



MÁRCIO ESPINOSA DE FARIAS

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PRODUÇÃO DE LÁTEX DE
SERINGUEIRAS CULTIVADAS EM NEPOMUCENO – MG,
EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE E DA APLICAÇÃO DO
ETHREL[®]**

LAVRAS-MG

2017

MÁRCIO ESPINOSA DE FARIAS

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PRODUÇÃO DE LÁTEX DE SERINGUEIRAS
CULTIVADAS EM NEPOMUCENO – MG, EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE E
DA APLICAÇÃO DO ETHREL®**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Luiz Edson Mota de Oliveira
Orientador

LAVRAS - MG

2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Farias, Márcio Espinosa de.

Aspectos fisiológicos da produção de látex de seringueiras
cultivadas em Nepomuceno - MG, em função da sazonalidade e da
aplicação do ethrel® / Márcio Espinosa de Farias. - 2017.

63 p. : il.

Orientador(a): Luiz Edson Mota de Oliveira.

.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Borracha seca. 2. Sazonalidade. 3. Estimulante. I. Oliveira,
Luiz Edson Mota de. . II. Título.

MÁRCIO ESPINOSA DE FARIAS

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PRODUÇÃO DE LÁTEX DE SERINGUEIRAS
CULTIVADAS EM NEPOMUCENO – MG, EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE E
DA APLICAÇÃO DO ETHREL®
PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF THE LATEX PRODUCTION OF RUBBER
TREES CULTIVATED IN THE MUNICIPALITY OF NEPOMUCENO – MG, IN THE
FUNCTION OF SASONALITY AND THE APLICATION OF ETHREL®**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADO em 10 de março de 2017.
Dr. Nelson Delú Filho UNIS
Dr Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori UFLA
Dra Milene Alves de Figueiredo Carvalho EMBRAPA
Dra. Vânia Aparecida Silva EPAMIG

Prof. Dr. Luiz Edson Mota de Oliveira
Orientador

LAVRAS - MG

2017

À minha mãe Fernanda, ao meu pai Mario, aos meus irmãos Beatriz e Luiz Fernando pela força, carinho, atenção e apoio, ao meu cão Petrus pelo companheirismo e carinho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por estar sempre presente me dando forças durante toda caminhada da vida e permitir que eu conquistasse mais essa etapa.

Ao Prof. Dr. Luiz Edson Mota de Oliveira pela disponibilidade de orientação, pela sua paciência ao passar o seu conhecimento durante todo esse período e também pela convivência e amizade nesse tempo que passei.

Aos meus pais Mario e Fernanda, por me darem toda ajuda e suporte para chegar até o fim dessa etapa, mas também pela educação para me tornar a pessoa que sou hoje.

Aos meus irmãos, Beatriz e Luis Fernando, pela companhia, amizade e apoio que sempre me deram nos momentos difíceis, que souberam me escutar e aconselhar.

Ao meu cão Petrus, pela companhia inseparável desde o início ao fim dessa jornada, pelos momentos de lazer que me proporcionou.

À minha cunhada Patrícia pelos conselhos e atenção perante as todas as dificuldades.

Às amigas Vó Tereza, Giulia e Rose, por terem me acolhido em suas famílias, pela companhia, atenção e conselhos durante o período vivido em Lavras.

Ao proprietário da fazenda Carandai, o Sr. José Osvaldo Lima Salgado, por ter disponibilizado a área do seringal para que eu realizasse esse trabalho.

Aos funcionários Joel e Odorêncio, pela disposição e ajuda para que eu pudesse realizar essa pesquisa.

À minha colega Jaqueline, por ter sido uma grande amiga que cruzou meu caminho, pelas trocas de conhecimento, pela paciência que teve ao meu lado, mas principalmente, a amizade construída.

Aos meus colegas de jornada, Michele, Hugo e Diogo, por terem me acompanhado por toda essa etapa do doutorado, pela ajuda nos meus experimentos e nas trocas de conhecimentos, mas acima de tudo, pela amizade que se criou.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela disponibilidade de bolsa de estudo concedida no decorrer do doutorado.

A todos do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, que de alguma maneira contribuíram para que eu chegasse ao fim dessa etapa, assim como nos momentos de descontração em grupo, mas principalmente pelas amizades conquistadas nesse período.

