\Psi_f$  as 13:00h foi, significativamente, reduzido naquelas plantas cultivadas sob submersão do sistema radicular e submersão total da planta (Figura 5). A seringueira não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Estes resultados sugerem que a epinastia e a diminuição da área foliar, proporcionaram a manutenção do turgor das células nas plantas de seringueira (Bradford e Yang, 1981).

As avaliações foram feitas as 13:00h, visando evidenciar a diferença entre os tratamentos, devido a maior demanda por água neste período, ao passo que se as avaliações fossem feitas no "predawn" estas diferenças seriam menores, uma vez que as plantas tendem a igualar o seu potencial hídrico com o do solo neste período.

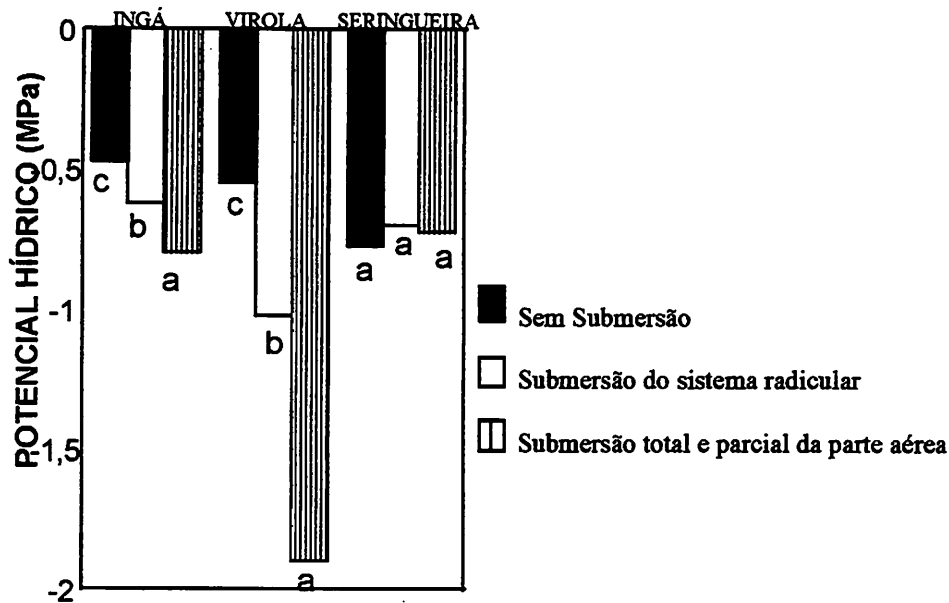


FIGURA 5 Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) as 13:00h, no final do período experimental (45 dias), em função do nível de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2-cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras iguais indicam que as médias não tiveram diferença estatística a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Todas as características biométricas e biofísicas corroboram com os dados obtidos para a produção de matéria seca ao longo do período experimental (Tabela 3).

#### 4.3 Características bioquímicas

A tolerância e/ou resistência a baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo pode ser devida as adaptações morfo-anatômicas, ou as adaptações metabólicas, ou ambas, dependendo da espécie e do nível e duração do estresse anaeróbico (Harrington, 1987). Diante disto, neste trabalho foi realizada a quantificação dos açúcares solúveis totais (AST), indicativo do estado energético, e quantificação de aminoácido (AA) e proteínas solúveis totais, indicativos da lise proteica e síntese de novas enzimas.

##### 4.3.1 Açúcares solúveis totais (AST)

A baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo não induziu alteração na concentração de AST nas raízes das plantas de ingá até aos 14 DAIT, enquanto que ao final do período experimental, todos os tratamentos tiveram maiores concentrações de AST quando comparados com os mesmos aos 14 DAIT, sendo que nas plantas cultivadas sob submersão total a concentração foi maior seguido daquelas sob submersão do sistema radicular e sem submersão, entretanto nas folhas desta espécie não houve diferença entre os tratamentos ao longo do período experimental, mas houve diferença entre os tempos de indução dos tratamentos, onde aos 45 DAIT a concentração de AST foi maior (Figura 6).

Nas plantas de virola, a concentração de AST nas raízes foi maior nas plantas submetidas aos tratamentos sob submersão tanto aos 14 quanto aos 45 DAIT, sendo que apenas aos 14 DAIT foi observada diferença significativa entre as plantas cultivadas sob submersão. Nas folhas foi observado a mesma resposta entre os tratamentos tanto aos 14 com aos 45 DAIT, sendo que houve uma ligeira diminuição

nos teores de AST aos 45 DAIT nas folhas em todos os tratamentos em relação aos 14 DAIT, principalmente com relação aos tratamentos sob submersão (Figura 6).

Nas raízes das plantas de seringueira cultivadas sob submersão do sistema radicular e submersão parcial da parte aérea, os teores de AST foram sempre maiores com relação àqueles encontrados nas plantas sem submersão, e diferiram entre si apenas aos 14 DAIT, devido, provavelmente, a similaridade entre os tratamentos. Com relação as folhas, as plantas cultivadas sem submersão tiveram os maiores teores de AST, ficando mais evidente aos 45 DAIT, enquanto que nos outros dois tratamentos as plantas cultivadas sob submersão do sistema radicular apresentaram maior teor de AST apenas aos 14 DAIT, igualando-se aos 45 DAIT às plantas cultivadas com submersão parcial das folhas, que apresentaram um maior teor de AST aos 45 DAIT, quando comparado aos 14 DAIT, sendo isto o inverso do que ocorreu com as plantas cultivadas sob submersão do sistema radicular (Figura 6).

Além de uma possível osmorregulação, o aumento no teor de AST nas raízes das plantas sob os dois níveis de submersão em todas as espécies pode indicar uma distribuição diferenciada dos AST beneficiando estas raízes em relação as folhas, visando a formação de novas raízes melhor adaptadas a nova condição de cultivo, sugerindo também que para estas plantas as raízes desempenham um papel mais importante que as folhas na tolerância a baixa disponibilidade de oxigênio no meio, principalmente aos 45 DAIT.

Por outro lado, a igualdade, ou mesmo a tendência desta, nos teores de AST nas folhas das plantas submersas total e parcialmente com relação as plantas cultivadas sem submersão de ingá e virola, sugere que há uma manutenção da capacidade energética das folhas, isto é, as plantas submersas total e parcialmente aparentemente continuam tendo condições para assimilar e metabolizar novos compostos, o que explicaria a manutenção do crescimento foliar nas plantas <sup>de</sup> ingá e virola submetidas a submersão do sistema radicular, enquanto que nas plantas de seringueira, apesar dos teores de AST mais elevados, a maior concentração nas plantas sem submersão justificaria, em parte, a redução brusca no comprimento foliar das plantas cultivadas sob submersão (Figura 3).

Todavia, não é possível afirmar que nas plantas de ingá e virola estava ocorrendo a assimilação de novos compostos, principalmente nas plantas totalmente submersas, pois não foi avaliado neste trabalho a fotossíntese.

