



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E BIOQUÍMICAS EM  
PLÂNTULAS DE ESPÉCIES DE ÁREAS ALAGÁVEIS SUBMETIDAS A  
LONGOS PERÍODOS DE SUBMERSÃO

William Silva do Carmo

Brasília

2013



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

Respostas morfoanatômicas e bioquímicas em plântulas de espécies de áreas alagáveis submetidas a longos períodos de submersão

William Silva do Carmo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Augusto Cesar Franco

Brasília, Abril de 2013.

Respostas morfoanatômicas e bioquímicas em plântulas de espécies de áreas alagadas submetidas a longos períodos de submersão

William Silva do Carmo

Aprovado em 24/04/2013

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Augusto César Franco - Universidade de Brasília – UnB  
(Orientador, Presidente da Banca Examinadora)

---

Prof. Dr. Marcio Rocha – Universidade Federal do Amazonas - UFAM  
(Membro externo)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Dalva Graciano-Ribeiro- Universidade de Brasília – UnB  
(Membro titular)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sarah C. Caldas Oliveira - Universidade de Brasília – UnB  
(Membro suplente)

## EPÍGRAFE

“Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes, mas não esqueço de que minha vida é a maior empresa do mundo. E que posso evitar que ela vá à falência. Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar autor da própria história. É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma. É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida. Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos. É saber falar de si mesmo. É ter coragem para ouvir um “não”. É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta. “

*Augusto Cury*

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por todos os presentes que tem me dado ao longo da vida e por todas as conquistas que tem me possibilitado alcançar.

Agradeço a minha mãe por me apoiar em todos os momentos da minha vida por lutar sempre por nossa família. Por ser inspiração de caráter e de força para superar os desafios da vida.

Ao meu orientador, professor Augusto Cesar Franco, por ter me guiado até aqui, e por ter investido seu tempo e recursos para auxiliar em minha formação, pelas oportunidades oferecidas e também pelas lições aplicadas nas horas certas e acima de tudo pela confiança em meu trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica pela oportunidade e pelo curso oferecido. A UnB pelos 7 anos de apoio, seja no material, instalações físicas ou na concessão da bolsa REUNI/CAPES que foi fundamental para que esse mestrado fosse possível

As pessoas que me apoiaram durante toda essa trajetória, em especial a professora Lourdes I. V. do Amaral (in memoriam) por todos os ensinamentos transmitidos, tanto acadêmicos e de vida, pela sua grande bondade e afeto!

À professora Cristiane por ter me acolhido no laboratório quando entrei, pela amizade e por toda a ajuda em vários momentos. À professora Dalva Graciano-Ribeiro, pela grande amizade e companheirismo, pelas ajudas, bolos e experiências compartilhadas. A professora Sarah por ser um anjo na minha vida, que me guiou nos momentos difíceis e me mostrou como a fé e dedicação são os caminhos da vitória.

Ao meu grande exemplo de pessoa, Antônio Mendes, por todos os ensinamento e divertidos passeios ao campo. A técnico Marinho pelos momentos de descontração e por não deixar meu lado engenheiro morrer.

Aos meus colegas da fisiologia vegetal, em especial a Isa e Juliana pelos momentos divertidos no laboratório e por toda ajuda que me deram. A minha melhor companheira de campo, Izabelly, pelos momentos maravilhosos e de muita luta que passamos juntos, nesse 2 anos de amizade.

À pessoas incríveis da anatomia Vegetal, minhas princesas Jessika e Daiane, por toda a ajuda e amizade, meus amigos Bruno, Nádia e Silvia por todos os ensinamentos.

À pessoas que me acompanharam nas horas de relaxamento, meus amigos da graduação (Arthur, Bernardo, Gui, Thais), meus amigos do mestrado (Paulo Cipó, Suzi, Abel, Tatiane, Elinea)

E a todos que passaram por minha vida nesses dois anos e de alguma forma me apoiaram ou ajudaram para que esse momento acontecesse.

Esta dissertação contou com o apoio financeiro do Programa Nacional de Apoio e Desenvolvimento da Botânica, projeto Biodiversidade, Ecofisiologia, Biotecnologia e Uso Sustentável dos Biomas Cerrado e Amazônia. AUX-PE-PNADB 451/2010

## SUMÁRIO

EPÍGRAFE .....	i
AGRADECIMENTO .....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	ix
ABSTRACT .....	xi
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS GERAIS.....	3
MATERIAL E METODOS GERAL.....	3
ÁREA DE ESTUDO .....	3
ESPÉCIES SELECIONADAS .....	4
COLETA DE SEMENTES.....	5
PRODUÇÃO DAS PLÂNTULAS .....	5
DEFINIÇÃO DE PLÂNTULA .....	6
TRATAMENTOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS .....	7
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	9
CAPITULO 1.....	11
RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E DESENVOLVIMENTO DE PLANTULAS SUBMETIDAS A UM PERÍODO PROLONGADO DE SUBMERSÃO ..	11
1-1 INTRODUÇÃO.....	12
1-2 OBJETIVOS.....	14
1-3 HIPOTHESES.....	14
1-4 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
1-4-1 CRESCIMENTO E MORFOLOGIA EXTERNA.....	15
1-4-2 ANATOMIA DAS RAÍZES .....	16
1-4-3 ANALISE ESTATÍSTICA .....	16

1-5 RESULTADOS .....	17
1-7 CONCLUSÃO.....	31
1-8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32
CAPITULO 2.....	35
ALTERAÇÕES NAS RESERVAS DE CARBOIDRATOS EM RESPOSTA A SUBMERSÃO PROLONGADA .....	35
2-1 INTRODUÇÃO.....	36
2-2 OBJETIVOS.....	38
2-3. HIPÓTESE .....	38
2-4 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2-4-1 ANALISES BIOQUÍMICAS.....	39
2-4-2 ANALISE ESTATÍSTICA .....	39
2-5 RESULTADOS .....	40
2-6 DISCUSSÃO.....	48
2-7 CONCLUSÃO.....	49
2-8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50
3- CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	53



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Áreas alagáveis da Amazônia; A Planície de inundação de várzea na época seca; -B: Área de várzea na cheia; C- Floresta de várzea; D Floresta de igapó. ....	1
Figura 2 - Áreas de coleta de sementes. 1) RDS Tupé; 2) Rio Tarumã; 3) Ilha da Marchantaria. ....	4
Figura 3 - A- Sementes germinando em vermiculita B- Bandejas com sementes; C Desenvolvimento inicial da plântula; D- plântulas crescendo na casa de vegetação. ....	6
Figura 4- Área de execução do experimento: A- Visão geral do sombrite; B- Disposição das plântulas no balde; C- Plântulas submersas; D- Visão dos baldes abaixo do sombrite. ....	7
Figura 5 - Delineamento experimental, alocação das plântulas nos baldes nos tratamentos submerso e controle. ....	8
Figura 6: plântulas após 90 dias de tratamento (plântulas submersas a direita) A - <i>Crataeva tapia</i> L.; B - <i>Eugenia inundata</i> Dc.; C- <i>Genipa americana</i> L.; D- <i>Simaba guianensis</i> Aubl As barras indicam escala de 2 cm. ....	18
Figura 7- Plântulas 5 dias após serem retiradas de um período de 90 dias de submersão A - <i>Crataeva tapia</i> L.; B – <i>Eugenia inundata</i> Dc.; C - <i>Genipa americana</i> L. ; D- <i>Simaba guianensis</i> Aubl. ....	19
Figura 8 - Incremento e número total de folhas para as quatro espécies ao longo do tempo (115 dias). Linhas tracejadas aos noventa dias indicam o final do tratamento de submersão, quando as plantas submersas foram colocadas nas mesmas condições dos controles. Barras indicam erro padrão. ....	21
Figura 9: Esquema do arranjo das células córtex, cubico (a esquerda) e hexagonal Retirado de JUSTIN e ARMSTRONG (1987). ....	23
Figura 10: <i>Crataeva tapia</i> : A-B-C: controle; D-E submersa A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a zona cambial; C: região de início do desenvolvimento da periderme; D: Visão geral da raiz, com resquícios da região do cortex. C detalhe da região da periderme se desenvolvendo a partir da células da endoderme; E: Região do xilema e floema secundários e câmbio vascular. ....	24

Figura 11: *Eugenia inundata*: A-B: controle; C-D: submerso; A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a região da endoderme; C: Visão geral da raiz, com presença de aerenquima no cortex. D detalhe da região do cortex com aerenquima e região da endoderme. .... 25

Figura 12: *Genipa americana*; A-B: Controle; C-D-E: submerso; A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a endoderme e cilindro vascular em crescimento primario; C: Visão geral da raiz. D detalhe da epiderme e da exoderme; E: Detalhe do cortex e da endoderme. .... 26

Figura 13: *Simaba guianensis*: A-C: controle; D-F: submersas; A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a região da epiderme e exoderme; C- Detalhe do cilindro vascular e da região da endoderme; D: Visão geral da raiz. E: região da epiderme e exoderme. F: Cilindro vascular e região da endoderme. .... 27

Figura 12: Concentração de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *C. tapia* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo para as plantas submersas. .... 41

Figura 13: Teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *E. inundata* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo para as plantas submersas. .... 43

Figura 14: Teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *G. americana* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo para as plantas submersas. .... 45

Figura 15: Teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *S. guianensis* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas

diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempo para o tratamento submerso.....47

Tabela 1. Lista das espécies que foram estudadas, incluindo nome popular, local de coleta e tipo de fisionomia florestal..... 5

Tabela 2: Biomassa seca da parte aérea e a razão entre as massas das raízes e parte aérea das plantas submersas e controle após 90 dias de submersão e 25 dias depois da retirada do tratamento de submersão. Valores entre parênteses indicam desvio padrão, letra diferentes para a mesma espécie indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o período, entre os tratamentos. .... 22

Tabela 3: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *C. tapia*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ . .... 41

Tabela 4: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *Eugenia inundata*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ . .... 43

Tabela 5: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *Genipa americana*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ . .... 45

Tabela 6: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *Simaba guianensis*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ . .... 47

## RESUMO

As florestas alagáveis da Amazônia Central são submetidas a longos períodos de alagamento. Sob estas condições plântulas podem permanecer submersas no escuro, durante longos períodos de tempo. Plantas adaptadas a ambientes com condições adversas ao crescimento apresentam respostas fenológicas, morfológicas e fisiológicas associadas ao período que estão submetidas ao estresse. O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da submersão na sobrevivência, fenologia, crescimento e nas reservas de carboidratos em plântulas de 4 espécies abundantes nas florestas alagáveis da Amazônia: *Crataeva tapia* L, *Eugenia inundata* Dc, *Genipa americana* L. e *Simaba guianensis* Aubl. Para isso plântulas de cada espécie com cinco meses de idade foram mantidas submersas por 90 dias na ausência de luz e após esse período foram mantidas por mais 25 para acompanhar a sua recuperação. Dessas plantas foram avaliadas a taxa de sobrevivência, perda de folhas e crescimento, biomassa, anatomia das raízes e reservas de amido e açúcares solúveis totais (AST). Os controles foram mantidos irrigados. Para o período de avaliação não foi observado nenhuma morte dentre as plântulas submersas. As plantas submersas apresentaram uma pausa no crescimento, enquanto os controles mantiveram o crescimento. As espécies apresentaram comportamento variado quanto à queda das folhas em resposta a submersão. *C. tapia* apresentou uma rápida perda das folhas em que a queda total ocorreu até o quinto dia de tratamento. *G. americana* e *S. guianensis* apresentaram uma queda gradual das folhas, que se tornaram amarelada antes da liberação, evidenciando uma reabsorção dos nutrientes. A queda total das folhas para *S. guianensis* ocorreu com 25 dias e para *G. americana* apenas alguns indivíduos apresentaram algumas folhas ao final do período, enquanto para *E. inundata* não foi observada queda das folhas, permanecendo essas praticamente constante e com a mesma aparência durante todo o período. Em relação à anatomia em todas as espécies observou-se um menor estágio de desenvolvimento nas plântulas submersas. Percebem-se algumas estruturas constitutivas, como exoderme e outras adquiridas na presença do estresse como aerênquima, que garantem maior sucesso no período submerso, garantindo maior suprimento de oxigênio. Em relação às reservas de carboidratos foi observada uma redução das reservas de amido, principalmente no caule, essa diminuição ocorreu principalmente até os 30 dias iniciais de submersão. Foi observada uma manutenção dos AST nas plântulas

submersas em níveis próximo dos controles, característica relatada para espécies tolerantes. Em todas as espécies observou-se uma rápida recuperação após a retirada da submersão, com a retomada do crescimento e produção de novas folhas. Conclui-se que essas espécies possuem a capacidade de suportar longos períodos de submersão, cessando seu crescimento e realizando alterações no seu metabolismo de carboidrato e na sua estrutura anatômica. E apresentam uma rápida recuperação após o período submerso.

Palavras chave: Submersão, fenologia, plântulas, carboidratos, estresse, hipóxia, tolerância a inundação.

## ABSTRACT

The flooded forests of central Amazonia are subjected to long periods of flooding. Under these conditions, seedlings may remain submerged in the dark for long periods. Plants adapted to environments with harsh conditions present growth phenological responses, associated with morphological and physiological period are subjected to stress. The aim of this study was to investigate the effect of submergence on survival, phenology, and growth in the reserves of carbohydrates in seedlings of four species abundant in the flooded forests of the Amazon *Crataeva tapia* L, *Eugenia inundata*. , *Genipa americana* L., *Simaba guianensis* Aubl. For this, seedlings of each species at five months of age were kept submerged for 90 days in the dark and after this period were maintained for another 25 to monitor recovery. These plants were evaluated the survival rate, growth and loss of leaves, biomass, root anatomy and starch reserves and total soluble sugars (TSS). Controls were kept at field capacity. For the evaluation period was not observed any deaths among the seedlings submerged. The submerged plants showed a pause in growth, while the controls continued growth. The species showed varying behavior as the leaves fall in response to submergence. *C. tapia* exhibited rapid loss of leaves in the fall total occurred until the fifth day of treatment. *G. americana* and *S. guianensis* showed a gradual fall leaves that have become yellow before release, showing an absorption of nutrients. The total fall of leaves for *S. guianensis* occurred at 25 days and for *G. americana* few subjects had some leaves the end of the period, while for *E. inundata* was not observed falling leaves, remaining substantially constant and the same appearance throughout the period. Regarding the anatomy in all species was observed a lower stage development in seedlings submerged. Perceive themselves some constituent structures, as exodermis and other acquired in the presence of stress as aerenchyma, to ensure greater success in the submerged period, ensuring greater supply of oxygen. In relation to carbohydrate reserves was observed a reduction of starch reserves, mainly in the stem, this decrease occurred primarily to the initial 30 days of submergence. We observed a maintenance of TSS levels close to those in controls, a feature reported for tolerant species. In all species, observed rapid recovery after the removal of submersion, with the resumption of growth and production of new leaves is concluded that these species have the ability to endure long periods of submersion, stopping their growth and making changes in their

metabolism carbohydrate and its anatomical structure as in *E. inundata*. These species show a rapid recovery after the period submerged.

Key words: flood tolerance, hypoxia, water stress

## INTRODUÇÃO GERAL

As florestas alagáveis ou aluviais da Amazônia ocorrem nas planícies de inundação às margens dos grandes rios (PIRES & PRANCE, 1985; TERBORGH & ANDRESEN, 1998). Estas florestas estão sujeitas a alagamentos sazonais ocasionados por um pulso de inundação devido ao transbordamento marginal dos grandes rios da Amazônia (Fig. 1) (JUNK, 1989).

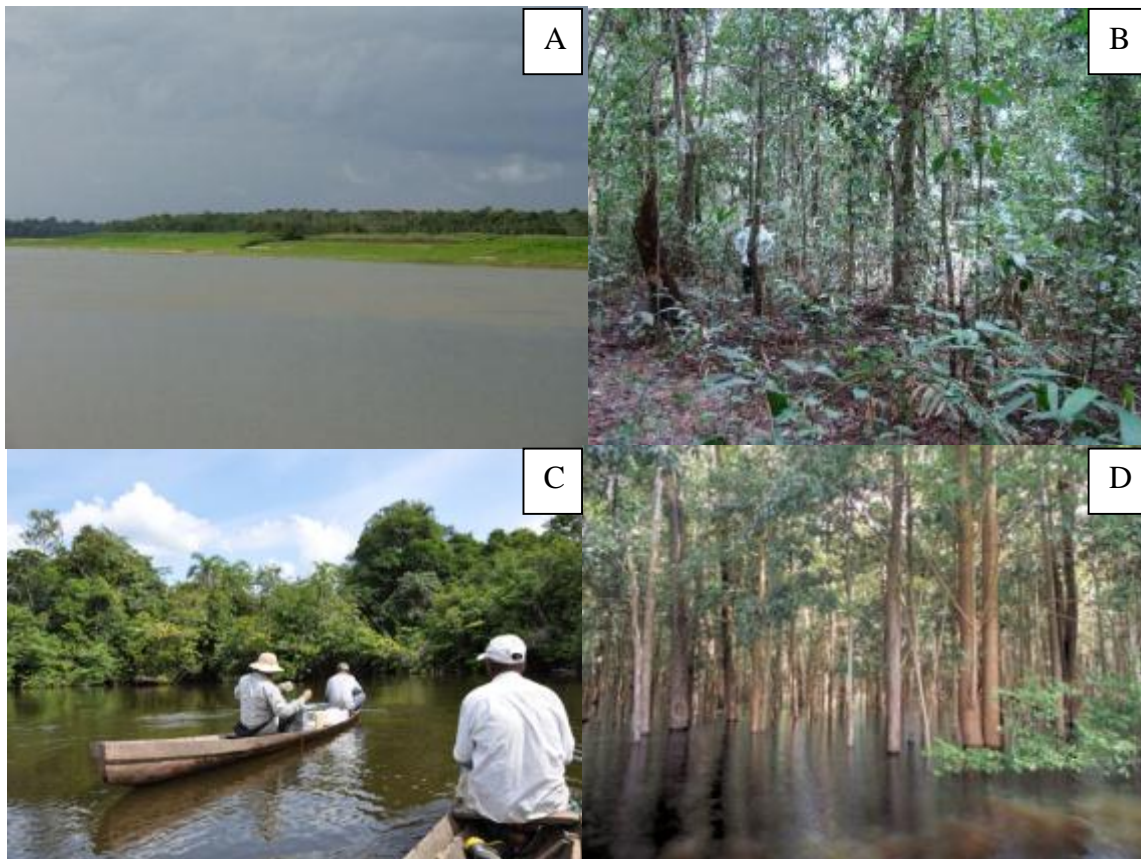


Figura 1: Áreas alagáveis da Amazônia; A Planície de inundação de várzea na época seca; -B: Área de várzea na cheia; C- Floresta de várzea; D Floresta de igapó.

