

## **ESTUDOS ECOFISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO CUPUAÇUZEIRO [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] SUBMETIDO AO ESTRESSE HÍDRICO E A REIDRATAÇÃO**

**OLIVEIRA-NETO** , Cândido Ferreira<sup>1</sup>, **FREITAS**, Joze Melisa Nunes de<sup>2</sup> ; **BARIANE**, A<sup>3</sup>; **CARVALHO**, C. J. R<sup>4</sup> ; **COSTA**, Roberto Cezar Lobo da<sup>5</sup>

**RESUMO:** O cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] desponta como uma das fruteiras mais importantes para o desenvolvimento da agricultura na região Amazônica. Além de ser uma espécie nativa da região, existe um mercado com enorme potencial de expansão nacional. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do estresse hídrico e da reidratação sobre a fotossíntese, condutância estomática, teor relativo de água e níveis de carboidratos solúveis totais e proteínas solúveis totais. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, utilizando-se 30 plantas com 24 meses de idade e aproximadamente 1 m de altura, em vasos com 0,45 m de altura por 0,18 m de diâmetro, dispostas em um delineamento inteiramente casualizado em fatorial tipo 2 x 5 x 1 com 3 repetições. A comparação entre as médias foi feita através do desvio padrão da média ao longo do tempo. A fotossíntese, condutância estomática foi determinada utilizando-se o IRGA. O C.R.A, carboidratos e proteínas solúveis foram determinada pelo método de Slavik, Bradford e Dudbois respectivamente. A fotossíntese foi diretamente proporcional à incidência de luz e a condutância estomática. O estresse hídrico reduziu a fotossíntese, condutância estomática, proteínas solúveis totais e teor relativo de água, não influenciando sobre o teor de carboidratos solúveis totais.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Theobroma grandiflorum*, Fotossíntese, Condutância estomática, Conteúdo Relativo de água, Proteínas e Carboidratos.

## **BIOCHEMICAL AND ECHOPHYSIOLOGIC STUDIES OF CUPUAÇU TREE [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] SUBMITTED TO WATER STRESS AND REWATERING**

**ABSTRACT:** Cupuaçu tree [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] rises as one of most important fruit trees for development of agriculture in Amazonia. Besides being a region native species, it has a large potential of national and international tradings. This study aimed to evaluate

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

effects of water stress and rewatering over photosynthesis, stomatic conductance, relative water content (RWC), and total soluble carbohydrate and protein levels. The experiment was conducted at greenhouse, using 30 twenty-four month old plants and approximately 1 meter height, in 0,45 height and 0,18 diameter vases, disposed in entirely random line outs, in 2 x 5 x 1 factorial type, with 3 repetitions. A comparison between the means was made by standard deviation of mean along time. Photosynthesis and stomatic conductance were determined using IRGA. The RWC, soluble carbohydrate and protein levels were determined by Slavik, Bradford and Dubois methods, respectively. Photosynthesis was directly proportional to light incidence and stomatic conductance. Water stress reduced photosynthesis, stomatic conductance, total soluble protein levels and relative water content, with no influence over total soluble carbohydrate levels.

**KEY-WORDS:** *Theobroma grandiflorum*, Photosynthesis, Stomatic conductance, Water relative content, Proteins, Carbohydrates.

## 1-INTRODUÇÃO

O cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Wilidenow ex Sprengel) Schumann] nativo do Pará e pertence à família Sterculiaceae. Essa espécie frutífera arbórea pode ser encontrada em estado silvestre nas florestas tropicais de terra firme, na pré-amazônia maranhense e, espontaneamente ou cultivada, em toda a Amazônia brasileira, Venezuela, Equador, Costa Rica e Colômbia. Sendo que desponta como uma das fruteiras mais importantes para o desenvolvimento da agricultura na região Amazônica do Brasil. Além de ser uma espécie nativa da região, existe um mercado com enorme potencial de expansão.

De modo geral, os estômatos, durante o período de incidência de luz, permanecem abertos e permitem a entrada de dióxido de carbono, que deve ser dissolvido em água, e assim pode alcançar os sítios das reações fotoquímicas, quando então é aproveitado para a reação do processo fotossintético.