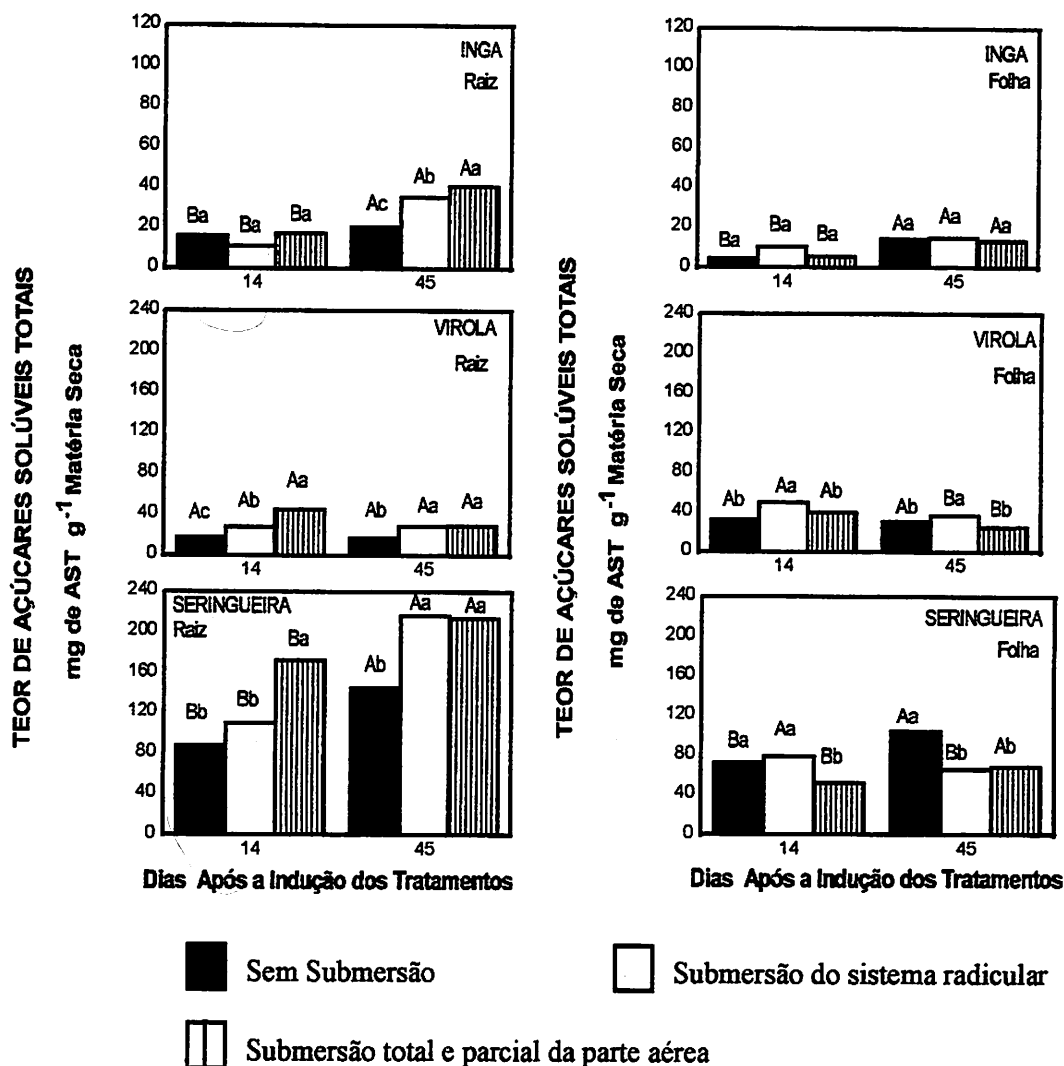


FIGURA 6 Teor de açúcares solúveis totais na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença a 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de submersão, respectivamente.

#### 4.3.2 Aminoácido e proteína total

Nas raízes das plantas de ingá cultivadas sob submersão total o teor de aminoácidos (AA) foi sempre maior nas plantas cultivadas sob submersão total seguido daquelas cultivadas sob submersão do sistema radicular, aos 14 DAIT e dos dois tratamentos em igualdade aos 45 DAIT, houve diferença entre os tempos de indução dos tratamentos apenas nas plantas cultivadas sem submersão. Nas folhas, houve diferença entre os tempos de indução dos tratamentos, de maneira invertida, entre os dois tratamentos sob submersão, enquanto que entre os tratamentos apenas aos 45 DAIT ocorreu uma diferença significativa, onde as folhas das plantas sob submersão do sistema radicular apresentaram o maior teor de AA (Figuras 7). Com relação ao teor de proteínas totais (PT), nas raízes das plantas sob submersão foram encontrados sempre os maiores teores de PT, sendo que aos 14 DAIT as plantas sob submersão total apresentaram maiores valores que as plantas sob submersão do sistema radicular e aos 45 DAIT houve a igualdade entre os valores, devido a redução no teor de PT das primeiras aos 45 DAIT. Nas folhas foi observado o mesmo comportamento que nas raízes, porém com teores mais elevados de PT (Figura 8).

Nas raízes das plantas de virola, aos 14 DAIT as plantas sob submersão total apresentaram o maior teor de AA seguido dos demais tratamentos em sem diferença significativa, enquanto que aos 45 DAIT as plantas cultivadas sem submersão apresentaram o maior teor de AA, tanto pelo aumento do teor nestas plantas quanto pelo decréscimo nas plantas dos outros dois tratamentos quando comparados com os teores aos 14 DAIT. Nas folhas a tendência foi a mesma nas duas datas de avaliação, sendo observado um aumento entre os tempos de indução dos tratamentos nas plantas cultivadas sob submersão total, o que acarretou uma diferença significativa entre este tratamento e o sem submersão em relação ao das plantas cultivadas sob submersão do sistema radicular (Figuras 7). Com relação ao teor de proteínas totais (PT), nas raízes não houve diferença entre os tratamentos aos 14 DAIT, enquanto que aos 45 DAIT as plantas sem submersão apresentaram maiores teores em relação aos 14 DAIT, por outro lado, as plantas sob submersão total apresentaram menores teores aos 45 DAIT em relação aos 14 DAIT. Isto acarretou



numa diferença significativa entre os dois tratamentos, com as plantas sob submersão do sistema radicular ficando num patamar intermediário (Figura 8).

Nas raízes das plantas de seringueira houve um aumento na concentração de AA em relação ao tempo de indução dos tratamentos aos 45 DAIT nas plantas sob submersão, ocasionando uma diferença significativa entre esses dois tratamentos e aquele sem submersão aos 45 DAIT. Nas folhas os valores não se alteraram significativamente em nenhum momento (Figuras 7). Com relação ao teor de proteínas totais (PT), nas raízes das plantas de seringueira ocorreu um aumento no teor de PT nos tratamentos sob submersão aos 45 DAIT, mas que não ocasionou diferenças significativas entre os tratamentos. Nas folhas, as plantas sem submersão sempre apresentaram os maiores valores, sendo equivalentes aos das plantas sob submersão total e significativamente maiores que os das plantas cultivadas sob submersão do sistema radicular aos 14 DAIT e significativamente superior aos dois tratamentos aos 45 DAIT, enquanto que não houve diferença entre os dois tratamentos sob submersão (Figura 8).