As planícies de inundação são definidas por Junk (1989) como as áreas que recebem o aporte lateral das águas de rios, lagos, da precipitação direta ou de lençóis subterrâneos. A variação no nível dos rios na Amazônia ocorre geralmente como um ciclo definido como monomodal, caracterizando um período de águas altas e outro de águas baixas (JUNK & KRAMBECK, 2000). Durante o período de nível baixo da água, a região da planície de inundação é seca, com apenas



lagos permanentes remanesendo; já nos períodos de cheia, todo o sistema sofre inundação (TUNDISI et al., 2002).

As flutuações no nível da água são uma importante força que dirige o funcionamento ecológico, hidrológico, físico, químico e biológico dos sistemas (TUNDISI et al., 2002). A resposta do ecossistema aos padrões de alagamento e suas variações anuais, que na região amazônica vão definir uma fase aquática e uma terrestre, tem grande importância ecológica e vão ditar as modificações e características anuais distintas no ambiente (JUNK, 1997). Os efeitos causados pelo alagamento irão refletir na vegetação e sua capacidade de se adaptar a essas condições vai determinar a ocorrência das espécies e a estrutura da vegetação (JUNK, 1993).

Estudos mostram que o gradiente topográfico parece ter forte relação com a diversidade de espécies encontradas, pois determina o tempo que a área permanecerá alagada. Áreas que permanecem maior período alagadas apresentam uma menor diversidade de espécies (JUNK, 1989; FERREIRA, 1991, 1997), pois representam ambientes mais restritivos para o estabelecimento de espécies arbóreas. Desta maneira, o tempo que a planta fica submersa pode ser um fator importante para determinar sua sobrevivência e apenas poucas espécies são capazes de permanecer por longos períodos nessa condição.

Outro fator importante que define essas florestas é o tipo de água que as banha. Uma das características observadas na água é sua coloração, assim para a região amazônica as várzeas são definidas como florestas periodicamente alagáveis por rios de água branca e os igapós como as florestas periodicamente inundadas por rios de águas pretas ou claras (PIRES; PRANCE, 1985). Os rios de água branca possuem origem andina, águas com pH relativamente neutro e condutividade elétrica elevada devido à alta concentração de íons dissolvidos. Também são ricas em nutrientes pelo aporte de sedimentos constantemente erodidos das encostas andinas. Os rios de água preta são pobres em nutrientes, pois suas cabeceiras drenam regiões geologicamente antigas como o escudo das Guianas ou solos lixiviados do Brasil central. O pH dessas águas é ácido, em função das altas concentrações de substâncias orgânicas dissolvidas, principalmente sob a forma de ácidos húmicos e fúlvicos provenientes da decomposição da matéria orgânica da floresta (SIOLI, 1968).

Em termos de riqueza de espécies, alguns autores relatam que as florestas de várzea têm um maior número de espécies que as florestas de igapó (PRANCE, 1979; AYRES, 1993). No entanto para Worbes (1997), a diversidade de espécies na floresta de igapó é superior à das

florestas de várzea. Entretanto comparando vários inventários florísticos existentes em várzea e igapó, Ferreira (1997) não obteve diferença em relação ao número e densidade de espécies entre os dois tipos de florestas inundadas. Kubitzki (1989) salienta que a floresta de várzea apresenta maior diversidade local, porém o igapó possui maior diferenciação regional, sendo no geral, a flora de igapó mais rica que a de várzea.

Devido às diferentes características físico-químicas e à disponibilidade de nutrientes, o tipo de água pode influenciar a composição florística da vegetação das florestas inundáveis. Contudo, a tolerância a longos períodos de submersão na fase de plântula-vai desempenhar um papel central no sucesso de uma determinada espécie em colonizar essas planícies sazonalmente alagadas, uma vez que os indivíduos adultos dificilmente ficam totalmente submersos (WORBES, 1997; JUNK, 1989; PAROLIN, 2002).

Nesse contexto, esse estudo procura através da simulação dessa condição de submersão, verificar quais as respostas das plântulas durante esse período adverso, além de verificar se essas respostas serão convergentes para um grupo de espécies ou se ocorre uma diversificação nas respostas, com cada espécie apresentando um padrão único.

## **OBJETIVOS GERAIS**

- Verificar como espécies arbóreas típicas de locais periodicamente alagados da Amazônia respondem a um longo período de submersão na fase de plântula, examinando sua capacidade de ajustar variáveis bioquímicas e morfofisiológicas em resposta à submersão.
- Verificar o comportamento das plântulas após o período de submersão e sua velocidade de recuperação.

## **MATERIAL E METODOS GERAL**

### **ÁREA DE ESTUDO**

As coletas nas áreas de várzea e igapó foram realizadas em áreas próximas à cidade de Manaus (Figura 2). As áreas de igapó escolhidas compreendem uma área próxima à foz do rio Tarumã e uma área de floresta às margens do lago Tupé, localizada dentro da Reserva de

Desenvolvimento Sustentável do Tupé - RDS Tupé; e a área de várzea escolhida fica na Ilha de Marchantaria e cercanias no rio Solimões. O clima da região segundo a classificação Köppen é do tipo 'Am', quente e constantemente úmido em sua quase totalidade. A precipitação anual máxima é de 2.210 mm (SCUDELLER *et al.*, 2005). Em Manaus, a pluviosidade é mais intensa nos quatro primeiros meses do ano, e menos frequente nos meses de agosto e setembro, quando normalmente a precipitação não ultrapassa os 60 mm mensais.

A temperatura média anual em Manaus é superior a 26° C. A temperatura média no período mais quente do ano, de agosto a novembro, atinge 28° C. O período mais frio apresenta temperaturas mínimas em torno de 23° C nos meses de abril a junho, tendo mínimas absolutas de 19° C a 20° C.



Figura 2 - Áreas de coleta de sementes. 1) RDS Tupé; 2) Rio Tarumã; 3) Ilha da Marchantaria.

## ESPÉCIES SELECIONADAS

Foram selecionadas quatro espécies (Tab. 1), escolhidas devido a sua abundância nas áreas amostradas e por estarem situadas em ambientes de igapó baixo e várzea baixa que são classificadas como as áreas que sofrem pulso de inundação com maior amplitude e altura, ou seja,

não só passam mais tempo submersas podendo ficar por mais de 200 dias nesta condição, mas também estão expostas a uma maior elevação da coluna de água, cuja altura máxima pode ultrapassar 10 metros.

Tabela 1. Lista das espécies que foram estudadas, incluindo nome popular, local de coleta e tipo de fisionomia florestal.

FAMÍLIA	ESPÉCIES	NOME POPULAR	FISIONOMIA	LOCAL DE COLETA
CAPPARACEAE	<i>Crataeva tapia</i> L.	Catoré	Várzea	Ilha da Marchantaria
RUBIACEAE	<i>Genipa americana</i> L.	Genipapo	Igapó	Tupé
MYRTACEAE	<i>Eugenia inundata</i> Dc.	Araça do igapó	Igapó	Tupé/Tarumã-Mirim
SIMAROUBACEAE	<i>Simaba guianensis</i> Aubl.	Cajarana	Igapó	Tarumã-Mirim

## COLETA DE SEMENTES

As sementes foram coletadas de 5 a 10 matrizes diferentes dependendo do número de sementes disponível por matriz. As sementes foram armazenadas em sacos plásticos, transportadas em recipiente de isopor para Brasília-DF e processadas no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília (UnB).

## PRODUÇÃO DAS PLÂNTULAS

As sementes coletadas das diferentes matrizes foram separadas em lotes que formaram uma amostra composta com cerca de 100 sementes para cada espécie. As sementes foram colocadas para germinar em vermiculita no laboratório a temperatura ambiente que variou entre 19° C e 27° C. As sementes germinadas foram transferidas para um substrato comercial (Bioplant) em sacos plásticos de 15x10 cm e mantidas em casa de vegetação, situada na estação experimental do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnB) (Figura 3). As mudas foram

regadas diariamente até atingirem cinco meses de idade, quando foram então submetidas aos tratamentos. As temperaturas mínima e máxima registradas dentro da casa de vegetação durante esse período foram de 18 e 37° C respectivamente e a casa apresentava um sombreamento de 80%.

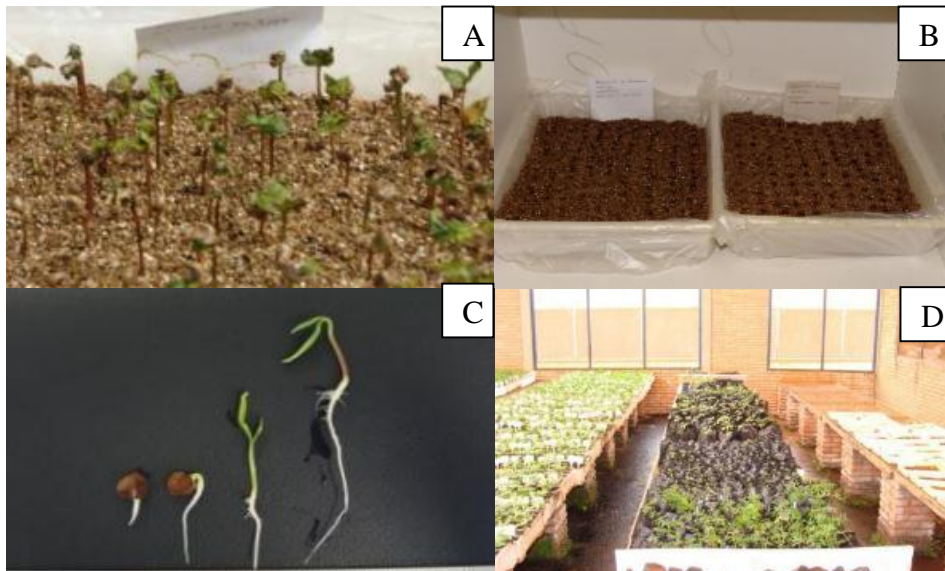


Figura 3 - A- Sementes germinando em vermiculita B- Bandejas com sementes; C Desenvolvimento inicial da plântula; D- plântulas crescendo na

## DEFINIÇÃO DE PLÂNTULA

O conceito de plântulas não é bem definido na literatura, ocorrendo divergências entre os autores principalmente em definir o ponto final deste estágio de desenvolvimento da planta. Fisiologicamente, a planta desenvolvida da semente é considerada uma plântula enquanto depende das reservas dos cotilédones (FENNER, 1987). Kitajima (1996) sugere que uma planta jovem deve ser chamada de plântula até que uma proporção significativa de sua biomassa seja construída. Outra definição consideram plântulas as plantas jovens em seu período mais susceptível às mudanças ambientais, o que depende do meio e da espécie considerada (KOZLOWSKI, 1997). Em alguns casos, essa fase corresponde ao primeiro ano de desenvolvimento da planta (FUCHS et al., 2000). Neste estudo, foi adotado esse conceito, considerando-se, plântula a fase de um ano, a partir da germinação das sementes, o que incluiu todo o período dos experimentos de submersão.

## TRATAMENTOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

As plântulas submetidas aos tratamentos foram escolhidas por sorteio dentre todas as plântulas produzidas. O delineamento utilizado para o experimento foi inteiramente casualizado, sendo aplicados dois tratamentos (1) submersão e (2) controle. Ambos foram conduzidos em baldes de 100 litros, utilizando um total de 80 baldes, sendo metade utilizada para cada tratamento (Fig. 4). Em cada balde foram alocadas quatro plântulas, uma de cada espécie, sendo cada plântula considerada uma unidade amostral (Fig. 5). No tratamento de submersão as plântulas ficaram totalmente submersas, com a lâmina de água no mínimo 10 cm acima do ápice da plântula, com os baldes tampados para evitar a entrada de luz, a fim de evitar a fotoxidação. Os controles foram irrigados para manter o solo na capacidade de campo e cobertos por uma camada dupla de sombrite 70% reduzindo a luz em aproximadamente 90%. As plântulas foram mantidas nestas condições por um período de 90 dias (Figura 4). Depois desse período o tratamento de submersão foi suspenso e as plântulas foram mantidas irrigadas e acompanhadas por mais um mês para verificar sua resposta pós-alagamento.

Durante todo o período de experimento foi acompanhado o nível de oxigênio dissolvido na água que foi medido semanalmente no período da manhã com medidor portátil de oxigênio (Lutron DO 5519), e se manteve em aproximadamente 4,2 mg/mL. A temperatura da água foi de aproximadamente 22° C nos horários de medição do nível de oxigênio e a temperatura do ar determinada no interior de um balde controle com termômetro de máxima e mínima variou entre o mínimo de 12° C e máximo de 34° C durante o período de condução do experimento.

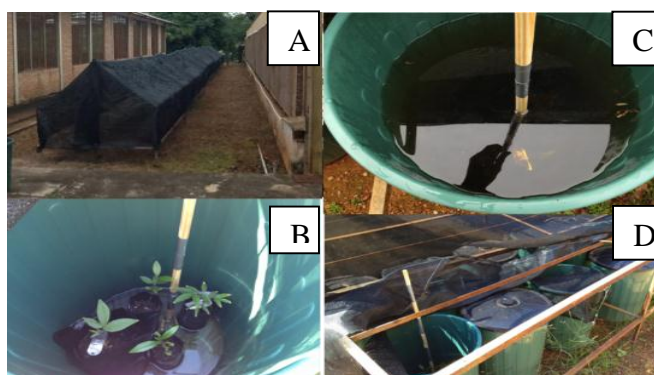


Figura 4- Área de execução do experimento: A- Visão geral do sombrite; B- Disposição das plântulas no balde; C- Plântulas submersas; D- Visão dos baldes abaixo do sombrite.



Figura 5 - Delineamento experimental, alocação das plântulas nos baldes nos tratamentos submerso e controle.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYRES, J. The várzea florest of Mamirauá. In: **Estudos de Mamiraua, Sociedade Civil Mamiraua**, Vol I, Tefé – Brazil, pp. 1-123, 1993.

FENNER, M. Seedlings. **New Phytologist**, v. 106 p. 35-47. 1987.

FERREIRA, L. O efeito do período de inundação na zanação de comunidades, fenologia e regeneração em uma floresta de igapó na Amazônia Central. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1991.

FERREIRA, L. Effects of the duration of flooding on species richness and floristic composition in three hectares in the Jaú National Park in floodplain forests in central Amazonia. **Biodiversity and Conservation**. v. 6, n. 10, p. 1353-1363, 1997.

FUCHS, M.A.; KRANNITZ, P. G.; HARESTAD, A.S. Factors affecting emergence and first- year survival of seedlings of garry oaks (*Quercus garryana*) in **Forest Ecology and Management**, British Columbia, Canada. v. 137: p. 209-219. 2000.

JUNK, W. J.; BAYLEY, P. B.; SPARKS, R. E. The flood pulse concept in river-floodplain systems. **Proceedings of the International Large River Symposium**, v. 106, p. 110-127, 1989.

JUNK WJ, KRAMBECK H-J. Climate and hydrology. In: **The Central Amazon floodplain: actual use and options for a sustainable management**. Leiden: Backhuys Publishers, p. 95–108. 2000.

JUNK, W.J. Wetlands of tropical South-America. In: **Wetlands of the world**. Whigham, D., Hejny, S., Dykyjová, D. (Eds.). p. 679-739. Kluve, Dordrecht. Netherlands. 1993.

JUNK, W. J. Structure and function of the large Central-Amazonian river-floodplains: Synthesis and discussion. In: **The Central Amazon Floodplain: Ecology of a Pulsing System**. Wolfgang J. Junk. (Org.). p. 455-472. Springer Verlag, Berlin. Germany. 1997.

KELSEY, R. Anaerobic induced ethanol synthesis in the stems of greenhouse-grown conifer seedlings. **Trees-Structure and Function**. v. 10, n. 3, p 183-185 1996.

KITAJIMA, K. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: **Tropical forest plant ecophysiology**. Mulkey, S.S.; Chazdon, R.L.; Smith, A.P. (Eds.). New York, Chapman & Hall, p. 559-596. 1996.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology**. v. 17, p. 490–490. 1997.



KUBITZKI K The ecogeographical differentiation of Amazonian inundation forests. **Plant Systematics and Evolution**. v. 162 p. 285–304, 1989.

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

PIRES, J.; PRANCE, G. The Vegetation Types of the Brazilian Amazon. In: **Key environments: Amazonia** Ed(s) Prance, G, T, Lovejoy, T. Pergamon Press., p. 109-145, 1985.

PRANCE, G. T. Notes on the vegetation of Amazonia. III: Terminology of Amazonian forest types subjected to inundation. **Brittonia**, v. 31, n. 1, p. 26-38, 1979.

SCUDELLER, V. V.; APRILE, F. M.; MELO, S.; SILVA, E. N. DOS S. Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé: Características Gerais. pp. xi-xxi. In: **Biotupé: Meio Físico, Diversidade Biológica e Sócio-cultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central**. Ed.(s): Silva, E. N. dos S.; Aprile, F. M.; Scudeller, V. V.; Melo, S. INPA, Manaus. 2005.

SIOLI, H. Hydrochemistry and geology in the Brazilian Amazon region. **Amazoniana**, v. 1, n. 3, p. 267-277, 1968.

TERBORGH, J.; ANDRESEN, E. The composition of Amazonian forests: patterns at local and regional scales. **Journal of Tropical Ecology**, v. 14 p. 645-664. 1998.

TUNDISI, J.G.; ARANTES, J.D. and MATSUMURA-TUNDISI, T. The Wedderburn and Richardson numbers applied to shallow reservoirs in Brazil. **Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**. v.28 n.2 p. 663-666, 2002.

WORBES, M. The forest ecosystem of the floodplains. **Ecological Studies**, v. 126, p. 223-265, 1997.