O mecanismo de abertura dos estômatos é função de determinados fatores, como a concentração de dióxido de carbono na câmara subestomática, além disso, as condições de luminosidade, temperatura, pressão de vapor d'água exercem influência neste processo. Quando da ausência de luz ocorre o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> devido à respiração, na presença de luz aquele gás é consumido e os estômatos se abrem. Por outro lado, o fechamento dos estômatos, de modo geral, está associado ao déficit hídrico interno (Bleasdale, 1977).

Além dos fatores do ambiente, como a água e a luz, o comportamento estomático é

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

influenciado por fatores intrínsecos da planta, como a dimensão e o número de estômatos por unidade de área foliar, responsáveis pelas variações de resistência estomática que dependem da espécie, cultivar, posição da folha e se a superfície é abaxial ou adaxial (Turner & Begg, 1973; Jung & Scott, 1980).

A taxa fotossintética líquida resulta da troca de CO<sub>2</sub> entre a folha e o ar atmosférico, pois quando da fotossíntese a planta absorve CO<sub>2</sub> e, pelo processo respiratório libera CO<sub>2</sub>. Sob condições naturais, essa relação de troca, assim como a temperatura e o déficit de pressão de vapor são os responsáveis pelo estabelecimento da fotossíntese, muito embora a indução de outros fatores possa alterar essas funções nas plantas.

A interação nitrogênio versus condição hídrica do solo é importante porque esse nutriente frequentemente limita o crescimento das plantas cultivadas em ambientes de pouca pluviosidade e em solos de baixa fertilidade. Além disso existem evidências na literatura que o N e a disponibilidade de água no solo limitam o crescimento, dentre outros fatores, pela limitação na aquisição e assimilação desse nutriente. (Kerbaudy, 2004). O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do estresse hídrico e da reidratação sobre a fotossíntese, condutância estomática, teor relativo de água e níveis de carboidratos solúveis totais e proteínas solúveis totais.

## 2- MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] de 24 meses de idade com aproximadamente 1,20 m de altura, foram cultivadas em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), sem controle do ambiente, em vasos com 0,45 m de altura por 0,18 m de diâmetro, com substrato composto de três partes de terra e uma parte de areia lavada, sobre uma camada de 0,02 m de pedras britadas. Antes do início dos tratamentos todas as plantas foram irrigadas diariamente, recebendo macro e micronutrientes, na forma de solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950) modificada no laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRA e tratamentos fitossanitários, mantendo-as sadias e sem deficiências nutricionais. Os vasos foram dispostos no espaçamento de 1,8 m entre linhas e 0,65 m entre plantas, em distribuição ao acaso. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em fatorial 2 x 5 x 1 com 3 repetições. Fora realizadas coletas destrutivas, sempre às 9:00 h da manhã, onde as plantas foram separadas em raiz, caule e folhas, sendo analisadas 30 plantas. Em seguida, as partes foram pesadas separadamente para a determinação da massa fresca. Imediatamente após a coleta, as partes foram

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

congeladas em freezer (- 20 ° C) até a liofilização ou secagem para preparo da farinha das partes. O teor de proteínas solúveis totais foi obtido através do método de BRAFORD, 1976, enquanto que o teor de açúcares solúveis totais foi analisado pelo método de DUBOIS *et al*, 1956.

Na determinação do teor relativo de água foi usado pelo método de SLAVIK, 1974. A determinação da condutância estomática e fotossíntese foi realizada através de um analisador de gás infravermelho (IRGA) portátil LICOR, modelo PPSYSTEMS CIRAS -2. A comparação entre as médias foi feita através do desvio padrão da média ao longo do tempo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A planta de cupuaçuzeiro apesar de ser considerada uma planta de sombra, neste trabalho ela foi exposta a pleno sol. Foi observado que com o aumento da radiação promoveu um aumento da taxa fotossintética (Figura 1), pois com o aumento da luminosidade haverá um aumento da fotossíntese em virtude do aumento da condutância estomática (Figura 2), aumentando dessa forma saída de vapores como a água e a entrada de gás carbônico que é primordial para a fotossíntese (etapa bioquímica) (Kerbauy, 2004). Portanto, o aumento da fotossíntese (Figura 1) está ligado proporcionalmente ao aumento da condutância estomática (Figura 2).