Na maioria dos casos os teores de aminoácidos (AA) crescem, devido a hidrólise proteica, enquanto que os teores de proteínas totais (PT) crescem em detrimento dos teores de aminoácidos, uma vez que os AA são as unidades básicas das proteínas (Turner, 1990). Nas espécies aqui estudadas, esta tendência natural não foi, claramente observada, (Figuras 7 e 8). O maior acúmulo de AA nas raízes das plantas de ingá submetidas a submersão total, que coincidiu com a deterioração do sistema radicular destas plantas (14 DAIT), pode indicar uma possível remobilização a partir das raízes senescentes, enquanto que na virola o comportamento foi o inverso, pela primeira vez. Nas plantas de seringueira o metabolismo dos AA parece não sofrer qualquer alteração do ponto de vista quantitativo.

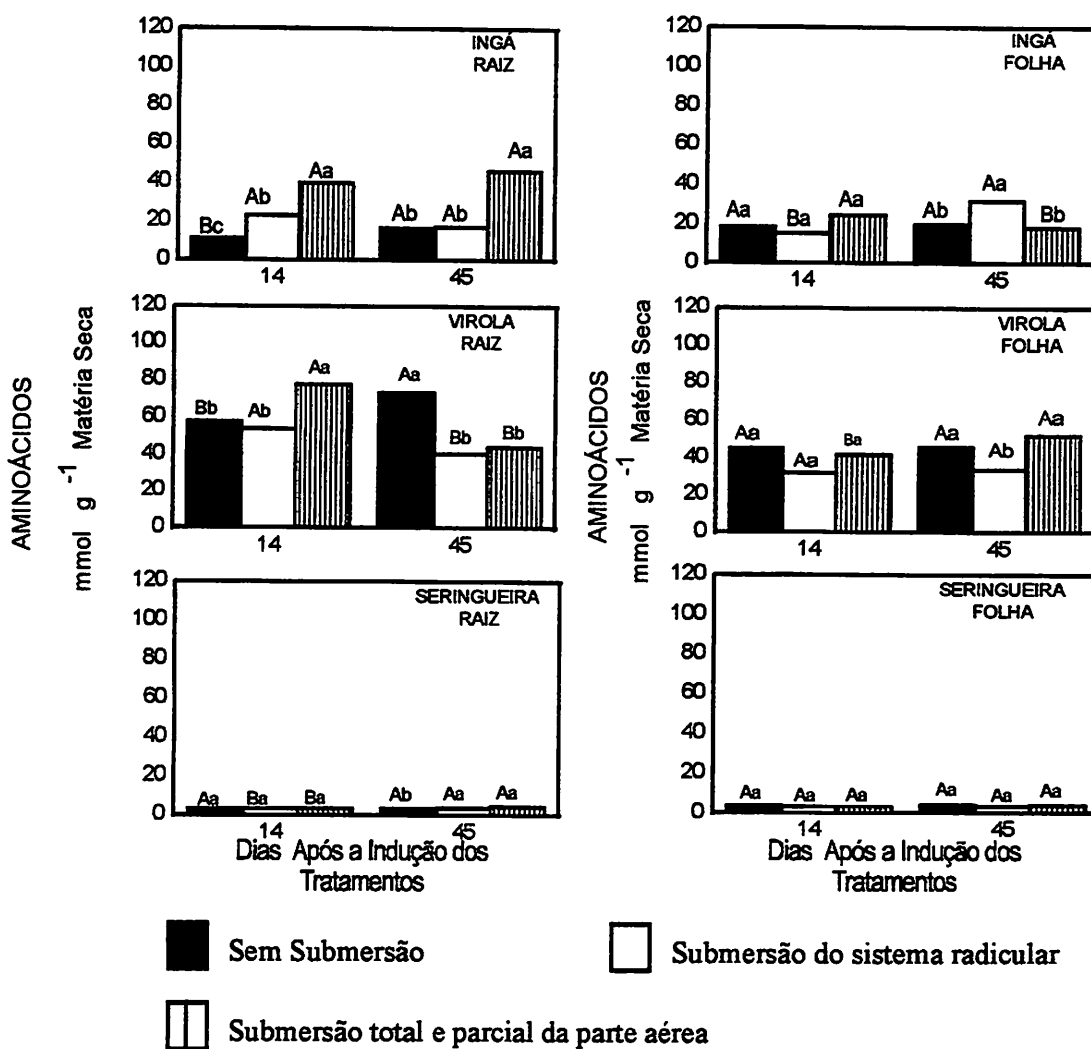


FIGURA 7 Teor de aminoácidos na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2-cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença a 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de submersão, respectivamente.

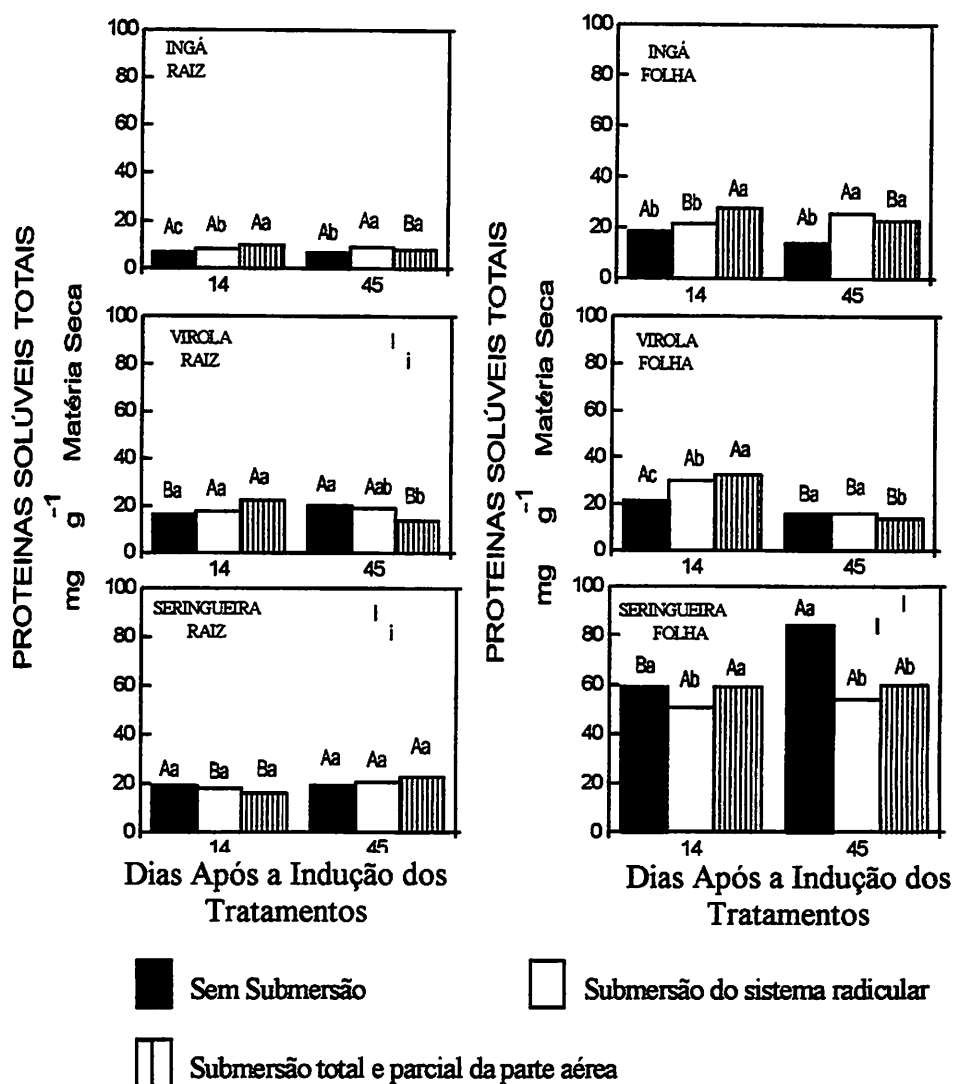


FIGURA 8 Teor de proteínas solúveis totais na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença a 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de submersão, respectivamente.