## **CAPITULO 1**

# **RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E DESENVOLVIMENTO DE PLANTULAS SUBMETIDAS A UM PERÍODO PROLONGADO DE SUBMERSÃO**

## 1-1 INTRODUÇÃO

As florestas alagáveis, encontradas na região da Amazônia Central, estão sujeitas a uma alternância entre uma fase aquática e uma fase terrestre (JUNK et al., 1989), impondo à vegetação arbórea e, principalmente às plântulas, períodos anuais de inundação superiores a 200 dias (PAROLIN, 2000). Nestas condições, a capacidade da planta de ajustar o desenvolvimento e metabolismo a longos períodos de submersão e a capacidade de recuperar o crescimento durante o período de vazante é essencial para o estabelecimento das espécies neste tipo de ambiente.

Tanto as plantas tolerantes quanto às não tolerantes ao alagamento, sofrem uma queda imediata na respiração aeróbica do sistema radicular quando expostas a condições de anóxia ou hipóxia, provocando redução na produção de energia e restringindo conseqüentemente o desenvolvimento da planta (LIAO; LIN, 2001). Além disso, muitas das injúrias ou até mesmo a morte imposta às plantas sobre alagamento pode ser atribuída aos produtos do metabolismo anaeróbico, como aldeídos, ácidos orgânicos e etanol produzidos nessas condições (ANDREV, 1992; CRAWFORD, 1984; KELSEY, 1996).

A tolerância ao alagamento pode variar de acordo com os critérios usados para analisar tal parâmetro. Por exemplo, para *Parkia pendula* e *P. auriculata* não foram encontradas diferenças quanto à germinação em condições de alagamento, porém quando analisada a sobrevivência, as plântulas de *P. auriculata* quando submersas pararam quase que completamente de crescer, mas permaneceram vivas mesmo após sete meses de submersão, já as plântulas de *P. pendula* morreram após três semanas de submersão (SCARANO, 1992; COUTINHO, 1971).

Para Lobo & Joly (2000) uma forma de se classificar uma espécie como tolerante à inundação é verificar se a mesma consegue manter a sua integridade por longos períodos nestas condições sem perda de biomassa ou até mesmo apresentando algum ganho de biomassa. Submersão de parte ou de toda a planta é um estresse severo a ser superado, espécies tolerantes tende a superar essa fase entrando em estado de repouso, acompanhado pela perda das folhas e rebrotando após a descida das águas. Outras espécies podem manter as suas folhas em um estado saudável abaixo da água por vários meses. A perda das folhas tem sido registrada tanto para espécies decíduas quanto para as perenes durante a fase aquática (PAROLIN *et al.*, 2002).

Uma das principais conseqüências da submersão ou alagamento para as plantas é a limitação do oxigênio, assim as possíveis alterações morfológicas ou anatômicas que ocorrem nessas condições estão associadas geralmente a um possível aumento da capacidade de difusão do

oxigênio da parte aérea para as raízes (LOBO; JOLY, 1998). Em plântulas sob alagamento parcial, os estudos (WALDHOFF, 1998; PAROLIN, 2001) tem apontado alterações principalmente no que diz respeito a hipertrofia das lenticelas e formação de raízes adventícias. A formação dessas estruturas está ligada a uma alteração da distribuição dos fitohormônios, principalmente o etileno.

Para plântulas totalmente alagadas Oliveira-Wittmann (2007) encontrou alterações morfoanatômicas nas folhas das três espécies de várzea estudadas *Garcinia brasiliensis*, *Laetia corymbulosa* e *Pouteria glomerata*. As espécies inundadas mostraram uma compactação do espaço intercelular e diferenças na espessura das folhas, quando comparadas as não inundadas.

Parolin (2001a) comparando espécies de igapó e várzea encontrou respostas ao alagamento que diferiram entre esses dois grupos. As espécies de várzea apresentaram respostas morfológicas ao alagamento parcial, como a produção de raízes adventícias e perda e rebrota de folhas após a remoção do estresse, enquanto as espécies de igapó não perderam suas folhas e nem apresentaram alterações em sua morfologia. Diferenças nas estratégias fenológicas entre espécies de várzea e igapó, já foram relatadas na literatura. Dados de biomassa de serapilheira são consideravelmente maiores em florestas de várzea (10,3 t / ha) comparados aos de igapó (6,7 t / ha). Os solos aluviais e ricos em nutrientes da várzea podem suportar uma alta produtividade natural, o que permite uma maior produção anual de novas folhas e uma maior taxa de rotatividade foliar, em comparação com as florestas de Igapó, que são características de solos arenosos de baixa fertilidade. Essas diferenças se refletem na composição de espécies que diferem entre as florestas de várzea e de igapó (FERREIRA, 1997; KUBITZKI, 1989).

Outra resposta encontrada é a formação de barreiras suberizadas ou lignificadas na exoderme que podem diminuir o transporte radial de solutos e gases (De Simone *et al.*, 2003). Para quatro espécies de várzeas amazônicas, De Simone *et al.* (2003) observou uma restrição efetiva na perda de oxigênio com a formação de uma camada suberizada nas paredes das células da exoderme.

Muito tem se estudado do comportamento e respostas de plantas comerciais como milho e arroz na questão de tolerância ao alagamento parcial e submersão, mas pouco se sabe sobre as espécies arbóreas, e reproduzir as condições de estresse em condições controladas e com plantas de idade conhecida permitirá entender melhor os impactos desse estresse para essas espécies, quais são as respostas ao estresse e quais são as características constitutivas das mesmas. Para verificar o comportamento e os efeitos da submersão em plantas que ocorrem naturalmente em regiões

sujeitas a alagamentos periódicos, quatro espécies arbóreas típicas das planícies alagáveis da Amazônia Central foram selecionadas e acompanhadas por um período de 90 dias em uma condição simulada de submersão total no escuro. O experimento foi realizado com plantas de aproximadamente cinco meses de idade, afim de se entender como indivíduos que germinaram durante o período de vazante, suportam a fase aquática subsequente, pois se trata de uma fase crítica para o sucesso na colonização do ambiente.

## **1-2 OBJETIVOS**

- Verificar se a sobrevivência das plântulas se altera com o aumento da duração do período de inundação;
- Analisar as alterações morfológicas em resposta à submersão;
- Verificar alterações na estrutura interna das raízes, em resposta a submersão;
- Avaliar o crescimento, produção de folhas e acúmulo de biomassa das plantas submersas verificando as estratégias utilizadas por cada uma das espécies no período submerso e quando retiradas dessa condição.

## **1-3 HIPOTETESES**

Por ocorrerem em ambientes de igapó baixo e várzea baixa, aonde estão naturalmente expostas a longos períodos de submersão, as plântulas das quatro espécies analisadas devem apresentar elevada taxa de sobrevivência mesmo quando submersas por longos períodos de tempo. Maiores índices de mortalidade devem ser observados nos períodos finais do experimento devido ao aumento do tempo de exposição ao estresse. Quanto ao acúmulo de biomassa e crescimento, as plantas submersas devem apresentar uma parada total tanto no crescimento da parte aérea quanto da subterrânea, condição que já foi observada para plantas dessas áreas quando totalmente submersas (PAROLIN, 2009).

Espera-se que as espécies de várzea e igapó apresentem comportamento diferenciado quanto à produção e queda das folhas. Acredita-se que as espécies de igapó mantenham as folhas, ao passo que as espécies de várzea apresentem uma perda acentuada de suas folhas durante o período submerso, fato esse observado também em indivíduos adultos desses ambientes e que pode estar associado à própria característica dos ambientes de origem e a disponibilidade de recursos para a produção dessas estruturas, visto que nos ambientes de igapó a disponibilidade de recursos é baixa, dispensar as folhas durante o período submerso pode representar uma grande perda da energia e recursos que foram investidos na produção dessas estruturas.

## **1-4 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram selecionadas quatro espécies, escolhidas devido a sua abundância nas áreas amostradas e por estarem situadas em ambientes de igapó baixo e várzea baixa que são classificadas como as áreas que sofrem o maior pulso de inundação e de maior duração. Espécies típicas destes ambientes podem ficar por mais de 200 dias submersas. As espécies escolhidas foram *Crataeva tapia* L (Capparaceae), *Eugenia inundata* Dc. (Myrtaceae), *Genipa americana* L (Rubiaceae), *Simaba guianensis* Aubl. (Simaroubaceae).

A produção de plântulas e delineamento do experimento seguiu o descrito no material e métodos gerais, das amostras produzidas algumas foram selecionadas para serem utilizadas nesse capítulo,

### **1-4-1 CRESCIMENTO E MORFOLOGIA EXTERNA**

Para avaliar o crescimento das plântulas durante a submersão e no período pós submerso, foram selecionados 20 baldes, sendo dez com as plântulas mantidas submersas e 10 como controles, sendo que cada balde continha uma planta de cada uma das quatro espécies. Essas foram avaliadas quanto ao crescimento, alterações morfológicas e quanto à sobrevivência. Foi avaliado semanalmente o crescimento da parte aérea, em que foi medido o comprimento da parte aérea, considerado do nível do solo até o ápice caulinar, a queda e produção de folhas e alterações morfológicas como produção de raízes adventícias, hipertrofia de lenticelas e epinastia das folhas. Essas medidas foram tomadas durante os noventa dias em que as plantas ficaram submersas e até

25º dia após a retirada das plântulas da água. Em relação à sobrevivência as plântulas foram consideradas mortas quando apresentarem necrose dos tecidos da parte aérea.

Para coleta de biomassa, após 90 dias de submersão foram retiradas 5 plantas de cada espécie por tratamento e 25 dias após o final do período de submersão mais cinco plantas de cada tratamento e espécie para análise da massa seca das partes aérea e radicular. As amostras foram congeladas e então liofilizadas e pesadas em balança digital 0,0001g (Marte AY220,) para obtenção da massa seca.

### **1-4-2 ANATOMIA DAS RAÍZES**

Ao final do período de 90 dias de submersão, foram selecionados 3 indivíduos que permaneceram submersos e 3 do controle para a realização dos cortes anatômicos. Foram realizados cortes na região próxima ao ápice da raiz principal, cerca de 2 cm.

O material fresco coletado foi fixado em FAA 70% por 24 horas, e posteriormente armazenado em álcool 70% para sua conservação até a realização dos cortes. Foram confeccionados cortes transversais a mão livre, no micrótomo manual. Esses cortes foram clarificados em hipoclorito de sódio nas concentrações de 20 e 50% (KRAUS; ARDUIN, 1997), com o tempo variando de acordo com o material, e posteriormente corados com solução de safranina e azul de alcian na proporção de 4/1. E montados em resina sintética (PAIVA *et al.*, 2006). Os cortes foram analisados e fotografados no microscópio óptico (Modelo Olympus CX31) com câmera digital embutida (Modelo Olympus C-7070).

Para os cortes da raiz foram analisados a presença de aerênquima, o tamanho e formato das células e sua organização.

### **1-4-3 ANALISE ESTATÍSTICA**

Para avaliação dos dados de incremento, biomassa e comprimento foram utilizadas ANOVAs com repetição no tempo para comparação dos fatores de tratamento (submerso e controle). Os tempos utilizados foram intervalos de 15 dias para o incremento durante os 125 dias de experimento e aos 15, 30,60, 90 e aos 125 dias para a biomassa. As ANOVAS foram seguidas do teste de comparações múltiplas de Tukey com 5% de significância para os efeitos significativos.

Cada uma das espécies foi tratada individualmente para as análises. Os dados foram testados quanto a homogeneidade e normalidade.

## **1-5 RESULTADOS**

Durante os 90 dias de submersão não foi observada a morte de nenhum dos indivíduos analisados. As plantas submersas ficaram todo o período do experimento no escuro e com níveis de oxigênio dissolvido na água na faixa de 4,2 mg/ml, não sendo observadas variações na concentração de oxigênio entre o período inicial e o final do experimento. Também não ocorreu morte das plantas restantes do tratamento de submersão de cada espécie, que foram mantidas irrigadas durante um período de 25 dias após a suspensão do tratamento de submersão.

Nas plântulas submersas não foram observadas alterações em suas características gerais, como sinais de apodrecimento nas raízes ou parte aérea. Não foi observada a formação de nenhuma estrutura morfológica externa como raízes adventícias ou mesmo hipertrofia de lenticelas (Fig. 6).

Quanto ao número de folhas foi observado um comportamento variado para as espécies, ocorrendo uma variação quanto à manutenção ou não das folhas e em relação ao tempo que essas folhas eram liberadas da planta. *C. tapia* apresentou uma rápida perda de folhas, que ocorreu logo nos primeiros dias de submersão (Fig. 8). As folhas liberadas apresentavam ainda coloração verde, sem clorose ou necrose evidente ou sinais de senescência. Plântulas dessa espécie no controle mantiveram as folhas durante todo o período, havendo uma renovação constante das folhas no período do experimento. Contudo, o número total de folhas nas plantas controle permaneceu aproximadamente constante. As plântulas dessa espécie quando retiradas da submersão apresentaram uma rápida rebrota, já apresentando novas folhas após 5 dias de recuperação (Fig. 7).



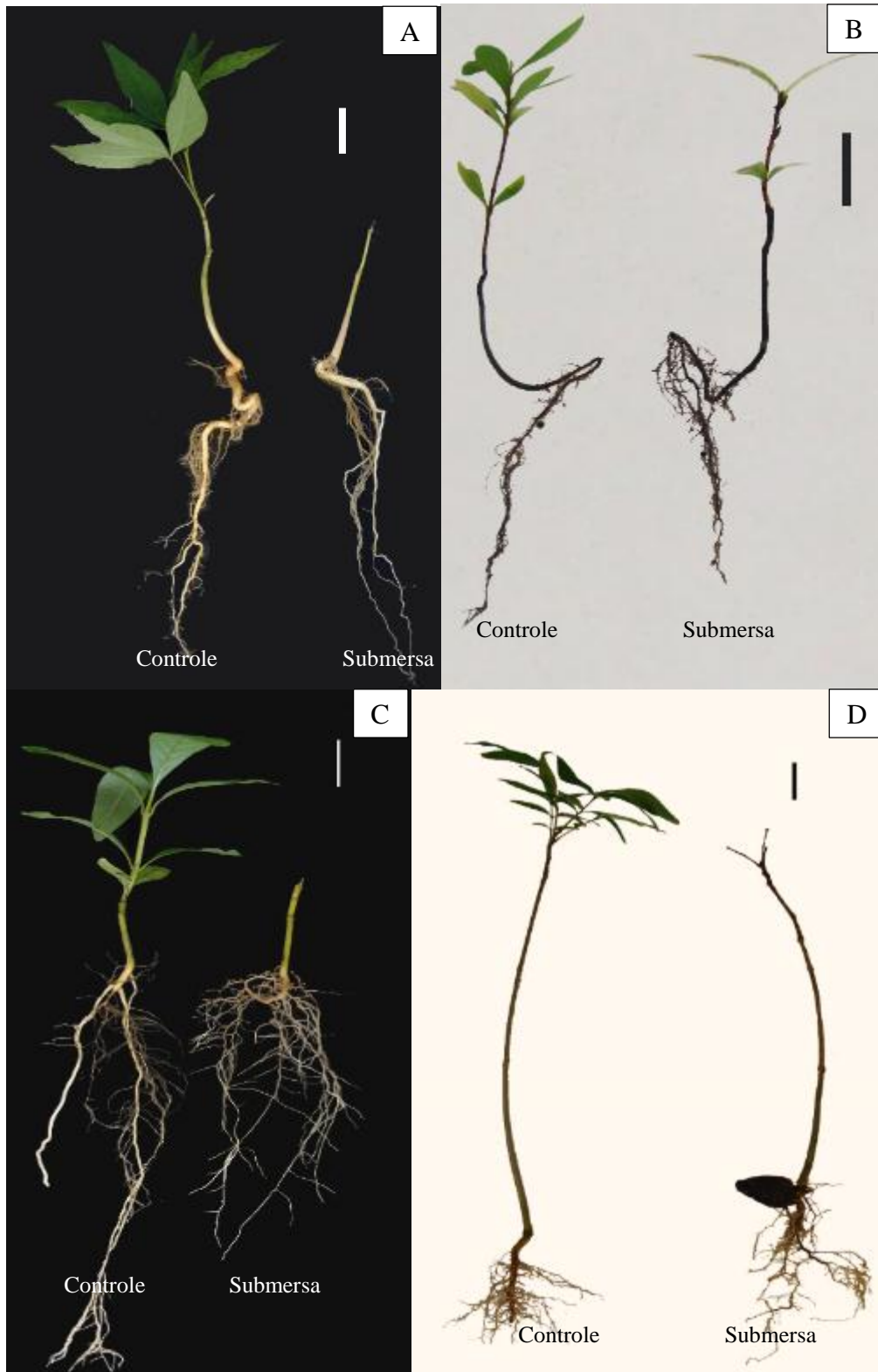


Figura 6: plântulas após 90 dias de tratamento (plântulas submersas a direita) A - *Crataeva tapia* L.; B - *Eugenia inundata* Dc.; C - *Genipa americana* L.; D - *Simaba guianensis* Aubl. As barras indicam escala de 2 cm.

*E. inundata* apresentou o comportamento oposto, quase não perdendo folhas durante todo o período de submersão. As folhas mantidas apresentaram um aspecto saudável durante todo esse período não sendo observados sinais de necrose ou clorose (Fig. 8). Os indivíduos controles também apresentaram uma manutenção das folhas já existentes e foi observada uma baixa produção de novas folhas para essa espécie. Mesmo após a retirada da submersão, *E. inundata* apresentou uma resposta mais lenta comparada às demais espécies quanto à produção de novas folhas.