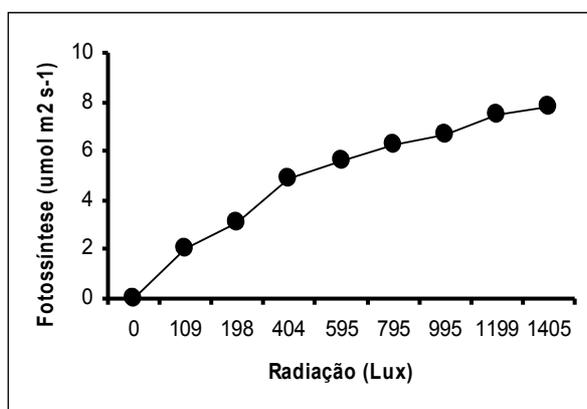


Figura 1. Aumento da fotossíntese, em função do aumento da radiação.

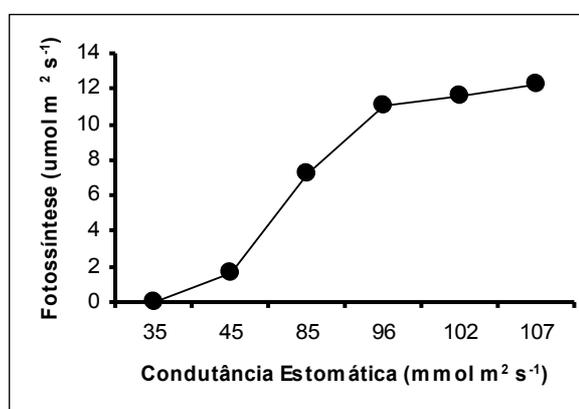


Figura 2. Aumento da fotossíntese em função do aumento da condutância estomática.

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

O teor relativo de água diminuiu à medida que o estresse hídrico aumentou, sendo que essa diminuição foi maior a partir do sexto dia de estresse (ponto 3), onde esse estresse é considerado drástico, diferente dos pontos anteriores que são considerados estresse moderado (Figura. 3).

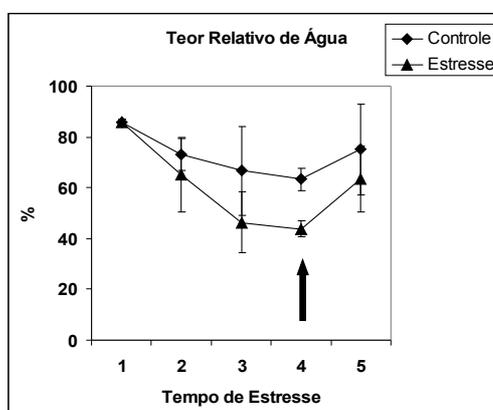


Figura 3. Teor relativo de água (T.R.A) em folhas de plantas de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] submetido a 9 dias de estresse hídrico e três dias de reidratação. A sete indica o tempo do início da reidratação e as barras representam o desvio padrão da média.

No ponto 4 foi feita a reidratação das plantas, que mostra um rápido aumento dos teores relativo de água nas plantas sob estresse, tendo em vista que as células se encontravam murchas e com a reidratação, as mesmas aumentaram seu teor de água, sendo que elas não chegaram a se igualar ao controle, indicando que o tempo de reidratação (3 dias) não foram suficientes para a recuperação total das plantas (Figura 3).

A condutância estomática diminuiu em relação ao tempo de estresse hídrico, ou seja, o estômato se fechava à medida que aumentava o estresse hídrico (Figura 4), que provocou uma diminuição na fotossíntese (Figura 5), entretanto, houve uma reposta positiva da abertura estomática assim que as plantas foram reidratadas, resultando numa maior fotossíntese nesse período (Figura 5). Resultados semelhantes foram encontrados por Taiz e Zeiger, 204, em plantas de milho submetidas a estresse de água.

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

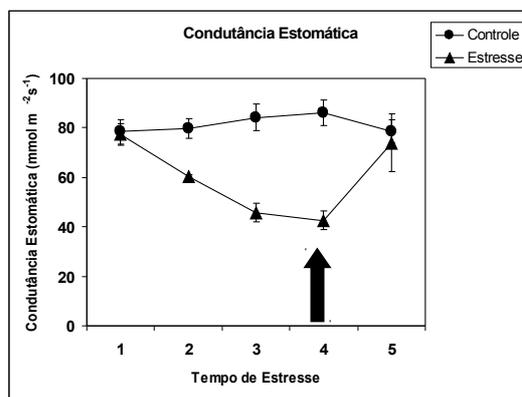


Figura 4. Condutância Estomática em folhas de plantas de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] submetido a 9 dias de estresse hídrico e três dias de reidratação. A seta indica o tempo do início da reidratação e as barras representam o desvio padrão da média