Nas plantas de ingá e virola a manutenção dos teores de PT, reforçam a idéia de manutenção, nestas plantas, das condições para a assimilar e metabolizar novos compostos sugerida no item 4.3.1, principalmente nas plantas de ingá e virola submetidas a submersão do sistema radicular, onde o crescimento foliar foi mantido em relação as plantas não submersas. As plantas de seringueira sob submersão do sistema radicular e submersão parcial da parte aérea, também aqui, não demonstraram a capacidade de manter os mesmos níveis de PT das plantas cultivadas sem submersão no decorrer do período experimental, indicando serem mais sensíveis ao tempo prolongado de submersão.

#### 4.4 Concentração de nitrogênio total

A concentração do nitrogênio total (NT) nas raízes das plantas de ingá não teve diferença significativa entre os tratamentos aos 14 DAIT, enquanto que aos 45 DAIT, devido ao aumento na concentração do NT das plantas sem submersão houve uma diferença significativa entre este tratamento e os demais. Nas folhas foi observado o mesmo fato, sendo que aqui houve uma diferença significativa, também, entre os tratamentos sob submersão, onde as plantas sob submersão do sistema radicular apresentaram valores mais elevados (Figura 9).

Nas plantas de virola o comportamento foi semelhante ao apresentado pelas plantas de ingá, sendo que aqui as raízes das plantas sob submersão total apresentaram aos 45 DAIT valores significativamente menores tanto em relação aos 14 DAIT, quanto aos demais tratamentos 45 DAIT e estes não diferiram entre si, e nas folhas as plantas sob submersão do sistema radicular tiveram aos 45 DAIT valores significativamente inferiores àqueles observados aos 14 DAIT (Figura 9).

Nas raízes das plantas de seringueira a concentração do NT não teve diferença entre os três tratamentos até o final do período experimental. Nas folhas, foi significativamente maior nas plantas cultivadas com submersão parcial da parte aérea até os 14 DAIT, enquanto que aso 45 DAIT as plantas sem submersão apresentaram a

maior concentração de NT, havendo uma redução significativa da concentração nas plantas sob submersão parcial da parte aérea em relação aos 14 DAIT. (Figura 9).

O pico na concentração do nitrogênio total nas folhas das plantas sob submersão parcial da parte aérea aos 14 DAIT sugere que, provavelmente, exista uma remobilização deste elemento a partir das folhas senescentes nos primeiros 14 DAIT, enquanto que aos 45 DAIT o nitrogênio remobilizado, provavelmente estava localizado no caule, daí a diminuição na concentração entre o 14º e o 45º DAIT, nas plantas de seringueira.

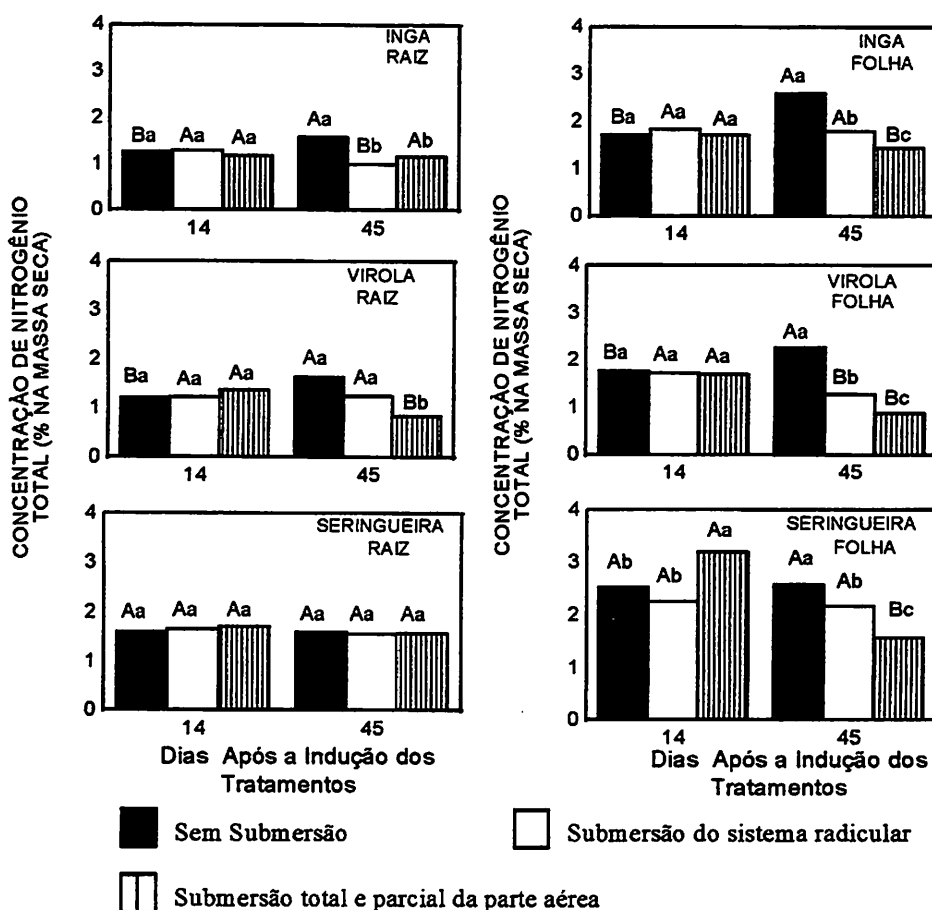


FIGURA 9 Concentração de nitrogênio total na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença a 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de submersão, respectivamente.

Esta hipótese é apoiada pelo fato de que nas plantas de seringueira sem submersão e com submersão do sistema radicular, não houve diferença na concentração do nitrogênio total ao longo do período experimental (14 e 45 DAIT), mostrando que a assimilação do nitrogênio foi reduzida nesta espécie, provavelmente em função da relação nitrato/amônio utilizado neste experimento (Lemos, 1996), e/ou pelas baixas temperaturas noturnas observadas durante o período experimental.

A menor concentração de NT, nas folhas e raízes das plantas de ingá e virola submetidas a submersão sugere que, apesar da manutenção dos teores de PT nestas espécies, a assimilação de nitrogênio foi afetada pelo estresse anaeróbico.