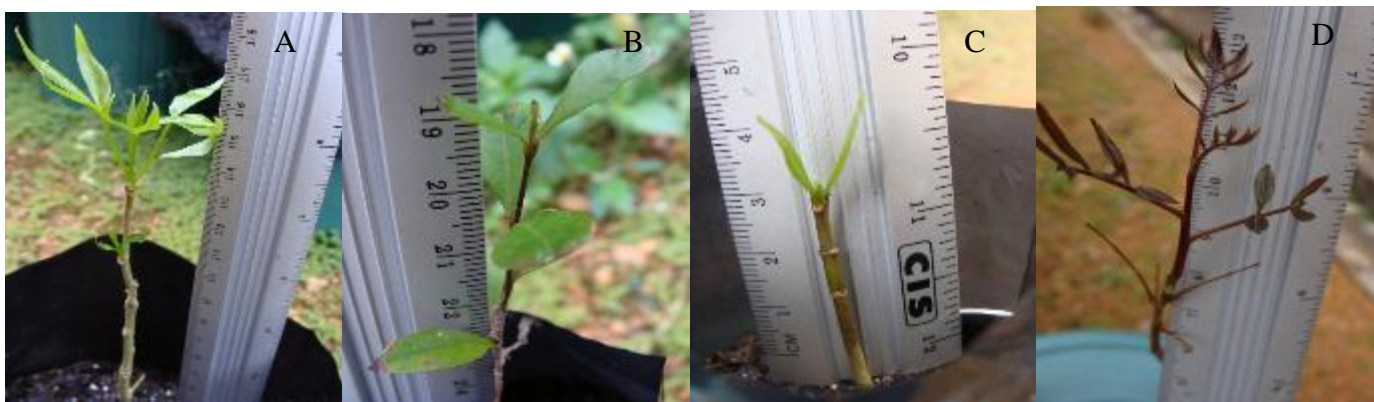


Figura 7- Plântulas 5 dias após serem retiradas de um período de 90 dias de submersão A - *Crataeva tapia* L.; B – *Eugenia inundata* Dc.; C - *Genipa americana* L. ; D- *Simaba guianensis* Aubl.

*S. guianensis* e *G. americana* apresentaram uma perda gradual das folhas durante o período de submersão. Estas espécies parecem ter reabsorvido os nutrientes antes de liberarem suas folhas, ocorrendo um amarelecimento gradual das mesmas antes de sua liberação (Fig. 8). Para *S. guianensis* período de perda de folhas se prolongou até o trigésimo dia de submersão, quando todos os indivíduos estavam sem folhas, já *G. americana* apresentou uma queda mais lenta sendo que as últimas folhas foram perdidas após 80 dias de submersão. As plantas controles de ambas as espécies mantiveram suas folhas durante o período, sendo observada uma baixa produção de novas folhas. As duas espécies apresentaram uma rebrota rápida no período pós-submersão, assim como *C. tapia*, ocorrendo um brotamento das novas folhas nos primeiros dias após a retirada do estresse de inundação (Fig. 8). As novas folhas produzidas apresentaram aspecto semelhante às folhas das plantas controles.

Quanto ao incremento em altura observa-se uma paralisação total no crescimento da parte aérea das plantas mantidas submersas, enquanto as plantas controles mantiveram um ritmo relativamente constante de crescimento durante todo o período (Fig. 8). Para o incremento em

comprimento da parte aérea observou-se um efeito significativo do tratamento ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ), para as quatro espécies. Para *C. tapia*, *E. inundata* e *S. guianensis* as diferenças no incremento acumulado entre os tratamentos passaram a ser significativas aos 75 dias. Para *G. americana* isso ocorreu aos noventa dias ( $p < 0,05$ ). *C. tapia* e *S. guianensis* devido a sua rápida recuperação, 25 dias após o período de submersão já não apresentavam diferenças entre os tratamentos.

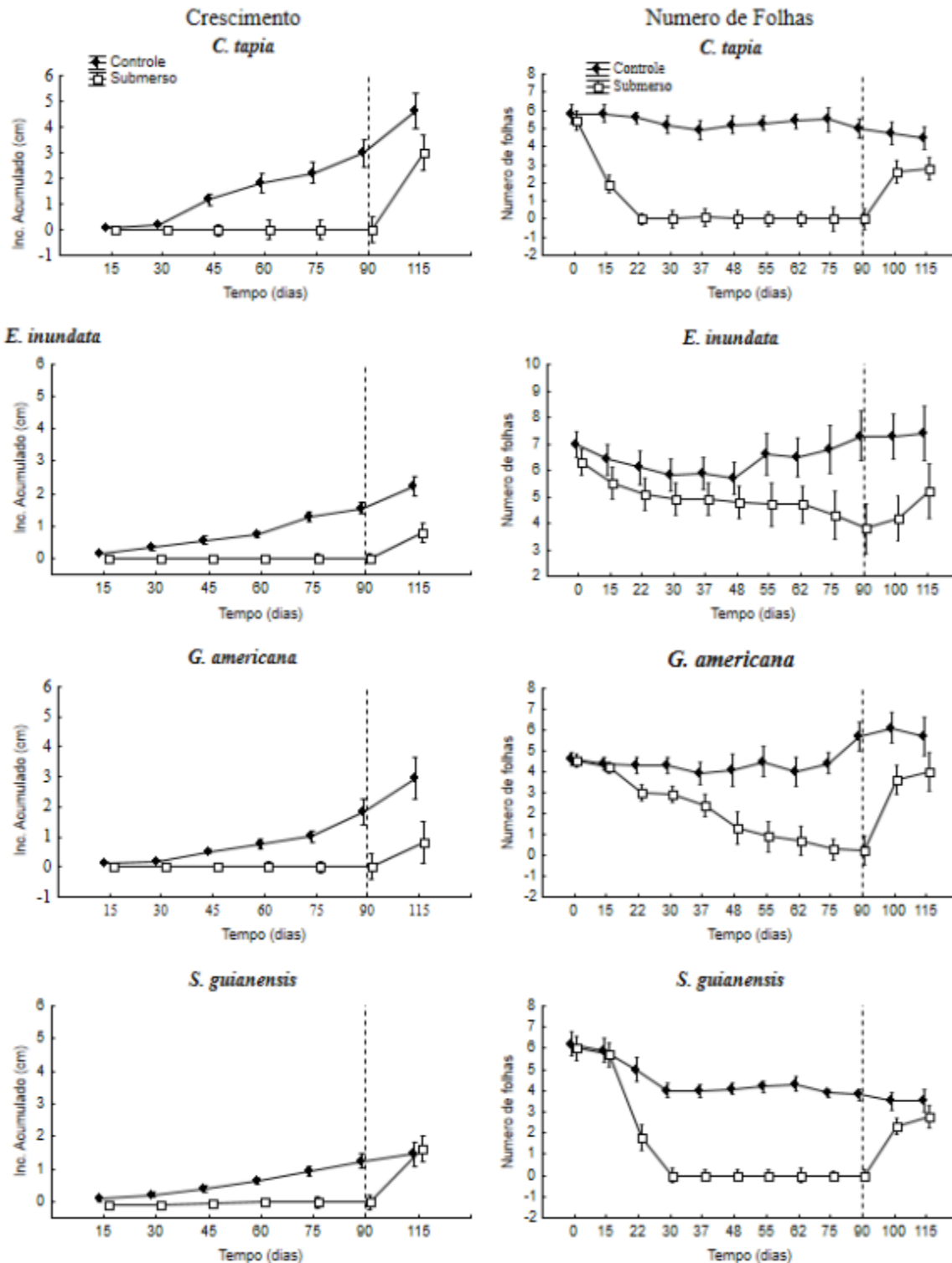


Figura 8 - Incremento e número total de folhas para as quatro espécies ao longo do tempo (115 dias). Linhas tracejadas aos noventa dias indicam o final do tratamento de submersão, quando as plantas submersas foram colocadas nas mesmas condições dos controles. Barras indicam erro padrão.

Para biomassa das raízes (Tab. 2) não foi encontrada diferença significativa para nenhuma das espécies em nenhum dos períodos. Apenas para *G. americana* e *S. guianensis* foram verificadas diferenças significativas na biomassa da parte aérea ( $p < 0,05$ ), onde os maiores valores ocorreram para as plantas controles. Para *S. guianensis* essa diferença na biomassa das raízes não foi mais observada após os 25 dias de recuperação.

Em relação a razão raiz/parte aérea para as espécies *C. tapia* e *G. americana* observou-se maiores valores para o tratamento submerso, enquanto para *E. inundata* foram verificados maiores valores para a razão após o período de recuperação. *S. guianensis* não teve diferenças significativas entre plantas submersas e não submersas.

Tabela 2: Biomassa seca da parte aérea e a razão entre as massas das raízes e parte aérea das plantas submersas e controle após 90 dias de submersão e 25 dias depois da retirada do tratamento de submersão. Valores entre parênteses indicam desvio padrão, letra diferentes para a mesma espécie indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o período, entre os tratamentos.

ESPÉCIE	TRATAMENTO	PARTE AÉREA(g)		RAIZ / PARTE AÉREA	
		90 dias	Recuperação	90 dias	Recuperação
<i>Crataeva tapia L.</i>	Controle	1,52(0,31)	1,74 (0,29)	1,75(0,91)a	2,53(0,59)
	Submerso	1,12 (0,58)	1,57 (0,29)	3,64(0,71)b	2,41(1,11)
<i>Eugenia inundata DC.</i>	Controle	0,26 (0,09)	0,34 (0,06)	0,96(0,65)	0,58(0,24)a
	Submerso	0,19 (0,04)	0,27 (0,07)	0,92(0,34)	0,87(0,15)b
<i>Genipa americana L.</i>	Controle	0,40 (0,19) a	0,51 (0,12) a	1,08(0,35)a	0,97(0,3)
	Submerso	0,17 (0,04) b	0,39 (0,05) b	2,73(0,3)b	1,38(0,6)
<i>Simaba guianensis AUBL.</i>	Controle	1,18 (0,32) a	1,18 (0,1)	0,76(0,41)	0,95(0,24)
	Submerso	0,71 (0,21) b	0,96 (0,5)	1,32(0,55)	0,94(0,28)

Em relação a anatomia interna para *C. tapia* aos 90 dias de experimento nota-se o desenvolvimento de periderme (Fig. 10), sendo essa originada na região da endoderme e do periciclo, isso para as plantas submersas e controles, as demais espécies ainda apresentavam a

estrutura primaria com epiderme e internamente uma exoderme, essa com lignificação. Em *S. guianensis* ocorreu um maior espessamento das células epidérmicas comuns nos indivíduos submersos (Fig. 13).

Na região do córtex para *E. inundata* ocorreu a formação de aerênquimas lisígenoesquizadozógeno nas plantas submersas. Além de um maior desenvolvimento da endoderme para as plantas controles, com espessamento mais acentuado e células maiores quando comparadas aos indivíduos submersos. Para *G. americana*, não foi observada a formação de aerênquima, mas as células apresentam uma organização cúbica (Fig. 9) e os indivíduos submersos apresentavam um menor número de camadas 4-5 contra 7 a 9 para as controles (Fig. 12). Para *S. guianensis* não foram identificadas diferenças no córtex (Fig. 13) e para *C. tapia* a região do córtex já havia sido descartada com o desenvolvimento da periderme (Fig. 10)

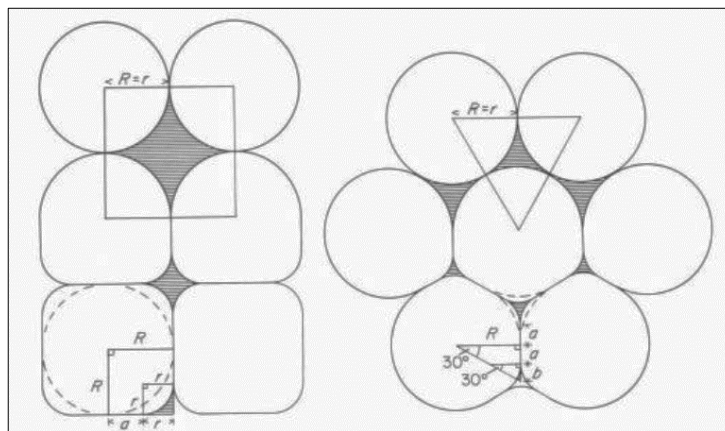


Figura 9: Esquema do arranjo das células córtex, cubico (a esquerda) e hexagonal Retirado de JUSTIN e ARMSTRONG (1987)

Em relação ao cilindro vascular, em *C. tapia* ocorreu nos indivíduos controles uma região cambial bem definida com até 4 camadas na região cortada, em contraste com as plantas submersas onde essa região apresentou uma única camada de células. As células parenquimáticas do tecido vascular dos indivíduos submersos apresentaram um menor espessamento das paredes Para *E. inundata* e *S. guianensis* o crescimento secundário é mais pronunciado nas plantas controle (Fig. 11 e 13).

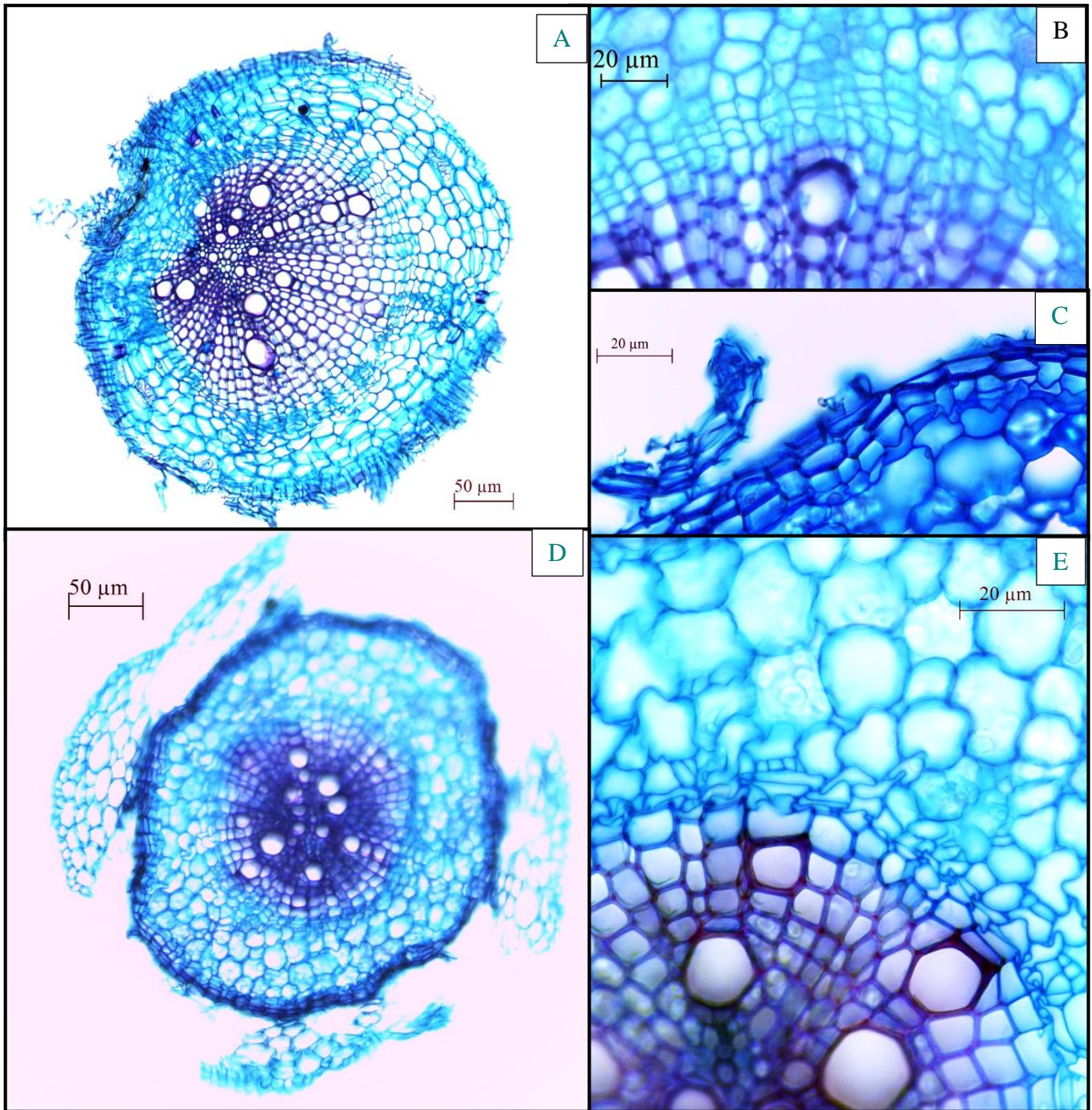


Figura 10: *Crataeva tapia*: A-B-C: controle; D-E submersa A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a zona cambial; C: região de início do desenvolvimento da periderme; D: Visão geral da raiz, com resquícios da região do cortex. C detalhe da região da periderme se desenvolvendo a partir das células da endoderme; E: Região do xilema e floema secundários e cambio vascular.