O estresse moderado afeta geralmente a fotossíntese foliar e a condutância estomática. Como os estômatos fecham durante os estádios iniciais do estresse hídrico, a eficiência do uso da água pode aumentar, ou seja, mais CO<sub>2</sub> pode ser absorvido por unidade de água transpirada, porque o fechamento estomático inibe a transpiração mais do que diminui as concentrações intercelulares de CO<sub>2</sub> (TAIZ, 2004).

A Figura 5 mostra que o estresse hídrico afetou fotossíntese das plantas de cupuaçuzeiro, sendo que com foi bem maior quando as plantas estavam com 9 dias de estresse, onde a condutância estomática está muito baixa (Figura 4), sendo que a fotossíntese aumentou após a reidratação, devido principalmente a abertura estomática (Figura 4).

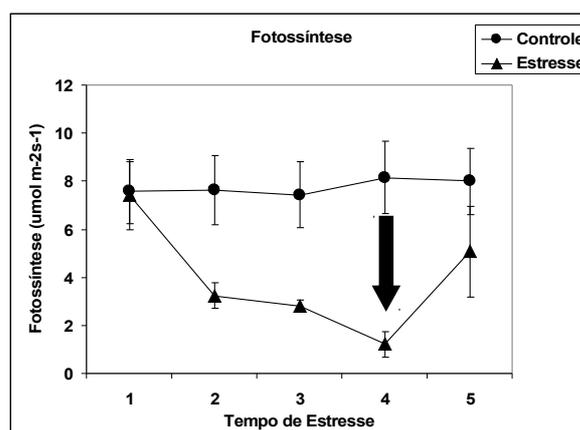


Figura 5. Fotossíntese de plantas de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] submetido a 9 dias de estresse hídrico e três dias de reidratação. A seta indica o tempo do início da reidratação e as barras representam o desvio padrão da média

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

À medida que o estresse hídrico avança, vai ocorrer uma desidratação de células do mesófilo e diminuir a fotossíntese (Figura 5). Muitos estudos têm mostrando que o estresse hídrico afeta mais a condutância estomática do que a própria fotossíntese (Kerbaudy, 2004). A resposta à fotossíntese e da condutância estomática ao estresse hídrico pode ser separada pela exposição de folhas estressadas ao ar contendo grandes concentrações de CO<sub>2</sub> (Kerbaudy, 2004).

Todo o efeito do estresse sobre a condutância estomática é eliminado pelo suprimento alto de CO<sub>2</sub> e diferenças entre as taxas fotossintéticas de plantas estressadas e não estressadas podem ser atribuídas diretamente ao dano do estresse hídrico à fotossíntese. Com a diminuição da fotossíntese haverá uma diminuição de fotoassimilados, onde acarretará negativamente a produção e ao desenvolvimento da planta (Taiz & Zeiger, 2004).

A diminuição da taxa fotossintética (Figura 5), pode acarretar mudanças no metabolismo bioquímico da planta, provocando uma diminuição no teor de proteínas solúveis totais (Figura 7) e um aumento no teor de carboidratos solúveis totais, todavia, em nossos resultados, isso não foi verificado com relação ao teor de carboidratos (Figura 6). Esses resultados podem ser devido ao tempo de estresse que provavelmente não foi suficiente para aumentar o teor de carboidratos, o qual seria interessante para ajustar osmoticamente a planta. Silveira *et al*, 2003, trabalhando com plantas de caupi, observou que plantas que foram cultivadas sob estresse hídrico apresentaram um elevado teor de carboidratos solúveis totais, tanto nos nódulos quanto nas folhas, indicando um ajustamento osmótico das mesmas, onde esses carboidratos se acumulariam no vacúolo das células para servir de reservas.

No caso do teor de proteínas solúveis totais, foi observado que com 3 dias de estresse hídrico, houve uma drástica diminuição no teor dessas proteínas (Figura 7), isso se deve provavelmente ao aumento de atividades de proteases durante o estresse hídrico (Kerbaudy, 2004, Taiz & Zeiger, 2004).