#### 4.5 Atividade da redutase do nitrato

A atividade da redutase do nitrato (ARN) nas raízes das plantas de ingá foi praticamente nula nos tratamentos sob submersão e foi significativamente reduzida aos 45 DAIT em relação aos 14 DAIT nas plantas sem submersão. Nas folhas, a ARN também foi sempre maior nas plantas sem submersão, contudo houve uma diferença significativa entre as plantas cultivadas sob submersão do sistema radicular e submersão total aos 14 DAIT, enquanto que aos 45 DAIT, apesar de significativamente menor que aos 14 DAIT, só ocorreu ARN nas plantas sem submersão (Figura 10).

Nas raízes das plantas de virola, apesar de menor estatisticamente, houve uma ARN substancial aos 14 DAIT, que foi menor nestes dois tratamentos aos 45 DAIT, mas em contrapartida foram significativamente maior que as plantas sem submersão. Nas folhas, as plantas sem submersão tiveram sempre os maiores valores para a ARN, mas, também aqui as plantas sob submersão apresentaram valores consideráveis de ARN até os 14 DAIT, contudo aos 45 DAIT a ARN inexistiu nestes tratamentos e foi significativamente menor no tratamento sem submersão (Figura 10).

Nas raízes das plantas de seringueira a ARN foi significativamente maior aos 14 DAIT nas plantas sem submersão e inexistiu aos 45 DAIT em todos os tratamentos. Nas folhas das plantas de seringueira não foi observada em nenhum momento a ARN.

A ARN sob condições de baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo é bastante discutida, existindo três correntes de pensamento: uma sugere que ocorre o aumento na ARN sob tais condições (Drew, 1988; Glaab e Kaiser, 1993; Reggiani et al., 1993; Fox, Kennedy e Rumpho, 1994; Blom et al., 1994), sendo este aumento atribuído a falta de competição com o oxigênio pelo  $\text{NADH}_2$ , em função da paralisação da cadeia transportadora de elétrons C.T.E., a oxigenação da rizosfera, mantendo a nitrificação e o fluxo de  $\text{NO}_3^-$  para as raízes e a competição da RN com a ADH pelo  $\text{NADH}_2$ ; a segunda corrente sugere que em nestas condições ocorre uma redução na ARN (Reggiani et al., 1993) e a terceira corrente sugere que não ocorre qualquer alteração na ARN (Reggiani et al., 1993).

Nas condições experimentais específicas deste trabalho pode-se atribuir, em parte, a menor ARN nas plantas de seringueira em todos os tratamentos, quando comparados com os valores encontrados na literatura e nas plantas de ingá sob submersão total e parcial, a baixa concentração exógena de nitrato para a seringueira (Dellú Filho, 1995; Lemos, 1996) e ingá, Pelacani (1992). Este último autor encontrou valores para a ARN nas raízes de ingá de plantas cultivadas com alagamento do sistema radicular em vasos, 3 vezes maiores que os valores das plantas sob submersão do sistema radicular deste trabalho. As baixas temperaturas ocorridas durante o período experimental (Figura 11), também assumem um papel importante neste contexto, pois os três últimos autores acima citados trabalharam em sala de crescimento com uma amplitude térmica menor do que a verificada em condições de campo onde o presente trabalho foi desenvolvido.

A ARN nas plantas de virola, tanto nas folhas quanto nas raízes, parecem ter sido afetadas somente pelas baixas temperaturas ocorridas no final do período experimental, pois até os 14 DAIT a ARN manteve-se alta, quando comparada com as plantas de ingá.

Uma terceira possibilidade para a diminuição da ARN nas três espécies aos 45 DAIT, seria a redução da capacidade de produção de esqueletos de carbono em função de uma queda na taxa fotossintética, ou mesmo pela diminuição da carga energética da planta devido ao metabolismo anaeróbico.

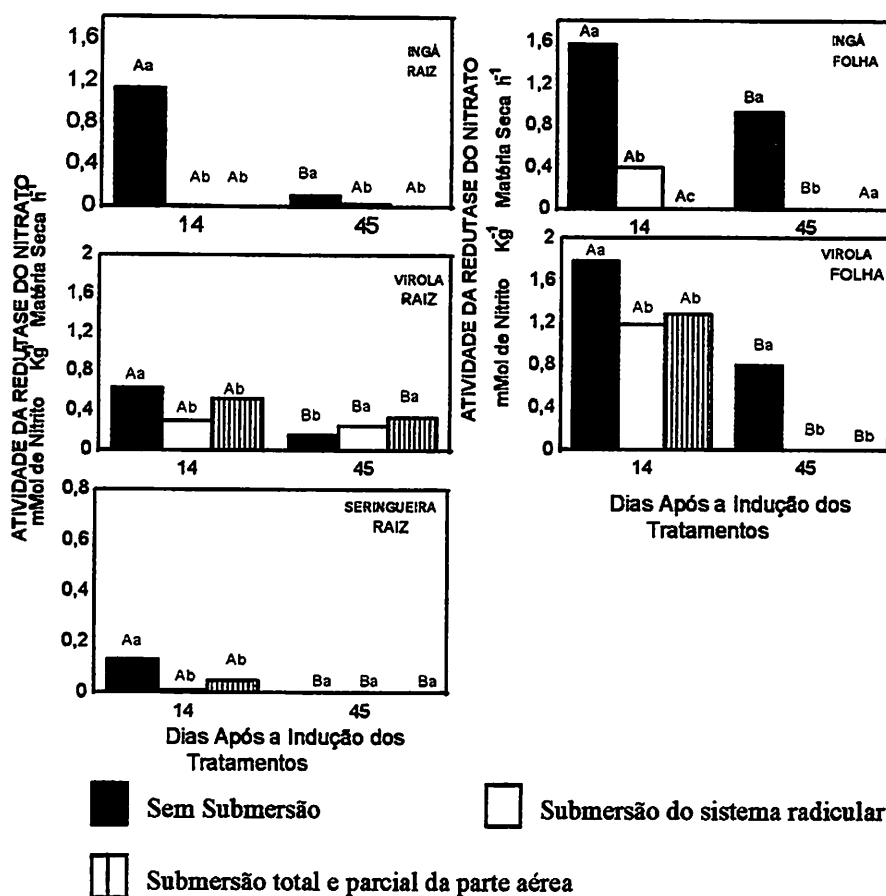


FIGURA 10 Atividade da redutase do nitrato na raiz e folha de plantas de ingá, virola e seringueira, em função do tempo e níveis de submersão. T1-cultivo sem submersão; T2- cultivo com submersão do sistema radicular; T3- cultivo com submersão total e parcial da parte aérea das plantas de seringueira. Média de quatro repetições. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam que não há diferença a 5% de probabilidade pelo testes de Tukey entre o tempo e os níveis de submersão, respectivamente.

#### 4.6. Comentários finais

Este experimento demonstrou que espécies do mesmo grupo ecológico como o ingá e a virola, apesar de serem de regiões distintas, tendem a se comportar de maneira semelhante em todos os aspectos analisados.