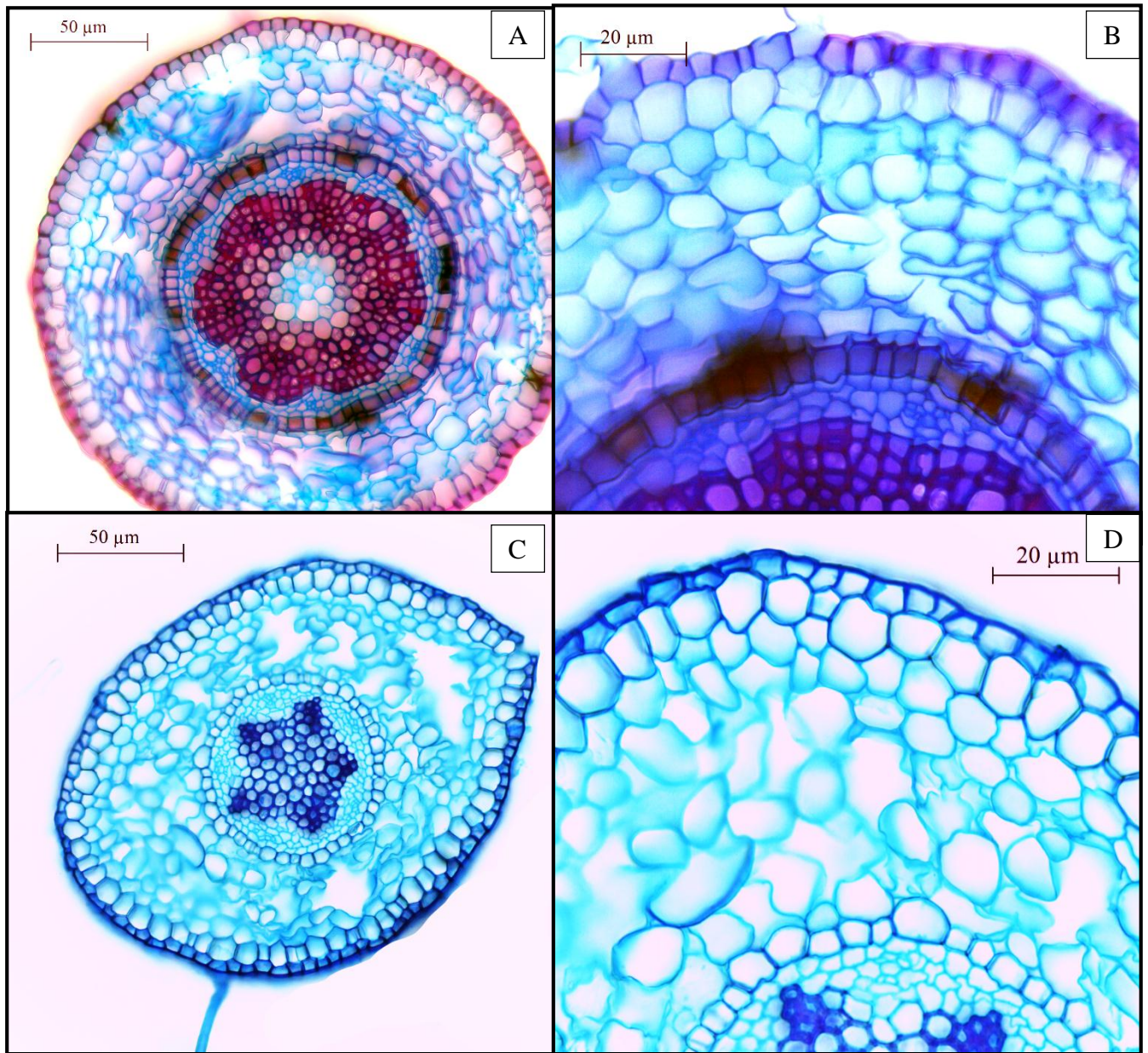


Figura 11: *Eugenia inundata*: A-B: controle; C-D: submerso; A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a região da endoderme; C: Visão geral da raiz, com presença de aerenquima no cortex. D detalhe da região do cortex com aerenquima e região da endoderme.



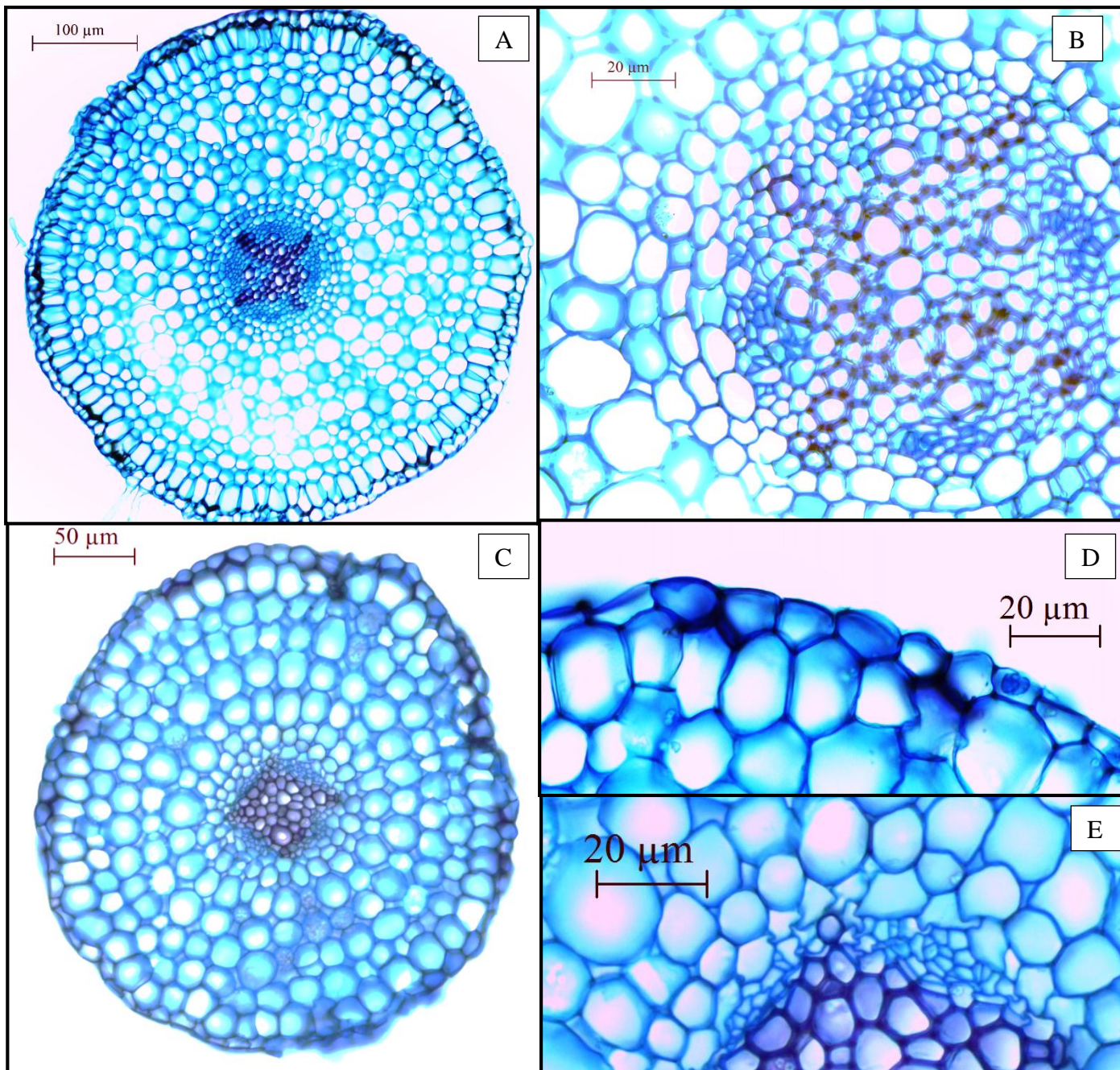


Figura 12: *Genipa americana*; A-B: Controle; C-D-E: submerso; A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a endoderme e cilindro vascular em crescimento primario; C: Visão geral da raiz. D detalhe da epiderme e da exoderme; E: Detalhe do cortex e da endoderme.

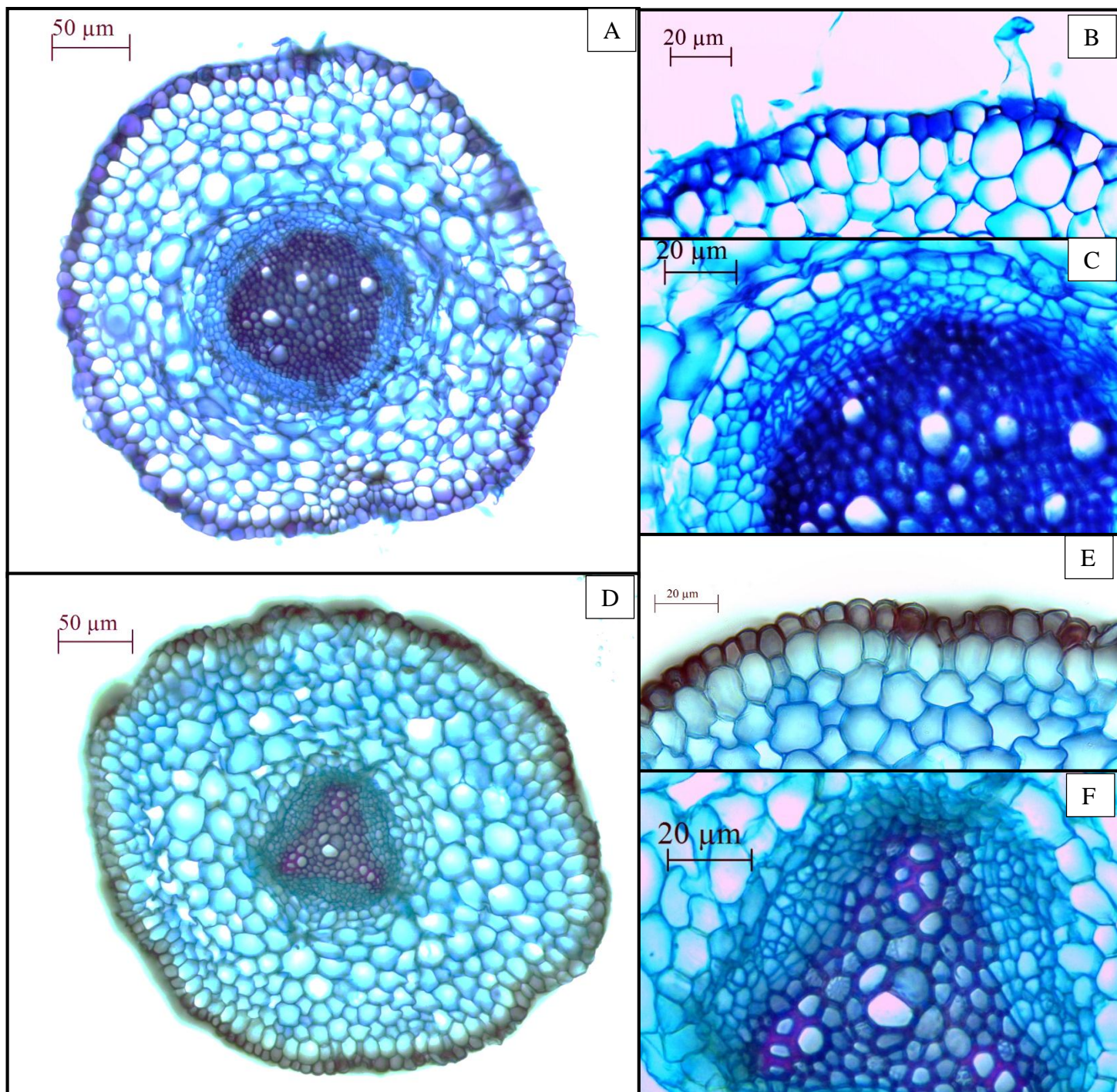


Figura 13: *Simaba guianensis*: A-C: controle; D-F: submersas; A: vista geral da região da raiz principal; B: detalhe evidenciando a região da epiderme e exoderme; C- Detalhe do cilindro vascular e da região da endoderme; D: Visão geral da raiz. E: região da epiderme e exoderme. F: Cilindro vascular e região da endoderme.

## 1-6 DISCUSSÃO

Baixas taxas de mortalidade ou ausência da mesma, como registrado para as espécies estudadas, já foi relatada para espécies com origem nas áreas úmidas da Amazônia Central quando em condição de submersão. Parolin (2009) aponta vários estudos anteriores (ZIBURSKI, 1990, OLIVEIRA-WITTMANN *et. al.* 2008; SCHULUTER, 1989) que relacionaram baixas porcentagens de mortalidade (<30%) para plântulas de nove espécies submersas de áreas alagáveis da Amazônia, sendo que para *C. tapia*, Ziburski (1990) encontrou maiores taxas de mortalidade para as plantas não submersas em relação às submersas após 90 dias de submersão. Ferreira *et. al.* (2007) estudando plântulas de *Himatanthus sucuuba* com sementes provenientes da várzea e terra firme, encontrou baixa mortalidade para as plântulas com origem na várzea (<30%) enquanto as plântulas das matrizes da terra firme tiveram 100% de mortalidade, o que indica a alta especialização das plantas desses ambientes sujeitos ao alagamento.

A redução do crescimento ou sua parada durante o período de estresse é um resultado esperado que já foi relatado para plantas em estado de submersão nos ecossistemas na Amazônia (WORBES, 1989, 1997; WORBES e JUNK, 1989). Parolin (2001b) relata que a maioria das plantas para seu crescimento com uma a três semanas de submersão, para as quatro espécies estudadas aqui, isso ocorreu logo na primeira semana, indicando o rápido efeito da submersão nas espécies. Parolin, (2009) afirma que no início e final do período submerso as plantas podem apresentar um crescimento e isto pode estar associado à incidência maior de luz na decida e subida da água quando a coluna de água é menor. Esse estado de dormência pode ajudar a planta a superar o período submerso e garantir a manutenção de uma reserva apropriada de energia para o rápido crescimento na fase favorável (PAROLIN, 2009). Para as espécies estudadas ocorreu uma recuperação rápida após o estresse, sendo que para *C. tapia* e *S. guianensis* observou-se um maior incremento em altura no período de recuperação para as plantas que foram submersas em comparação aos controles no mesmo período.

O baixo ritmo de crescimento encontrado para as plantas não submersas já foi apontado para espécies que ocorrem na porção mais baixa do terreno, sendo as áreas que permanecem mais tempo inundadas, tanto para espécies da várzea como para espécies de igapó (WORBES, 1989; PAROLIN, 1998). Parolin (2002) comparando espécies de várzea e igapó de porções altas e baixas do relevo verificou um baixo crescimento para as espécies das regiões mais baixas, essa estratégia

parece estar associada a um acúmulo das reservas visando superar a fase de submersão, visto que essas plantas, principalmente no estágio de plântula dificilmente conseguiriam atingir uma altura maior que o nível da água durante seu primeiro ano de vida. Para a biomassa da parte aérea as diferenças encontradas estão associadas principalmente a perda de folhas nas plantas que foram mantidas submersas. Após noventa dias de submersão já observa-se diferenças para *G. americana* e *S. guianensis*, confirmando uma redução na produtividade encontrada das espécies, enquanto para as duas outras espécies a ausência de diferenças significativas da biomassa da parte aérea pode ser explicada pelo baixo ritmo de crescimento e pela manutenção de número de folhas relativamente constante nas plantas controles, onde foi observada uma renovação das folhas sem um aparente aumento no número total das mesmas. Para *S. guianensis* a rápida recuperação constatada no número de folhas e no incremento total, são reforçados pelos dados de biomassa e pode-se observar que a espécie não apresenta mais diferença de biomassa entre controle e tratamento após um mês fora da condição de submersão.

O diferente comportamento encontrado para a fenologia das folhas entre as quatro espécies estudadas, já foi relatado por Waldhoff *et al.*, (2002), indicando que para espécies em condição de alagamento seja parcial ou total, o tempo de vida das folhas pode variar de acordo com a espécie e seu ambiente de origem. A manutenção das folhas como observado em *E. inundata*, é um comportamento apontado como típico de espécies de igapó, e está associada à economia de recursos visto que essas áreas são geralmente pobres em nutrientes, assim as folhas apresentam uma maior longevidade quando comparadas as espécies da várzea (MEDINA, 1984; WORBES, 1997). Outro fator importante observado para essas folhas mantidas, é que as mesmas não apresentaram sinais de danos, tornando-as hábeis a retomar suas atividades no período de seca. Alguns autores ressaltam que a manutenção e recuperação dos sistemas fotossintetizantes é importante para a sobrevivência dessas plantas principalmente em ambientes em que a disponibilidade de recursos é baixa, (PAROLIN, 2009; WALDHOFF *et al.*, 1998). PAROLIN (2001) encontrou para mudas de *N. amazonum* que as taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> se recuperam em até 80% dos valores normais um pouco mais de 5 minutos, garantindo uma resposta rápida, nos primeiros momentos após a saída da condição de alagamento.

A perda de folhas sem a aparente reabsorção de nutrientes, como observado em *C. tapia* é um sinal de que houve uma rápida indução da abscisão dessas folhas e diferente do que foi observado nas plântulas do controle dessa espécie durante o experimento, que apresentavam um

amarelecimento das folhas até que essas fossem descartadas, para as plantas submersas parece que a estratégia foi apenas sua liberação, o que pode ser uma resposta pura e simples do aumento de etileno que é relatado para condições de baixa disponibilidade de oxigênio (KOZLOWSKI, 1997). O comportamento encontrado para *C. tapia* é típico das espécies de várzea, que apresentam maior proporção de espécies decíduas e maior produção de novas folhas (ADIS *et al.*, 1969). Essa dinâmica também pode ser explicada pela perda das funções da folha durante o período submerso, que pode estar relacionada com a grande quantidade de sedimento (IRION *et al.*, 1983). Com a deposição de sedimentos nas folhas estas podem perder suas funções quando emergem, sendo para essas plantas melhor dispensá-las já que sua perda ou substituição não é fator limitante para sobrevivência (WORBES, 1997) visto a alta concentração de nutrientes nas áreas de várzea.

Já a resposta encontrada para *S. guianensis* e *G. americana* pode ser considerada uma resposta intermediária, pois apesar de dispensarem suas folhas parece ter havido uma reabsorção dos nutrientes o que indica uma forma de economia para essas espécies. Esse nível intermediário de resposta indica uma estratégia mais conservadora, que pode ser vantajoso para locais menos extremos onde o tempo de permanência em condições submersas seja menor, evitando assim a completa eliminação dos nutrientes contidos nas folhas e dos recursos investidos na produção das mesmas. Para essas espécies também foi observada uma rápida recuperação após o período de submersão com uma rápida produção de novas folhas alcançando rapidamente o número de folhas dos controles.

Observando os aspectos gerais na anatomia interna da raiz, verifica-se um menor no crescimento das plântulas submersas. Plantas submersas de *C. tapia* apresentavam apenas uma camada de células na região cambial comparada com quatro ou cinco dos controles. Para *E. inundata* e *S. guianensis* observa-se um crescimento secundário mais acentuado nos controles. Esse desenvolvimento diferenciado, corrobora com os dados de crescimento da parte aérea indicando uma redução no crescimento dos indivíduos submersos.

A presença de uma exoderme nas espécies aqui estudadas, é atribuída como uma barreira hidrofóbica que contribui para uma resistência em condições de crescimento não favoráveis, como níveis baixos de oxigênio e salinidade-elevada. (DE SIMONE, 2003). Três das quatro espécies aqui estudadas apresentaram essa estrutura, e por ter sido encontrada tanto nos controles como nas plantas submersas, nota-se ser uma estrutura constitutiva, mas que representa uma vantagem para os indivíduos quando submersos. Segundo Armstrong *et al.* (2000), exodermes suberificadas

funcionam como barreiras para a perda de oxigênio radial, funcionando como suporte para plantas crescendo em condições de hipóxia. Além disso para *S. guianensis* o maior espessamento observado na epiderme pode estar associada a essa proteção, atribuída a uma maneira de reduzir a perda de oxigênio radial.