Apesar da planta ter sido reidratada (ponto 3), ela não chegou a recuperar totalmente os teores de proteínas, precisando de mais alguns dias para atingir tal objetivo, indicando que nosso tempo de reidratação não foi suficiente.

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

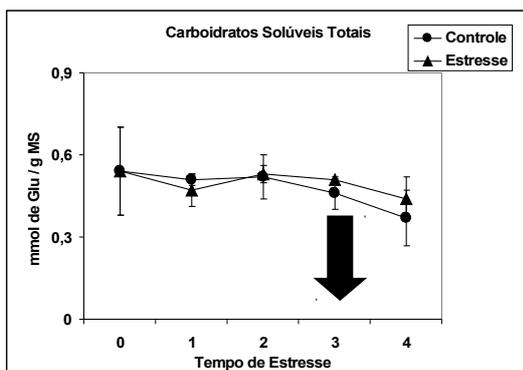


Figura 6

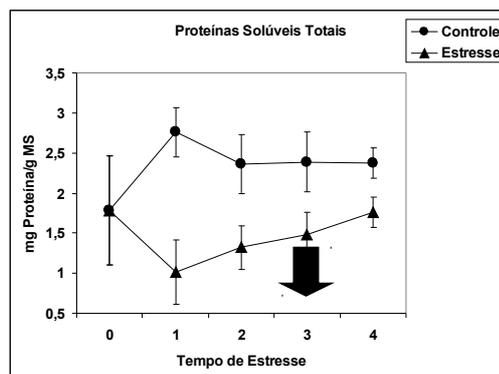


Figura 7

Figuras 6 e 7. Teores de carboidratos e proteínas solúveis totais em folhas de plantas de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Wild.Ex.Spreng.) Schum] submetido a 9 dias de estresse hídrico e três dias de reidratação. A sete indica o tempo do início da reidratação e as barras representam o desvio padrão da média.

#### 4-CONCLUSÃO

4

O estresse hídrico afetou a taxa fotossintética, condutância estomática e conteúdo relativo de água. Entretanto, o estresse hídrico não influenciou no conteúdo de carboidratos solúveis totais, mas apresentou uma redução significativa nos teores de proteínas solúveis totais. A reidratação da planta respondeu ao conteúdo relativo de água, taxa fotossintética, condutância estomática e proteínas solúveis totais, mas não teve efeito sobre os teores de carboidratos solúveis totais.

#### 5-REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BLEASDALE, J. K. A. **Fisiologia Vegetal**. Tradução WEISHÄUPL, L. & LAMBERTI, A. São Paulo, EPU, Editora da Universidade de São Paulo, 1977. 176p.

BRADFORD, M. M. , A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* V. 72:248-254. 1976.

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

JUNG, P. K. & SCOTT, H. D. Leaf water potential stomatal, resistance and temperature relations in field-grown soybeans. ***Agronomy Journal***, 27(6): 986-987, 1980.

KERBAUY, B. G. , *Fisiologia vegetal*. ed. Guanabara koogan S.A .RJ. 2004.

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ/UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA

HOAGLAND, D. R. & ARNO, D. I. The water culture method for growing plants without soil. **Calif. Agric. Exp. Stn. Univ. Calif. Berkeley Circ.** 347: 139. 1950.

SILVEIRA, J. A. G. ; COSTA, R. C. L. ; VIEGAS, R. A. ; OLIVEIRA, J. T. A. ; FIGUEIREDO, M. V. B. ; N- compound accumulation and carbohydrate shortage on N<sub>2</sub> fixation in drought-stressed and rewatered cowpea plants. **Spanish Journal of Agricultural Research.** V 3. n 1. pag. 65-75. 2003.

SLAVIK, B. Methods of studying plant water relations. New York, Springer-Verlag. 449 p. 1974.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3ª Edição. ed. Artmed, Porto Alegre. 2004

TURNER, N. C. & BEGG, J. E. Stomatal behavior and water status of maize, sorghum, and tobacco under fields conditions. I. At high soil water potential. **Plant Physiology**, 51(1):31-36, 1973.

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC/ CNPQ /UFRA – Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>2</sup> Bolsista /PIBIC/CNPQ/UFRA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Agronomia / UFRA.

<sup>3</sup> Monitora de Fisiologia Vegetal UFRA

<sup>4</sup> Pesquisador Dr. da EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

<sup>5</sup> Orientador – Professor / Dr / ICA / UFRA