Constatou-se que a caracterização do nível de estresse com o qual se está trabalhando é de fundamental importância para a comparação de resultados, pois



mesmo trabalhando com as mesmas espécies, neste trabalho foram encontradas respostas ligeiramente diferentes daquelas encontradas em outr trabalho (Pelacani, 1992). Daí a necessidade da mensuração da concentração de oxigênio dissolvido na água, luminosidade e concentração dos nutrientes do ambiente de cultivo. É imperativo que se faça estas medições em trabalhos desta natureza, bem como testar no campo os resultados obtidos com as espécies cultivadas em condições semi controlados.

A assimilação do nitrogênio em condições de baixa disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo tem que ser analisada de maneira mais detalhada, pois este é um elemento chave para a sobrevivência e/ou crescimento das plantas sob submersão total ou parcial. A atividade das principais enzimas envolvidas na sua fixação e assimilação, bem como de suas principais isoformas devem ser determinadas, especialmente o sistema GS/GOGAT e a GDH.

As características morfológicas e anatômicas devem ser determinadas durante períodos regulares no decorrer do experimento em função da altura e duração da submersão, pois deve-se ter sempre em mente que a tolerância a submersão pode ser devida a características morfológicas e anatômicas, metabólicas ou ambas.

## 5 CONCLUSÕES

No cultivo com inundação do sistema radicular, as plantas das três espécies manifestaram o hipertrofiamento das lenticelas como uma característica de adaptação morfológica e anatômica a baixa disponibilidade de oxigênio no meio.

A partir do 30º DAIT houve o desenvolvimento de raízes adventícias na porção basal do caule, logo acima do colo somente nas plantas de ingá cultivadas com inundação do sistema radicular.

As plantas de virola e ingá cultivadas com submersão total não desenvolveram qualquer tipo de estrutura morfo-anatômica em resposta a submersão.

Não houve a formação de aerênquimas nas 3 espécies estudadas.

As plantas de seringueira cultivadas com submersão do sistema radicular e submersão parcial da parte aérea, foram as que tiveram o crescimento foliar mais afetado pela baixa disponibilidade de oxigênio no meio nos dois tratamentos com submersão, enquanto que somente as plantas totalmente submersas de ingá e virola foram significativamente afetadas pela baixa disponibilidade de oxigênio no meio.

O acúmulo de AST e AA nas raízes demonstraram que este órgão é o mais importante na tolerância a hipoxia/anoxia.

Todas as plantas sobreviveram ao estresse gasoso durante o período experimental de 45 dias. Contudo, verificou-se que a seringueira foi a espécie mais sensível a submersão durante estes 45 dias, parализando o seu crescimento, e que o ingá e a virola demonstram a mesma tolerância e mantiveram, relativamente, o seu crescimento, quando submetidas a submersão do sistema radicular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS, D.L.; DREW, M.C.; JOHNSON, J.R.; COBB, B.G. The response of maize seedlings of different ages to hypoxic and anoxic stress. **Plant Physiology**, Rockville. v. 105, n. 1, p. 53-60, May. 1994.
- ARRESE, I.C.; ROYUELA, M.; DE-LORENZO, C.; DE-FELIPE, M.R.; APARICIO, T.P.M. Effects of low rhizosphere on growth, nitrogen fixation and nodule morphology in lucerne. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 89, n. 1, p. 55 - 63, 1993
- BARBOSA, A.P. **Estudos de espécies flor7estais amazônicas visando a revegetação de áreas de depleção da Usina Hidrelétrica de Camargos, Itutinga (MG)**. Lavras: UFLA, 1995. 96p. (Tese - Doutorado em Agronomia-Fitotecnia).
- BARRIOS, E.; HERRERA, R. Nitrogen cycling in a Venezuelan tropical seasonally flooded forest: Soil nitrogen mineralization and nitrification. **Journal of Tropical Ecology**, New York, v. 10, n. 3, p. 399-416, 1994.
- BLOM, C.W.P.M.; VOESENEK, L.A.C.J.; BANGA, M.; ENGELAAR, W.M.H.G.; RIJNDERS, J.H.G.M.; VAN DE STEEG, H.M.; VISSER, E.J.W. Physiological Ecology of Riverside Species: Adaptive Response of Plants to Submergence. **Annals of Botany**, London v. 74, n. 3, p. 253-263, Sept. 1994.
- BRADFORD, M.M.; A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248 - 254, 1976.
- BRADFORD, K.J.; YANG, S.F. Physiological response of plant to waterlogging. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 1, p. 25-30, Feb. 1981.

- CRANE, J.H.; DAVIES, F.S. Periodic and Seasonal Flooding Effects on Survival, Growth, and Stomatal Conductance of Young Rabbiteye Blueberry Plants. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount, v. 113, n. 4, p. 488-493, July. 1988.
- CRAWFORD, R.M.M. Metabolic adaptations to anoxia IN: HOOK, D.D. & CRAWFORD, T.T. (eds.) **Plant life in anaerobic environments**. Londres: Ann Arbor Science Publishers, 1978. p.119-136.
- DELLÚ FILHO, N. **Efeito do N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sobre o crescimento e atividade das enzimas de assimilação do nitrogênio em plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg)**. Lavras: UFLA, 1994. 87p. (Tese de Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- \*DOP, P.; GAUTIÉ, A. **Manuel de Technique: botanique**. Paris: J. Lamane, 1907, 534p.
- DREW, M.C. Effects of flooding and oxygen deficiency on plant mineral nutrition. In: Tinker, B.; Lauchli, A. (Eds.). **Flooding and Plant Growth**. New York: Praeger, 1988. v. 3, p.115 - 159.
- DREW, M.C.; COBB, B.G.; JOHNSON, J.R.; ANDREWS, D.; MORGAN, P.W.; JORDAN, W.; HE, C.J. Metabolic Acclimation of Roots Tips to Oxygen Deficiency. **Annals of Botany**, London, v. 74, n. 3, p. 281-286, Sept. 1994.
- FOX, T.C.; KENNEDY, R.A.; RUMPHO, M.E. Energetics of Plant Growth Under Anoxia: Metabolic Adaptations of *Oryza sativa* and *Echinochloa phyllopogon*. **Annals of Botany**, London, v. 74, n. 5, p. 445-455, Nov. 1994.
- FREDEEN, A.L.; FIELD, C.B. Ammonium and nitrate uptake in gap, generalist and understory species of the genus Piper. **Oecologia**, New York, v. 92, n. 1, p.710-714, Jan. 1992.
- GILL, C.J. The flooding tolerance of woody species - a review. **Forestry Abstracts**, Farnham Royal, v. 31, p. 671-688, 1970.
- GLAAB, J.; KAISER, W.M. Rapid modulation of nitrate reductase in pea roots. **Planta**, New York, v. 191, n. 2, p. 173 -179, Aug. 1993.