Para a região cortical o arranjo das células e a organização dos espaços intercelulares definem a porosidade e assim a facilidade de difusão do oxigênio (JUSTIN e ARMSTRONG, 1987, ESAU, 1976). A conformação do parênquima cortical no arranjo cúbico proporciona uma maior porosidade quando comparado ao formato hexagonal garantindo maiores espaços sem a formação de aerênquima, essa é uma característica já relacionada para plantas como resposta a ambientes alagáveis, para a espécie *G. americana* foi observada essa constituição tanto nos indivíduos controles como submersos indicando uma maior porosidade. Além disso (JUSTIN e ARMSTRONG, 1987) afirmam que o arranjo cubico proporciona uma maior tendência na formação de aerênquima quando comparado ao arranjo hexagonal.

A formação de aerênquimas pode ter duas origens distintas, podendo ser constitutiva denominada esquizógena, e ocorre em espécies que se desenvolvem em ambientes alagados ou úmidos ou lisígena, formada através da lise das células, sendo identificada pela presença de fragmentos de parede de células nos espaços presentes no tecido desenvolvido (ESAU, 1976; SMIRNOFF E CRAWFORD, 1983). Para a única espécie que formou aerênquima, *E. inundata*, observou-se a formação de aerênquima lisígeno-esquizógeno no córtex das raízes principais das plantas submersas. Ferreira (2009) observou para as plântulas *Himatanthus sucuuba* que se encontravam sob inundação total a formação de grandes aerênquimas nas raízes.

## 1-7 CONCLUSÃO

Mesmo sobre um período relativamente longo de submersão as plantas das quatro espécies demonstraram a sua alta tolerância a essas condições, não sendo registrado mortes nem danos severos as mesmas em condições de hipóxia.

A submersão afetou diretamente o crescimento das plantas durante o período de submersão, não sendo registrado incremento na parte aérea. A dinâmica observada para as folhas ocorreu de forma diferenciada para cada espécie. Com a manutenção das folhas em *E inundata*, espécie típica de igapó e a queda nas demais.

Não foram observada mudança ou surgimento de estruturas morfológicas externas associadas a plantas de ambientes alagados. Em relação a alterações na anatomia das raízes, *E. inundata* que produziu aerênquima lisígeno-esquizógeno no córtex da raiz principal e *S. guianensis* apresentou maior espessamento nas células epidérmicas. Além disso foi encontrada exoderme em *Eugenia inundata*, *Genipa americana* e *S. guianensis*, estrutura que funciona como barreira na perda de oxigênio.

As quatro espécies apresentaram uma recuperação rápida quando retiradas da condição de submersão, com uma rápida rebrota e retomada do crescimento, que para *C. tapia* e *S. guianensis* superou o dos controles.

## 1-8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREV, V. Y.; VARTAPETIAN, B. B. Induction of alcoholic and lactic fermentation in the early stages of anaerobic incubation of higher plants. **Phytochemistry**, v. 31 p. 1859-1861,1992.

COUTINHO, L. M.; STRUFFALDI, Y. Observações sobre a germinação das sementes e o crescimento das plântulas de uma leguminosa da mata amazônica de igapó (*Parkia auriculata* Spruce Mss.). **Phyton**, v. 28, p. 149-159, 1971.

CRAWFORD, R. M. M.; ZOCHOWSKI, Z. M. Tolerance of anoxia and ethanol toxicity in chickpea seedlings (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 35, n. 10, p. 1472-1480, 1984.

DE SIMONE O, HAASE K, MULLER E, JUNK WJ, HARTMANN K, SCHREIBER L, SCHMIDT WB. Apoplasmic barriers and oxygen transport properties of hypodermal cell walls in roots from four Amazonian tree species. **Plant Physiology** v. 132 p. 206–217, 2003.

ESAU, K. **Anatomia das Plantas com Sementes**. Edgard Blücher, São Paulo, p. 129. 1976.

FERREIRA, L. Effects of the duration of flooding on species richness and floristic composition in three hectares in the Jaú National Park in floodplain forests in central Amazonia. **Biodiversity and Conservation**, v. 6, n. 10, p. 1353-1363, 1997.

FERREIRA, C.S. M.T.F. PIEDADE, W.J. JUNK, P. PAROLIN Floodplain and upland populations of Amazonian *Himatanthus sucuuba*: effects of flooding on germination, seedling growth and mortality **Environ. Experimental Botany**., v. 60, p. 477–483, 2007.

IRION, G., ADIS, J., JUNK, W.J., WUNDERLICH, F. Sedimentological studies of the Ilha de Marchantaria in the Solimões/Amazon River near Manaus. **Amazoniana** v. 8, p. 1–18, 1983.

JUNK WJ. Flood tolerance and tree distribution in Central Amazonian floodplains. In: **Tropical forests: botanical dynamics, speciation and diversity**. Nielsen LB, Nielsen IC, Balslev H. eds. London: Academic Press. 1989.

JUSTIN, S.H.F.W.; ARMSTRONG, W. The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. **New Phytologist.**, Cambridge, v. 106, p. 465-495, 1987.

KELSEY, R. Anaerobic induced ethanol synthesis in the stems of greenhouse-grown conifer seedlings. **Trees-Structure and Function**, v. 10, n. 3, p 183-185, 1996.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology**. v. 17, p. 490–490. 1997.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Seropédica, 1997.

KUBITZKI K. The ecogeographical differentiation of Amazonian inundation forests. **Plant Systematics and Evolution**. v. 162 p. 285–304, 1989.

LOBO, P.C., AND JOLY, C.A. Tolerance to hypoxia and anoxia in neotropical tree species. **Oecologia Brasiliensis v. 4**, p. 137–156. 1998.

LOBO, P. C.; JOLY, C. A. Aspectos ecofisiológicos da vegetação de mata ciliar do sudeste do Brasil. In: **Matas ciliares: conservação e recuperação**. Rodrigues, R.R.; Leitão Filho, H.F. (Eds.). São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Fapesp. p.143 –157. 2000.

LIAO, C. T.; LIN, C. H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. In: **Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life sciences**, v. 25, n. 3, p. 148-57, 2001.

MEDINA, E. Nutrient balance and physiological processes at the leaf level. In **Physiological Ecology of Plants of the Wet Tropics**. Eds. E. Medina, H.A. Mooney and C. Vazquez-Yáñez. Dr. W. Junk Publ. The Hague, p 139—154, 1984.

OLIVEIRA-WITTMANN A., PIEDADE, M.T.F., PAROLIN, P., AND WITTMANN, F. Germination in four low-várzea tree species of Central Amazonia. **Aquatic Botany** v. 86, p. 197–203. 2007.

OLIVEIRA-WITTMANN A, LOPES A, CONSERVA AS, PIEDADE MTF. Germination and plant establishment in floodplain forests. In: Junk WJ, Piedade MTF, Parolin P, Wittmann F, Schongart J, eds. **Central Amazonian floodplain forests: ecophysiology, biodiversity and sustainable management**. Ecological Studies. Heidelberg: 2008.

PAIVA, J. G. A; FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MAGALHÃES, M. P. & GRACIANO RIBEIRO, D. Verniz vitral 500\*: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botânica Brasilica.**, v. 20, p. 257- 264. 2006.

PAROLIN P. Phenology and CO<sub>2</sub>-assimilation of trees in Central Amazonian floodplains. **Journal of Tropical Ecology** v. 16: p. 465–473. 2000.

PAROLIN, P. Seed germination and early establishment of 12 tree species from nutrient-rich and nutrient-poor Central Amazonian floodplains. **Aquatic Botany**, v. 70, n. 2, p. 89-103, 2001a.



PAROLIN, P. Morphological and physiological adjustments to waterlogging and drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. *Oecologia*, v. 128 n 3, p326-335, 2001b.

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

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

PAROLIN, P., FERREIRA, L.V., JUNK,W.J. Central Amazonian floodplains: effect of two water types on the wood density of trees. **Verh. Int. Verein. Limnol.** v.26 n.3, p 1106–1112., 1998.

SCARANO, F.R.; CRAWFORD, R.M.M. Ontogeny and concept of anoxia-tolerance: The case of the leguminous tree *Parkia pendula*. **Journal of Tropical Ecology**, v. 8, n. 3, p. 349-352, 1992.

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

SCHLUTER U.B. **Morphologische, anatomische und physiologische Untersuchungen zur U<sup>2</sup> berflutungstoleranz zweier charakteristischer Baumarten des Weiß- und Schwarzwasser U<sup>2</sup> berschwemmungswaldes bei Manaus**. Ein Beitrag zur O<sup>2</sup> kosystemanalyse von Várzea und Igapó Zentralamazoniens. Dissertation, Universita<sup>2</sup>t Kiel. 1989.

WALDHOFF, D.; JUNK, W.J.; FURCK, B. Responses of three Central Amazonian tree species to drought and flooding under controlled conditions. **International Journal of Environment, Ecology**. v. 24 p. 237-252. 1998.

WALDHOFF D, JUNK WJ, FURCH B. Fluorescence parameters, chlorophyll concentration, and anatomical features as indicators for flood adaptation of an abundant tree species in Central Amazonia: *Symmeria paniculata*. **Environmental and Experimental Botany** v. 48 p. 225–235, 2002.

WORBES M. Growth rings, increment and age of trees in inundation forests, savannas and a mountain forest in the neotropics. **IAWA Bulletin** v. 10 p. 109–122, 1989.

WORBES, M. The forest ecosystem of the floodplains. **Ecological Studies**, v. 126, p. 223-265, 1997.

WORBES M, JUNK WJ. Dating tropical trees by means of C14 from bomb tests. **Ecology** v. 70 p. 503–507, 1989.

ZIBURSKI A. Ausbreitungs- und Reproduktionsbiologie einiger Baumarten der amazonischen U<sup>2</sup> berschwemmungswa<sup>2</sup>lder. PhD Thesis. University of Hamburg. 1990.

## **CAPITULO 2**

# **ALTERAÇÕES NAS RESERVAS DE CARBOIDRATOS EM RESPOSTA A SUBMERSÃO PROLONGADA**

## 2-1 INTRODUÇÃO

AS florestas alagáveis, encontradas na região da Amazônia Central, estão sujeitas a uma alternância entre uma fase aquática e uma fase terrestre (JUNK et al., 1989), impondo a algumas árvores e, principalmente às plântulas, períodos anuais de inundação superiores a 200 dias (PAROLIN, 2000). Dado que a tolerância ao alagamento difere entre espécies, a composição de espécies em áreas alagáveis é influenciada pela combinação de fatores como a frequência e duração da inundação, a tolerância das plântulas à saturação hídrica do solo e as características físico-químicas do solo (KOZLOWSKI, 1984; PEZESHK, 2001).

A distribuição de espécies se dá ao longo do gradiente de elevação do terreno, ocorrendo variação na composição de espécies ao longo deste gradiente, com a diversidade inversamente proporcional ao tempo de inundação de cada faixa de relevo, sendo as áreas que permanecem mais tempo alagadas menos diversas (KOZLOWSKI, 1984). A zonação de espécies arbóreas nos gradientes de inundação das florestas alagáveis amazônicas, especialmente nas várzeas, é bem documentada (JUNK, 1989; WORBES et al., 1992; WITTMANN et al., 2004) mostrando que devido à inundação, a diversidade de espécies nessas áreas é reduzida quando comparada as áreas não alagáveis (JUNK, 1993; CAPON, 2005).

Espécies que são submetidas a períodos regulares de inundação podem apresentar respostas diretas a inundação como, por exemplo, um rápido alongamento do caule ou pecíolos mantendo parte do vegetal, especialmente os limbos foliares, acima da superfície da água possibilitando que estas estruturas tenham acesso a maiores níveis de luminosidade e às concentrações mais elevadas de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> da atmosfera (LAAN E BLOM, 1990). Outras espécies reduzem seu metabolismo em resposta ao alagamento, buscando preservar as reservas de carboidratos na raiz, garantindo a capacidade de rebrota quando emersas.

Modificações estruturais (morfoanatômicas) e alterações bioquímicas podem ser responsáveis pelo sucesso, ou não, no estabelecimento das plântulas em ambientes estressantes, agindo em conjunto ou sozinhas. O alagamento pode afetar, não apenas a síntese de carboidratos, mas também a alocação desses compostos para as áreas meristemáticas e sua utilização no metabolismo e na produção de novos tecidos. A revisão de Liao e Lin (2001) mostrou que o alagamento do solo causa redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes e diminuição do crescimento e das atividades metabólicas das raízes que, por sua vez, passam a

demandar por menos carboidratos. Tais transformações provocariam o acúmulo de amido nas folhas e esgotamento de carboidratos nas raízes.

A energia armazenada pela planta é em grande parte explicada pelo rendimento fotossintético depositado como carboidratos não estruturais (amido e açúcares) na planta sendo que esses podem ser mobilizados posteriormente para oferecer suporte ao crescimento ou outras funções dentro da mesma (CHAPIN et al. 1990). A alocação de reservas permite a planta maiores condições de superar períodos de estresse, quando o balanço de carbono geralmente é negativo (JANZEN E WILSON 1974; LATT et al., 2000). A teoria econômica prevê que o investimento em armazenamento de reservas leva à redução no crescimento (CHAPIN et al. 1990). Porém é uma estratégia vantajosa em habitats com estresse frequente ou exposto a perturbação (IWASA, 1997).

Dois tipos de metabolismos de carboidratos são relatados para tolerância a anóxia em plantas. No catabolismo rápido, organismos considerados tolerantes apresentam um consumo de carboidratos mais elevados quando expostas ao ar, enquanto em alguns organismos apresentam uma redução drástica no consumo dos carboidratos chamado de modelo lento ou referenciado com “metabolic arrest” (GIBIS & GREENWAY, 2003).

Plantas submetidas ao alagamento e principalmente a submersão tem uma queda na fotossíntese, provocando um balanço de carboidratos negativo. Quando em condições de anóxia ou hipóxia, principalmente do sistema radicular podem ocorrer mudanças nos intermediários metabólicos e alterações no fluxo glicólico. Essas alterações são acompanhadas pelo acúmulo de um número variável de produtos, que podem ser tóxicos em plantas não tolerantes levando a sua morte (CRAWFORD & BRAENDLE, 1996; ELLIS et al., 1999; DENNIS et al., 2000; FELLE, 2005). Plantas tolerantes a baixos suprimento de oxigênio apresentam uma concentração elevada de reserva de carboidratos não estruturais como forma de suprir a aceleração da taxa de fermentação anaeróbica, que poderia resultar na depleção das reservas de carboidratos (ALBRECHT et al., 2004). Sendo que a taxa de fermentação é controlada pelo suprimento de açúcares solúveis disponíveis (SU et al. 1998). Dessa forma, a disponibilidade de açúcares para uso no metabolismo é que vai definir o nível de tolerância de uma espécie para uma determinada redução do nível de oxigênio no meio (PERATA et al., 1997; SCHLÜTER & CRAWFORD, 2001).

Visto essa ampla gama de respostas ao estresse imposto pelo alagamento e a capacidade das plantas de áreas alagáveis de tolerar essas condições, fica clara a importância de se conhecer melhor como esses mecanismos de tolerância ocorrem e quais as estratégias mais utilizadas e que promovem melhor adaptação a essa condição.

## **2-2 OBJETIVOS**

Determinar as alterações no metabolismo, como mudanças nas concentrações de carboidratos como açúcares solúveis e amido, que indicam como as reservas estão sendo utilizadas nas diferentes partes da planta. Além disso, acompanhar a dinâmica temporal desses dois tipos de carboidratos, verificando como ocorre o uso dessas reservas por um período prolongado de submersão, sua distribuição entre o caule e o sistema radicular e se existem diferenças no padrão de uso entre as espécies.

## **2-3. HIPÓTESE**

As espécies estudadas devem apresentar reservas que garantam sua sobrevivência durante o período que estiverem submersas. As respostas bioquímicas devem estar principalmente associadas à mudança do metabolismo das raízes de aeróbico para o anaeróbico, com um consumo das reservas de carboidratos estocadas nas raízes. Deve ocorrer um consumo lento e gradual dessas reservas ao longo do tempo, sendo consumidas inicialmente as reservas de açúcar solúveis, seguido do consumo das reservas de amido.

## **2-4 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram selecionadas quatro espécies, escolhidas devido a sua abundância nas áreas amostradas e por estarem situadas em ambientes de igapó baixo e várzea baixa que são classificadas como as áreas que sofrem o maior pulso de inundação e de maior duração. Espécies típicas destes ambientes podem ficar por mais de 200 dias submersas. As espécies escolhidas foram *Crataeva tapia* L (Capparaceae), *Eugenia inundata* Dc. (Myrtaceae), *Genipa americana* L (Rubiaceae), *Simaba guianensis* Aubl. (Simaroubaceae).

A produção de plântulas e delineamento do experimento seguiu o descrito no material e métodos gerais, das amostras produzidas algumas foram selecionadas para serem utilizadas nesse capítulo.

### **2-4-1 ANALISES BIOQUÍMICAS**

Para análise dos teores de amido, açúcares solúveis totais e a composição desses açúcares nas plântulas em cada um dos tempos 15, 30, 60, e 90 dias de duração do experimento 10 baldes foram sorteados, sendo coletadas 5 plântulas de cada uma das espécies de cada tratamento para cada tempo. As mesmas foram divididas em parte aérea (caule e folhas) e sistema radicular e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido. Para a realização das análises, todas as amostras foram liofilizadas e moídas em moinho de bola (Tecnal Ltda) para a extração de açúcares e amido. Para as análises, 10 mg de cada amostra de pó foi submetida a quatro extrações com 500  $\mu$ L de etanol 80% (v/v), incubada em banho-maria a 80 °C por 10 minutos. Após cada extração, a mistura foi centrifugada. Em seguida, feita a coleta do sobrenadante para uso na quantificação de açúcares solúveis totais em leitor de placas de Elisa (Spectra Max<sup>®</sup> 900) a um comprimento de onda de 490nm (DUBOIS *et al.*, 1956, MASUKO *et al.* 2005). Todas as medidas foram realizadas em triplicata. Os resultados foram comparados com curva padrão de glicose e os resultados calculados em equivalentes de glicose ( $\mu$ g/mg).

As análises de amido foram feitas com base na metodologia descrita por Amaral *et al.* (2007), na qual o resíduo da extração etanólica foi seco em liofilizador e após a secagem, adicionados 500  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilase termoestável (120U.ml<sup>-1</sup>). As amostras foram incubadas a 75 °C por 30 minutos (repetido 2x). Em seguida foram adicionados 400  $\mu$ L de amiloglicosidase (30 U ml<sup>-1</sup>) e a mistura de incubação mantida por 30 minutos a 50 °C (repetido 2x). A amostra foi submetida à digestão com ácido perclórico para a quantificação colorimétrica em leitor de placas de Elisa (Spectra Max<sup>®</sup> 900) a um comprimento de onda de 505nm com curva padrão de glicose.

### **2-4-2 ANALISE ESTATÍSTICA**

Para avaliação dos dados de amido e açúcares solúveis totais (AST) foram utilizadas ANOVAs com repetição no tempo para comparação dos fatores de tratamento (submerso e

controle). Os tempos utilizados foram 15, 30,60 e 90 dias. As ANOVAS foram seguidas do teste de comparações múltiplas de Tukey com 5% de significância para os efeitos significativos. Cada uma das espécies foi tratada individualmente para as análises. Os dados foram testados quanto à homogeneidade e normalidade.

## **2-5 RESULTADOS**

Os valores médios de amido se alteraram nos indivíduos submersos em relação aos controles para as espécies analisadas. Contudo, não houve um padrão único para as quatro espécies. *C. tapia* apresentou uma diminuição significativa das reservas de amido da parte aérea nas plântulas, porém de acordo com os testes de Tukey essas diferenças foram significativas apenas após os 30 dias de submersão. Com valores médios de 127,12 µg/mg para os controles e de 26,95 µg/mg para as plântulas submersas (Fig. 14-A). Dentro dos tratamentos não foram encontradas diferenças significativas em relação à variação no tempo. O valor médio final para as plântulas submersas foi de 19,73 µg/mg. Para as raízes não foram observadas variações significativas entre os tratamentos e nem nas plântulas submersas ao longo do tempo (Tab. 3). Os valores foram de 104,72 µg/mg aos 15 dias de submersão e de 98,34 aos 90 dias, enquanto para os controles observa-se uma variação ao longo do tempo (Fig. 14-B) com o maior valor aos 30 dias 186,89 µg/mg e o menor aos 60 dias 77,88 µg/mg. Para os açúcares solúveis na parte aérea observa-se um valor elevado nas plântulas submersas aos 15 dias em relação aos controles, contudo aos 30 dias esses valores se igualaram nos dois tratamentos e mantiveram-se relativamente constantes até o final do experimento (Fig. 14-C), enquanto nas plântulas controles não foram observadas variações ao longo do tempo. Nas raízes observa-se uma manutenção dos AST para as plântulas submersas e uma redução significativa para os controles ao longo do tempo (Fig. 14-D).

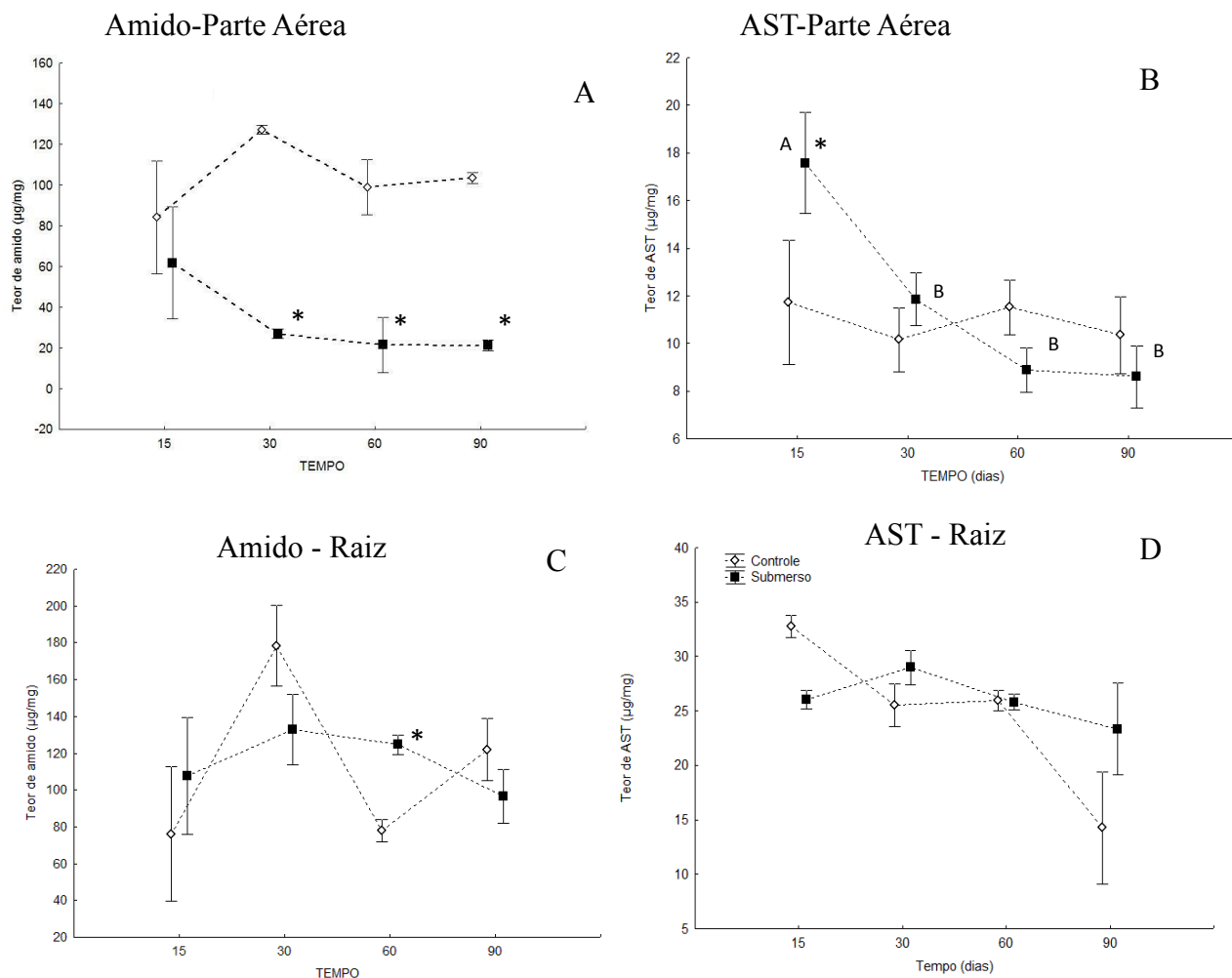


Figura 14: Concentração de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *C. tapia* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo para as plantas submersas.

Tabela 3: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *C. tapia*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ .

	TRATAMENTO	TEMPO	TEMPO*TRATAMENTO
AMIDO PA	<b>0,001</b>	0,694	0,153
AMIDO RAIZ	0,916	<b>0,034</b>	0,120
AST PA	0,396	<b>0,062</b>	0,129
AST RAIZ	0,528	<b>0,012</b>	0,064



Para *E. inundata* a concentração de amido na parte aérea dos controles pouco variou ao longo do tempo, enquanto plântulas submersas mostraram um forte decréscimo em relação aos controles já aos 15 dias de submersão (Fig. 15-A). Nas raízes ocorreu diferença estatística entre os tratamentos (Tab. 4), com menores valores para as plantas submersas e uma queda contínua na concentração de amido nas plântulas submersas ao longo dos 90 dias de submersão, de 119,90 aos 15 dias para 64,19  $\mu\text{g}/\text{mg}$  após 90 dias (Fig. 15-C).

Em relação aos açúcares solúveis na parte aérea o teste estatístico indicou uma interação entre os tratamentos e os tempos, assim ocorreram diferenças em todos os tempos com maiores valores para as plântulas submersas, exceto aos 30 dias. O maior valor médio observado ocorreu nas plantas submersas aos 15 dias com 22,41  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , contudo aos 30 dias de submersão esses valores se igualam nos dois tratamentos e ao final do experimento os valores foram de 10,62 e 7,43  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as plântulas submersas e controles (Fig. 15-C). As plantas submersas e não submersas desta espécie não diferiram nas concentrações de AST no sistema radicular durante os 90 dias de duração do período de submersão (Fig. 15-D).

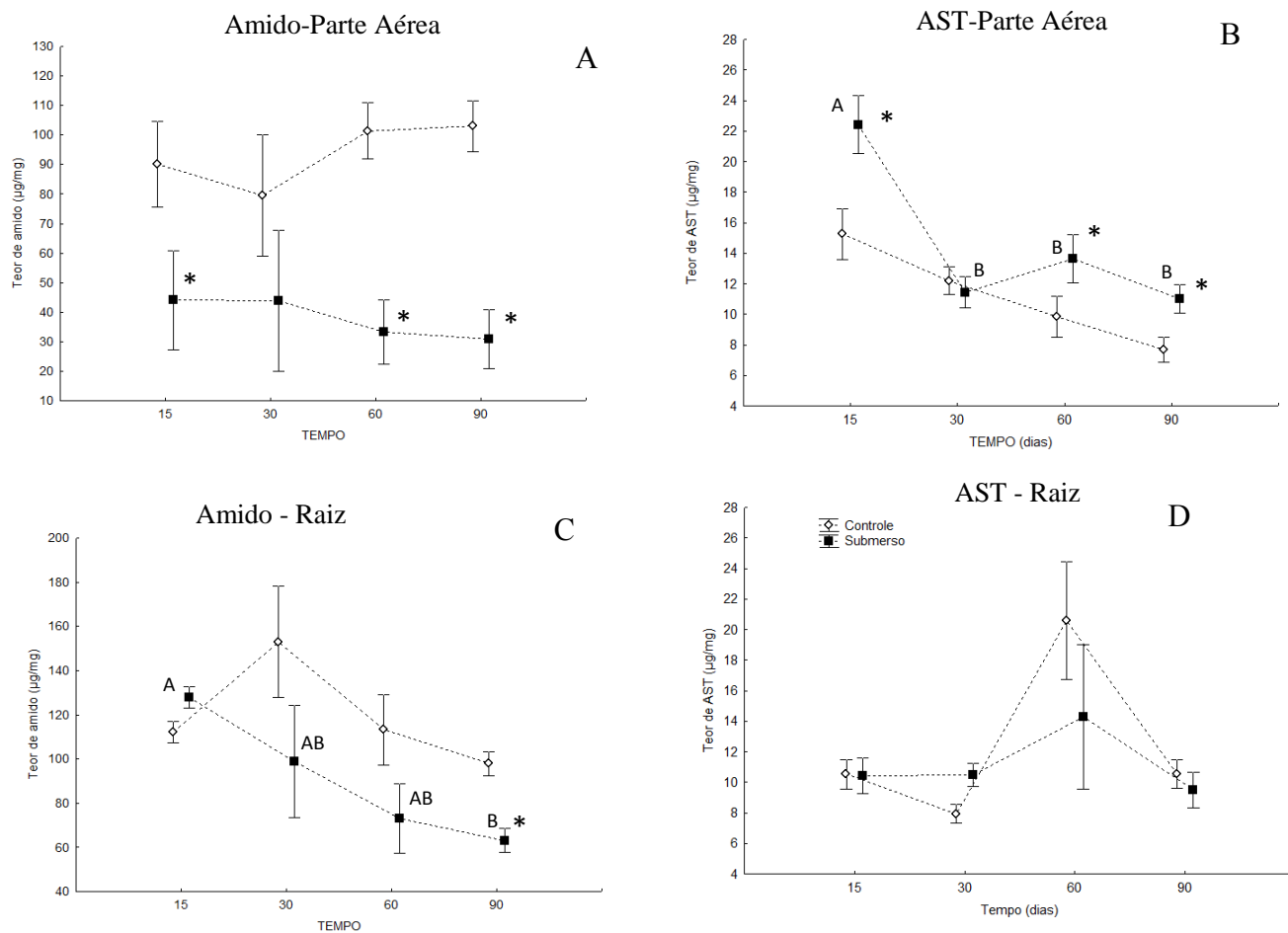


Figura 15: Teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *E. inundata* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo para as plantas submersas.

Tabela 4: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *Eugenia inundata*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ .

	TRATAMENTO	TEMPO	TEMPO*TRATAMENTO
AMIDO PA	<b>0,004</b>	0,979	0,592
AMIDO RAIZ	0,076	<b>0,028</b>	0,149
AST PA	<b>0,073</b>	<b>0,000</b>	<b>0,006</b>
AST RAIZ	0,573	<b>0,014</b>	0,276

*Genipa americana* em relação ao amido não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, tanto na parte aérea quanto nas raízes. Contudo, houve uma variação significativa ao longo do tempo (Tab. 5), com uma redução gradual da concentração de amido na parte aérea nas plantas submersas, o valor médio aos 15 dias foi de 167,19  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e após os 90 dias caiu para 100,57  $\mu\text{g}/\text{mg}$  (Fig. 16-A). Nas raízes não foram observadas diferenças significativas para os tempos nas plantas submersas e não submersas (Fig. 16-B).

Em relação aos açúcares na parte aérea ocorre uma variação significativa na concentração ao longo do tempo para as plantas submersas porem não foi verificada diferenças entre tratamentos, exceto aos 15 dias, onde os valores para as plântulas submersas foi significativamente maior, 33,40  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e nos controles o valor médio foi de 23,96  $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Aos trintas dias observa-se um decaimento nessa concentração que se manteve até os 90 dias com o valor médio de 10,94  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e 11,70  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as plântulas submersas e controle respectivamente (Fig. 16-C). Para as raízes não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ou ao longo do tempo.

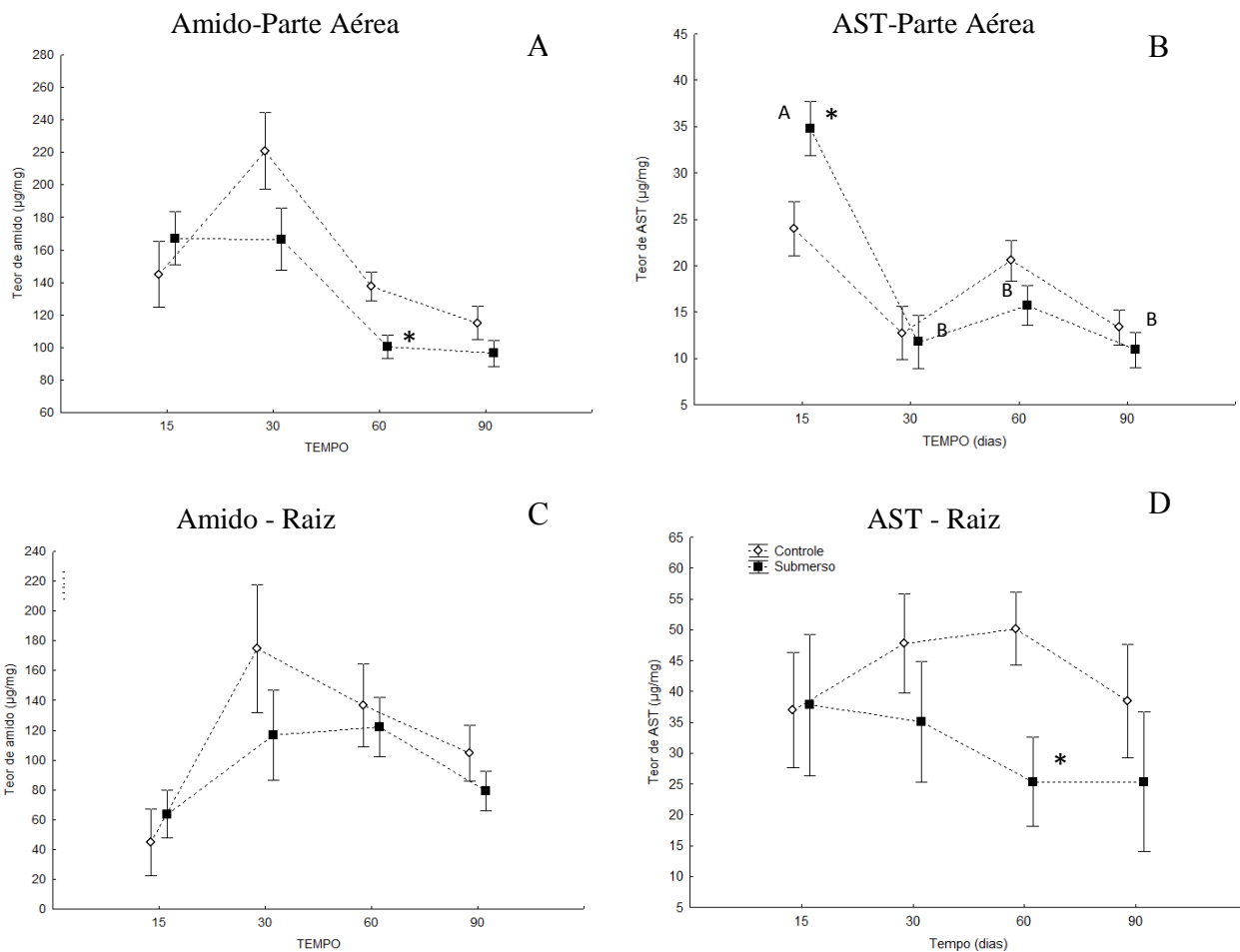


Figura 16: Teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *G. americana* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo para as plantas submersas.

Tabela 5: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *Genipa americana*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ .

	TRATAMENTO	TEMPO	TEMPO*TRATAMENTO
AMIDO PA	0,150	<b>0,001</b>	0,137
AMIDO RAIZ	0,125	<b>0,030</b>	0,604
AST PA	0,705	<b>0,000</b>	<b>0,031</b>
AST RAIZ	0,254	0,687	0,476

*S. guianensis* apresentou diferenças estatísticas nas reservas de amido na parte aérea ao longo do tempo para as plântulas submersas, com um decaimento das reservas de amido dos 15 para os 30 dias. Ocorre também diferenças entre os tratamentos com menores valores para as plântulas submersas a partir dos 30 dias de submersão, com valores médios de 46,80  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para os controles e de 17,69  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as plantas submersas. O valor médio aos 90 dias de submersão foi de 14,37  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as plântulas submersas e de 46,24  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para os controles (Fig. 17-A). Para as raízes houve diferença estatística entre os tratamentos, mas não ao longo do tempo (Tab. 6). Após 15 dias de submersão, as concentrações de amido no sistema radicular das plantas submersas já foram menores do que nos controles e essas diferenças permanecem por todo o período, os valores aos 90 dias foram de 95,53  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e 66,24  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as plântulas controle e submersa respectivamente (Fig. 17-B).