- HARRINGTON, C.A. Responses of red alder and black cotton wood seedlings to flooding. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 69, n. 1, p. 35 - 48, Jan. 1987.
- HE, C.J.; DREW, M.C.; MORGAN, P.W. Induction of enzymes associated with lysigenous aerenchyma formation in roots of *Zea mays* during hypoxia or nitrogen starvation. **Plant Physiology**, Rockville. v. 105, n. 3, p. 861 - 865, July. 1994.
- HOOK, D.D.; SCHOLTENS, J.R. Adaptations and Flood Tolerance of Tree Species. In: HOOK, D.D.; Crawford, M.M. (eds). **Plant life in anaerobic environments**. Londres: Ann Arbor Science Publishing, 1980. p. 299-331.
- JACKSON, M.B.; DREW, M.C. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: Kozlowski, T.T. (ed.). **Flooding and Plant Growth**. London: Academic Press, 1984. p. 265-294.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. p. 126-154.
- JOLY, C.A. Flooding tolerance in tropical trees. In: JACKSON, M.B.; Davies, D.D.; Lambers, H. (Eds.). **Plant life under oxygen deprivation**. Londres: SPB, Academic Publishing, 1991. p.23 - 34.
- KAWASE, M. Anatomical and Morphological Adaptation of Plants to Waterlogging. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n.1, p. 30-34, Feb. 1981.
- KENNEDY, R.A.; RUMPHO, M.E.; FOX, T.C. Anaerobic Metabolism in Plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, n. 1, p. 1-6, Sept. 1992.
- KLUDZE, H.K.; DELAUNE, R.D.; PATRICKW.H.Jr. Aerenchyma formation and methane and oxygen exchange in rice. **Soil Science Society of America Journal**. New York v. 57, n. 2, p. 386 - 391, Mar-Apr.1993.
- KOZLOWSKI, T.T. Response of Woody Plants to Flooding. In: Kozlowski, T.T. (ed.). **Flooding and Plant Growth**. London: Academic Press, 1984. p. 129-163.
- KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. Effects of Flooding on Water, Carbohydrate, and Mineral Relations. In: KOZLOWSKI, T.T. (ed.). **Flooding and Plant Growth**. London: Academic Press, 1984. p. 129-163.

- LAAN, P.; BLOM, C.W.P.M. Growth and Survival Response of *Rumex* Species to Flooded and Submerged Conditions: The Importance of Shoot Elongation, Underwater Photosynthesis and Reserve Carbohydrates. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 41, n. 228, p. 775-783, July. 1990.
- LAAN, P.; TOSSERAMS, M.; BLOM, C.W.P.M.; VEEN, B.W. Internal oxygen transport in *Rumex* Species and its significance for respiration under hypoxic conditions. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 122, n. 1, p. 39 - 46, Feb. 1990.
- LABORIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO-LABORIAU, M.L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Toledo. I Comportamento na estação chuvosa nas condições de Caeté, Minas Gerais, Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, v.33, n. 2. p.237-257, 1961.
- LEMONS, G.B. **Crescimento e atividade de enzimas de assimilação do nitrogênio em plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg) cultivadas com diferentes relações de nitrato e amônio** Lavras: UFLA, 1996. 56p. (Tese de Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- MEDRI, M.; LLERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 10, n. 3, p. 51-56, Set. 1980.
- MOHANTHY, B.; WILSON, P.M.; AP-REES, T. Effects of anoxia on growth and carbohydrate metabolism in suspension cultures of soybean and rice. **Phytochemistry**, Oxford, v. 34, n. 1, p.75 - 82, Sept. 1993.
- NEWSOME, R.D. KOZLOWSKI, T.T.; TANG, Z.C. Response of *Umus americana* seedlings to flooding of soil. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.60, n.9, p.1688-1695, Sept. 1982.
- OSONUBI, O; OSUNDINA, M.A. Stomatal responses of woody seedlings to flooding in relation to nutrients status in leaves. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 38, n. 192, p. 1166-1173, July. 1987.
- PELACANI, C.R. **Estratégias de sobrevivência de espécies herbáceas em áreas inundáveis e comportamento fisiológico de espécies arbóreas e arbustivas submetidas à condições de inundação do sistema radicular**. Lavras: ESAL, 1992.110p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).

- PERATA, P; ALPI, A. Plant responses to anaerobioses. **Plant Science**, Limerick, v. 93, n. 1-2, p. 1 - 17, Jan. 1993.
- PEZESHKI, S.R; PARDUE, J.H.; DELAUNE, R.D. The influence of soil oxygen deficiency on alcohol dehydrogenase activity, root porosity, ethylene production and photosyntheses in *Spartina patens*. **Environmental and Experimental Botany**, London, v. 33, n. 4, p. 565 - 573, April 1993.
- PONNAMPERUMA, F.N. The chemistry of submerged soils. **Advances in Agronomy**, v.24, n. 25-52, 1972.
- QUICK, P.; SIEGL, G.; NEUHAUS, E.; FEIL, R.; STITT, M. Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose-phosphate synthase. **Planta**, New York, v. 177, n. 4, p. 535 - 546, Apr. 1989.
- REDINBAUGH, M.G.; CAMPBELL, W.H. Higher plant response to enviromental nitrate. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 82, n. 4, p. 640 - 650, Aug. 1991.
- REGGIANI, R.; MATTANA, M.; AURISANO, N.; BERTANI, A. The rice coleoptile: An exemple of anaerobic nitrate assimilation. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 89, n. 3, p. 640 - 643, Nov. 1993.
- SACKS, M.M.; HO, T.D. Alteration of gene expression during enviroment stress in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 37, p. 363-376, 1986.
- SENA GOMES, A. R.; KOZLOWSKI, T.T. Physiological and growth response to flooding of seedlings of *Hevea brasilienses*. **Biotropica**, Ohio, v. 20, n. 4, p. 286-93, Dec. 1988.
- SHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, Washington, v. 148, n. 3668, p.339 - 346, Apr. 1965.
- SMIT, B.; STACHONIAK, M.; VAN, E.V. Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic roots stress. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 40, n. 210, p. 89-94, Jan. 1989.

- SOLOMONSON, L.P.; BARBER, M.J. Assimilatory nitrate reductase: functional properties and regulation. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, p. 225 - 253, 1990.
- SRIVASTANA, H.S. Regulation of nitrates reductase activity in higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 725-733, 1980.
- SUN, O.J.; SWEET, G.B.; WHITEHEAD, D.; BUCHAN, G.D. Physiological responses to water stress and waterlogging in *Nothofagus* species. **Tree Physiology**, Victoria, v. 15, n. 10, p. 629-638, Oct. 1995.
- TANG, Z.C.; KOZLOWSKI, T.T. Water relations, ethylene production, and morphological adaptation of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings to floodings. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 77, n. 2-3, p. 183-192, Feb.1984.
- THOMAS, H. Osmotic adjustment in *Lolium perenne*; its heritability and the nature of solute accumulation. **Annals of Botany**, London, v. 66, n. 5, p.521 - 530, Nov. 1990.
- THOMAS, H. Accumulation and consumption of solutes in swards of *Lolium perenne* during drought and after rewatering. **New Phytologist**, London, v. 118, n. 1, p. 35 - 48, May. 1991.
- TOPA, M.A.; McLEOD, K.W. Aerenchyma and lenticel formation in pine seedlings: a possible avoidance mechanism to anaerobic growth conditions. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 68, n. 3, p. 540 - 550, Nov. 1986a.
- TOPA, M.A.; McLEOD, K.W. Response of *Pinus clausa*, *Pinus serotina* and *Pinus taeda* seedlings to anaerobic solution culture. II. Changes in tissue nutrients concentration and net acquisition. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 68, n. 3, p. 532-539, Nov. 1986b.
- TSUKAHARA, H.; KOZLOWSKI, T.T. Effects of flooding and temperature regime on growth and stomatal resistance of *Betula platyphylla* var. Japonica seedlings. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 92, n. 1, p. 103-112, Jan. 1986.