Em relação às concentrações de AST, seguindo o padrão das outras espécies, *S. guianensis* apresentou uma variação significativa ao longo do tempo para as plântulas submersas, foram verificados maiores valores para os AST na parte aérea aos 15 dias seguidos de uma queda aos 30 dias, quando esses valores estabilizaram até os 90 dias. Os valores para as plântulas submersas aos 15 dias ficou na faixa de 13,44  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e de 12,15 para os controles, e de 6,76  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e 7,96  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para controles e submersas respectivamente aos 90 dias (Fig. 17-C). Para as raízes foi verificado um efeito significativo do tempo e do tratamento (Tab. 6). Nos controles observa-se um aumento gradual das reservas, já para as plântulas submersas observa-se uma oscilação ao longo do tempo, as maiores diferenças foram observadas aos 90 dias com valores de 22,10  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as plântulas controles e de 5,25  $\mu\text{g}/\text{mg}$  para as submersas (Fig. 17-D).

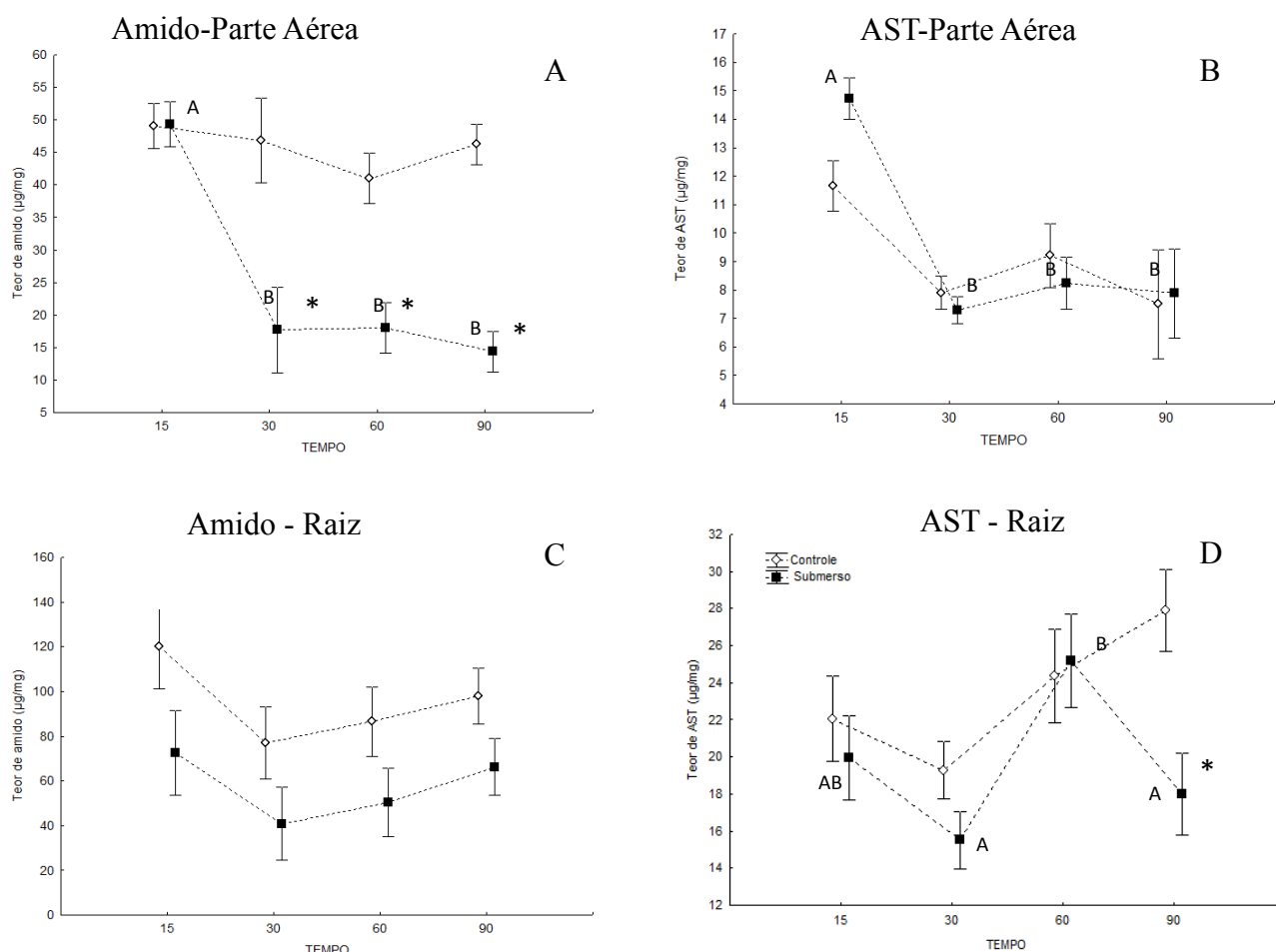


Figura 17: Teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) para *S. guianensis* ao longo do tempo para a parte aérea e raízes. Barras indicam o erro padrão. \* indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o respectivo tempo. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempo para o tratamento submerso.

Tabela 6: Resultado da anova de medidas repetidas com valores de p, para *Simaba guianensis*. N para cada tratamento igual a 5 plantas. Diferenças significativas para  $p < 0,05$ .

	TRATAMENTO	TEMPO	TEMPO*TRATAMENTO
AMIDO PA	0,003	0,002	0,014
AMIDO RAIZ	0,014	0,189	0,969
AST PA	0,739	0,000	0,108
AST RAIZ	0,028	0,025	0,063

## 2-6 DISCUSSÃO

As reservas de carboidratos não estruturais são consideradas fatores limitantes para sobrevivência de plantas submersas e a capacidade de armazenar esse tipo de reserva em órgãos subterrâneos é uma estratégia importante para sobreviver neste tipo de ambiente (CRAWFORD, 1992; SACARANO et al. 1994; PAROLIN, 2009). Muitas espécies de plantas acumulam carboidratos em seus tecidos durante o período de vazante, sendo uma adaptação metabólica importante para superar as condições de anóxia durante o período de cheia (ALBRECHT, 2004, PIEDADE, 2009). As espécies aqui estudadas apresentaram valores considerados elevados para o amido tanto na parte aérea como na parte subterrânea (SCARANO et al. 1994), que deve ter contribuído para a sobrevivência ao longo período de submersão que ficaram expostas, situação frequente em seu ambiente de origem, em que o período submerso pode ultrapassar os 200 dias (JUNK, 1989). Modelos teóricos sugerem que o investimento em carbonos de armazenamento é uma estratégia vantajosa em habitats com estresse frequente e sujeito a perturbações periódicas (IWASA, 1997).

O consumo lento das reservas de amido observadas ao longo do tempo, indicado principalmente pela redução do consumo na maioria das espécies a partir dos 30 dias de submersão, podem ser explicada pelo modelo de redução drástica no consumo dos carboidratos chamado de modelo lento ou referenciado com “metabolic arrest” (GIBIS AND GREENWAY, 2003). As maiores mudanças nos níveis de amido foram observadas no período inicial de submersão o que pode indicar uma fase de ajustes para esses indivíduos submersos.

A manutenção de reservas por um longo período torna-se importante já que essas vão ser necessárias para a retomada do crescimento após o período de submersão (SINGH et. al. 2001; RAM et. al. 2002), garantindo uma rápida recuperação, caso que foi observado para as espécies estudadas em que os indivíduos submersos apresentaram uma rápida produção de folhas e retomada do crescimento após 90 dias de submersão (Veja capítulo 1). O aumento nos níveis de AST no início do experimento e o maiores oscilações no nível de amido encontradas para as espécies aqui estudadas, pode indicar um período de ajuste das plântulas a condição de submersão, como realocação das reservas ou produção de compostos para suportar as condições de submersão. Já que observa-se um aparente equilíbrio após esse período. Em plântulas de *Himatanthus sucuuba*, o principal açúcar encontrado na raiz foi o amido, indicando que esse carboidrato

constitui a principal reserva para a fase inicial de estabelecimento dessa espécie. Quando submetida ao tratamento de alagamento acoplado ao escuro, o teor de amido diminuiu concomitantemente com o aumento de açúcares solúveis, indicando uma rápida mobilização dos açúcares para provável uso na respiração anaeróbica. (FERREIRA et al., 2009).

A disponibilidade de açúcares já foi testada como fator importante na tolerância ao alagamento e foi encontrado que a disponibilidade de açúcares exógenos aumenta significativamente a sobrevivência de plântulas em estresse por anóxia (VARTAPETIAN E ANDREEVA, 1986; LORETI *et al.*, 2005). Os açúcares solúveis, especialmente a sacarose, glucose e frutose, são importantes na manutenção das funções de todas as células vivas, agindo como nutrientes e sinalizadores metabólicos responsáveis pela transdução de sinais hormonais (COUÉE et al., 2006).

A manutenção das reservas em plantas submersas já foi evidenciada para outras espécies de regiões alagáveis da Amazônia, para *A. jauari* e *M. acaciifolium*, mesmo após 312 dias de alagamento e submersão Schlüter (1993) encontrou uma concentração considerável de açúcares solúveis nas raízes, no final do período de inundação.

As oscilações maiores encontradas para as plântulas dos controles, pode estar associadas a que essas plantas estão expostas ao ambiente com maiores variações ambientais e estão se desenvolvendo e produzindo novas estruturas continuamente. Como verificado no capítulo 1, plantas não submersas das espécies estudadas apresentaram um crescimento constante, com renovação das folhas na maioria das espécies.

## **2-7 CONCLUSÃO**

As quatro espécies apresentaram uma grande quantidade de reserva no início do período em que foram submersas e ocorreu uma redução gradual das reservas de amido ao longo do período de submersão principalmente na parte aérea. Nas raízes a redução foi menor. Parece ter ocorrido uma redução no metabolismo principalmente após os 30 dias de submersão quando as concentrações de amido das plântulas submersas estabilizaram ou sendo notada apenas pequenas reduções desse carboidrato.



Diferente da hipótese inicial, as plântulas mantiveram uma concentração de açúcares solúveis próximas aos do controle, fator citado como importante para sobrevivências de plantas tolerantes. Ocorrendo um consumo das reservas de amido principalmente no caule.

As quatro espécies apresentaram uma elevação dos AST na parte aérea aos 15 dias, fator que pode estar ligado a um ajuste metabólico, mas em todas ocorreu uma redução na concentração desses açúcares após esse período inicial.

As plântulas mantidas como controles apresentaram um comportamento variado em relação ao amido e os AST, ocorrendo variações durante os tempos analisados fato que pode estar associado ao crescimento contínuo e produção de novas estruturas nesses indivíduos.

## **2-8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALBRECHT, G.; MUSTROPH, A; FOX, T.C. Sugar and fructan accumulation during metabolic adjustment between respiration and fermentation under low oxygen conditions in wheat roots. **Physiologia Plantarum**, v. 120: p. 93–105, 2004.

AMARAL, L. I.; GASPAR, M.; MOREIRA, P.; BUCKERIDGE, M. S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, n. 4, p. 425-431, 2007.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.; AIDAR, M.P.M. Mobilização de reservas. In: Ferreira, A.G. & Borguetti, F. (ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, Ed. Artmed. p.163-185. 2004.

CAPON, S. J. Flood variability and spatial variation in plant community composition and structure on a large arid floodplain. **Journal of Arid Environments**. v. 60 p. 283–302. 2005.

CHAPIN, F. S., E. D. SCHULZE, AND H. A. MOONEY. The ecology and economics of storage in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 21 p. 423–447. 1990.

COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; AMRANI, A.E. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**. v. 57 p.449-459, 2006.

CRAWFORD RMM, BRAENDLE R. Oxygen deprivation stress in a changing environment. **Journal of Experimental Botany** v. 47, p.145–159, 1996.

CRAWFORD, R.M.M. Oxygen availability as an ecological limit to plant distribution. In: **Advances in ecological research**. Bergon, M.; Fitter, A.H. (Eds.). Academic Press, London. p. 93-185, 1992.

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

ELLIS, M.H.; DENNIS, E.S.; JAMES, W. Arabidopsis root and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. **Plant Physiol.**, v. 119 n.1 p. 57-64, 1999.

FELLE HH. pH regulation in anoxic plants. **Annals of Botany**. v. 96, p. 519–532, 2005.

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

GIBBS J, GREENWAY H. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. **Functional Plant Biology** v. 30 p1–47, 2003.

IWASA, Y. Optimal size of storage for recovery after unpredictable disturbances. **Evolutionary Ecology** v. 11 p.41–65. 1997.

JANZEN, D. H., AND D. E. WILSON. The cost of being dormant in the tropics. **Biotropica** v. 6 p. 260–262. 1974.

JUNK, W. J.; BAYLEY, P. B.; SPARKS, R. E. The flood pulse concept in river-floodplain systems. **Proceedings of the International Large River Symposium**, v. 106, p. 110-127, 1989

JUNK WJ, PIEDADE MTF. Biomass and primary production of herbaceous plant communities in the Amazon floodplain. **Hydrobiologia** v. 263 p. 155–162, 1993.

LAAN, P., BLOM, C.W.P.M., 1990. Growth and survival responses of *Rumex* species to flooded and submerged conditions: the importance of shoot elongation, under-water photosynthesis and reserve carbohydrates. **J. Exp. Bot.** v. 41 p. 775–783, 1990.

LATT, C. R., P. K. R. NAIR, AND B. T. KANG. Interactions among cutting frequency, reserve carbohydrates, and postcutting production in *Gliricidia sepium* and *Leucaena leucocphala*. **Agroforestry Systems** v. 50 p. 27–46, 2000.

LIAO, C. T.; LIN, C. H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. In: **Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life sciences**, v. 25, n. 3, p. 148-57, 2001.

LORETI E, POGGI A, NOVI G, ALPI A, PERATA P. A genome-wide analysis of the effects of sucrose on gene expression in Arabidopsis seedlings under anoxia. **Plant Physiology**. v. 137, p.1130–1138, 2005.

MASUKO, T., A. MINAMIB, N. IWASAKIB, T. MAJIMAB, S.-I. NISHIMURA, AND Y. C. LEEA. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. **Anal. Biochem.** v.339 p. 69-72. 2005

PAROLIN P. Phenology and CO<sub>2</sub>-assimilation of trees in Central Amazonian floodplains. **Journal of Tropical Ecology** v. 16: p. 465–473. 2000.

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

PERATA, P.; GUGLIELMINETTI, L.; ALPI, A. Mobilization of Endosperm Reserves in Cereal Seeds under Anoxia. **Annals of Botany**, v. 79 p. 49-56, 1997.

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

SCARANO, F.B.; CATTÂNIO, J.H. & CRAWFORD, R.M.M. Root carbohydrate storage in young saplings of Amazonian tidal várzea forest before the onset of the wet season. **Acta Botânica Brasilica** v.8 n. 2 p. 129-139, 1994.

SCHLUTER, U. B.; FURCH, B.; JOLY, C. A. Physiological and anatomical adaptations by young *Astrocaryum jauari* Mart (Arecaceae) in periodically inundated biotopes of central Amazonia. **Biotropica**, v. 25, n. 4, p. 384-396, 1993.

SCHLÜTER, U.; CRAWFORD, R.M.M. Long-term anoxia tolerance in leaves of *Acorus calamus* L. and *Iris pseudacorus* L. **Journal of Experimental Botany**. v. 52 p. 2213 - 2225. 2001.

SINGH HP, SINGH BB, RAM PC. Submergence tolerance of rainfed lowland rice: search for physiological marker traits. **Jornal of Plant Physiology**. v. 158 p. 883-889. 2001.

SU, P.H.; WU, T.H.; LIN, C.H. Root sugar level in luffa and bitter melon is not referential to their flooding tolerance. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v39 p. 175-179. 1998.

RAM, P.C., SINGH, B.B., SINGH, A.K. Submergence tolerance in rainfed lowland rice: physiological basis and prospects for cultivar improvement through marker-aided breeding. **Field Crops Res.** v. 76 p. 131–152, 2002

VARTAPETIAN BB, ANDREEVA IN. Mitochondrial ultrastructure of three hygrophyte species at anoxia and in anoxic glucose supplemented medium. **Journal of Experimental Botany** v. 37, p. 685–692, 1986.

WITTMANN, F.; JUNK, W.J.; PIEDADE, M.T.F. The várzea forests in Amazonia: flooding and the highly dynamic geomorphology interact with natural forest succession. **Forest Ecology and Management**, v. 196 p.199-212. 2004.

WORBES, M., KLINGE, H., REVILLA, J.D., MARTIUS, C. On the dynamics, floristic subdivision and geographical distribution of várzea forests in Central Amazonia. **Journal of Vegetation Science** v. 3 p. 553-564. 1992.

### 3- CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies mostraram-se altamente tolerantes e adaptadas a submersão, visto a ausência de mortalidade ou de danos severos e sua rápida recuperação após a retirada da submersão.

Apresentaram um baixo ritmo de crescimento inicial, mesmo sem a presença do estresse, evidenciado pelos controles, porém isso se refletiu no investimento em reservas de carboidrato. Ocorreu uma manutenção de parte dessas reservas durante o período submerso, com as maiores oscilações sendo verificadas nos primeiros trinta dias de submersão. E essa manutenção pode ter sido importante para a rápida retomada no crescimento observada após a retirada da submersão.

Foram evidenciadas diferenças entre espécies de várzea e igapó, principalmente em relação a estratégia na queda de folhas, com a espécie típica de igapó, *Eugenia inundata*, preservando grande parte de suas folhas a apresentando a formação de aerênquima e a espécies de várzea, *Crataeva tapia*, apresentando uma rápida queda de suas folhas, que ocorreu logo nos primeiros dias. E uma liberação lenta para *Genipa americana* e *Simaba guianensis*, espécies coletadas no igapó mas que podem ocorrer em áreas de várzea. Além disso foi observado apenas em *E. inundata*.