- TURNER, L.B. The extent and pattern of osmotic adjustment in white clover (*Trifolium repens* L.) during the development of water stress. **Annals of Botany**, New York, v. 66, n. 6, p. 721 - 727, Dec. 1990.
- VANLERBERGHE;G.C.; HORSEY,A.K.; WEGER,H.G.; TURPIN,D.H. Anaerobic carbon metabolism by the tricarboxylic acid cycle: Evidence for partial oxidative and reductive pathways during dark ammonium assimilation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 91, n. 4, p. 1551-1557, Oct. 1989
- VARTAPETIAN, B.B. Life without oxygen. In: HOOK, D.D.; Crawford, M.M. (eds). **Plant life in anaerobic environments**. Londres: Ann. Arbor Science Publishing, 1980. p. 1-11.
- † VASCONSELLOS, J. De C.; COUTINHO, M.C.P. **Noções sobre anatomia de plantas superiores**. Lisboa: Serviço de Informação Agrícola, 1960. 113p.
- VOESENEK, L.A.C.J.; BLOM, C.W.P.M.; POUWELS, R.H.W. Root and shoot development of *Rumex* species under waterlogged conditions. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 67, n. 6, p. 1865-1869, June. 1989.
- VU, J.C.V.; YELENOSKI, G. Photosynthetic responses of citrus trees to soil flooding. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, n. 1, p. 7-14, Jan. 1991.
- YEMM, E.W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, London, v. 57, p. 508- 514, 1954.
- YEMM, E.W.; COCKING, E.C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, p. 209-213, 1955.

**ANEXO**

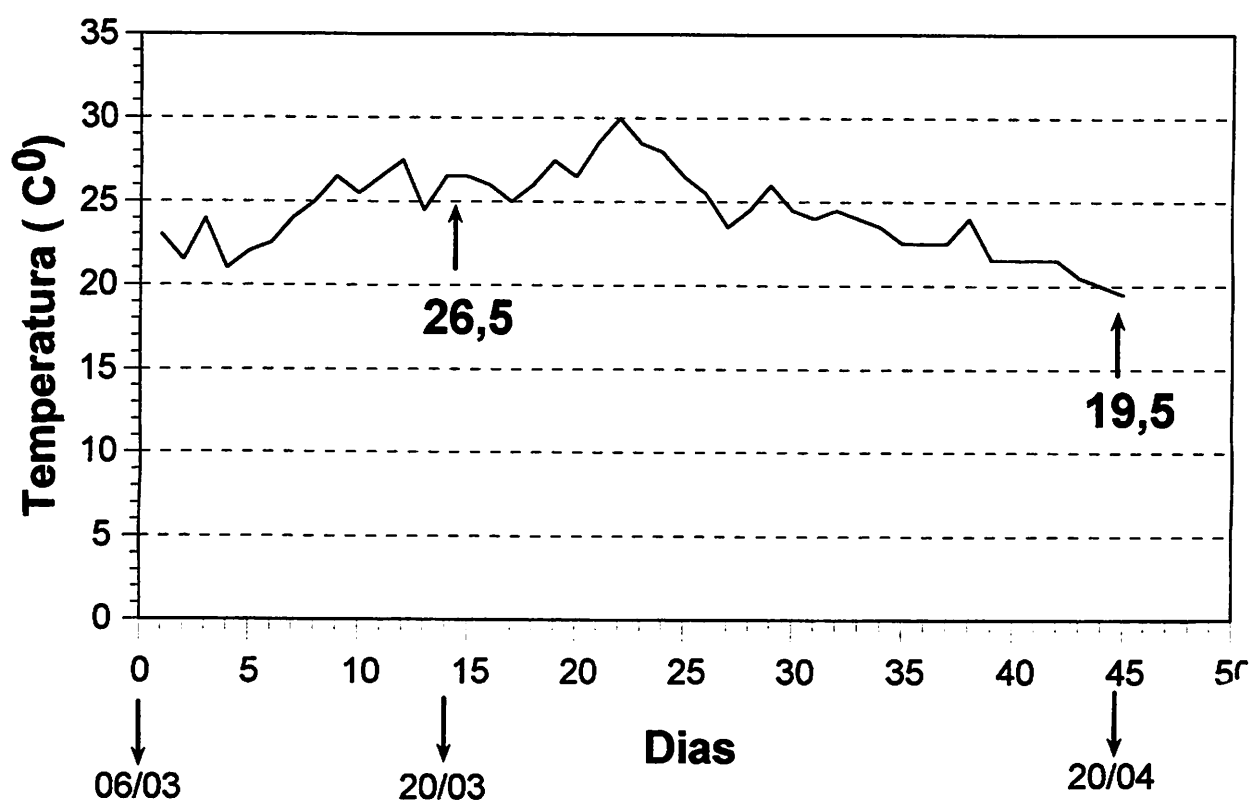


FIGURA 11 Temperatura média ao longo do período experimental.

TABELA 3 Matéria seca total, das raízes e da parte aérea de ingá, virola e seringueira, nos três níveis de submersão aos 14 e aos 45 DAIT.

MATÉRIA SECA							
ESPÉCIE/TRAT.		RAIZ		PARTE AÉREA		TOTAL	
		14 DAIT	45 DAIT	14 DAIT	45 DAIT	14 DAIT	45 DAIT
INGÁ	T1	4.30Ba*	6.35Aa	22.00Ba	26.30Aa	26.30Ba	32.65Aa
	T2	4.21Aa	4.06Ac	20.85Bb	24.15Aa	25.06Ba	28.21Ab
	T3	4.41Aa	4.36Ab	18.08Ac	17.32Ab	22.49Ab	21.68Ac
VIROLA	T1	1.90Ba	2.35Aa	8.56Bab	10.95Ab	10.46Ba	13.30Aa
	T2	1.85a	1.80Ab	9.15Ba	12.03Aa	11.00Ba	13.83Aa
	T3	1.95a	1.53Bc	7.35Ab	7.55Ac	9.30Ab	9.03Ab
SERINGUEIRA	T1	7.56Aa	7.28Aa	38.37Ba	42.15Aa	45.93Bb	49.43Aa
	T2	4.12Bb	5.15Ab	36.20Ab	35.09Ab	40.32Ab	40.24Ab
	T3	4.96Bb	5.48Ab	34.36Ab	32.87Bb	39.32Ab	38.35Ab

\* Letras maiúsculas indicam diferença ou não entre os tempos de submersão e letras minúsculas entre os níveis de submersão.