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei.
Se não fossem por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar.
Mesmo as críticas nos auxiliam muito”*

Chico Xavier

RESUMO

O sul de Minas Gerais (MG) apresenta características climatológicas favoráveis ao desenvolvimento e à produção da seringueira. O uso do estimulante Ethrel[®] em plantios comerciais de seringueira tem sido amplamente utilizado, pois prolonga o fluxo de látex e atua nos processos regenerativos da casca, aumentando assim, a produtividade da borracha seca. Variações climáticas sazonais, como temperatura e precipitação, afetam a atividade fotossintética e, conseqüentemente, o metabolismo do carbono e do nitrogênio, sendo as principais causas interferentes na produção de látex ao longo do ano. Em continuidade nas avaliações anteriores da produtividade da seringueira no sul de MG, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da variação sazonal e do uso do estimulante Ethrel[®] na atividade das diferentes isoformas das invertases na casca e no Soro C do látex e as suas relações com a produção de borracha seca em clone RRIM 600. Avaliou-se, também, o estado nutricional do mesmo clone e a remobilização mineral e orgânica durante a senescência das folhas. O experimento foi conduzido em plantio existente no município de Nepomuceno, sul de MG. Foi avaliado o efeito da estimulação do Ethrel[®] nos períodos frio/seco e quente/úmido sobre as atividades das diferentes isoformas das invertases e na produtividade de borracha seca. Avaliou-se também o estado hídrico das plantas e a respiração de caule. Além disso, foi analisado o estado nutricional das plantas e a remobilização de nutrientes minerais e orgânicos durante a senescência foliar, que antecede o desfolhamento. As árvores do clone RRIM 600 que receberam o estimulante apresentaram maior produção de borracha seca e menor índice de obstrução no período quente e úmido. A atividade das invertases ácida do vacúolo e neutra do citosol da casca e a invertase neutra do citosol do soro C do látex foram maiores nas plantas estimuladas com Ethrel[®] no período quente e úmido, porém a atividade da invertase neutra da casca foi maior no período frio e seco. A atividade da invertase ácida da parede celular não foi influenciada pelo estimulante, porém foi maior no período quente e úmido. A respiração foi maior nas plantas que receberam Ethrel[®] no período frio e seco, porém não houve efeito do estimulante no quente e úmido. A variação sazonal, associada ao uso do estimulante Ethrel[®], provocou mudanças na atividade das diferentes isoformas da invertase, assim como na atividade respiratória do caule. O estado nutricional das plantas encontrou-se favorável. Os nutrientes minerais N, P, K, S, Cu e Fe foram remobilizados das folhas para outros órgãos das plantas, assim como todos os carboidratos, aminoácidos e proteínas solúveis avaliados. Os nutrientes Ca, Mg, B, Mn e Zn não foram remobilizados.

Palavras-chave: Borracha Seca. Sazonalidade. Estimulante. Remobilização. Nutrientes

ABSTRACT

The south of Minas Gerais State (MG) has climatic characteristics favorable to the development and production of the rubber tree. The stimulant Ethrel[®] has been widely used in commercial plantings of rubber trees, because it extends the latex flow and acts on regenerative processes of the bark increasing the productivity of dry rubber. Seasonal climatic variations such as temperature and precipitation affect the photosynthetic activity, and consequently the metabolism of carbon and nitrogen. These variations are the main interfering causes on latex production throughout the year. Following former evaluations of rubber tree productivity in southern Minas Gerais State, this work had the objective of evaluating the effects of the seasonal variation and the use of the stimulant Ethrel[®] on the activity of different invertases isoforms in the bark and in latex C-serum, as well as their relationship with dry rubber production in RRIM 600 clone. Nutritional status, mineral and organic substances remobilization during leaves senescence of the same clone were evaluated. The experiment was conducted in an existing planting in the municipality of Nepomuceno, southern MG. We evaluated the effect of Ethrel[®] stimulation on the activities of different invertase isoforms and on dry rubber productivity in cold/dry and hot/humid months. Hydric status and stem respiration of the plants were also evaluated. We analyzed the plants nutritional status and mineral and organic nutrients remobilization during leaf senescence which precedes defoliation. The RRIM 600 clone trees that received the stimulant showed higher production of rubber and lower index of obstruction in hot and humid period. The activities of acid invertase in vacuole, cytosolic neutral invertase in bark, and cytosolic neutral invertase in latex C-serum were higher in plants stimulated with Ethrel[®] in hot and humid period, however bark neutral invertase activity was higher in cold and dry period. The activity of acid invertase in cellular wall was not influenced by the stimulant, but it was higher in hot and humid period. Respiration was higher in plants that received Ethrel[®] in cold and dry period, but the stimulant did not showed effect in hot and humid period. Seasonal variation associated with Ethrel[®] stimulant use caused changes in activities of different invertases isoforms, as well as in stem respiration activity. The plants showed a favorable nutritional status. Mineral nutrients N, P, K, S, Cu, and Fe were remobilized from leaves to other plants organs, as well as all carbohydrate, amino acids, and soluble proteins evaluated. Ca, Mg, B, Mn, and Zn were not remobilized.

Keywords: Dry rubber. Seasonality. Stimulant. Remobilization. Nutrients

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Importância econômica da cultura da Seringueira	13
2.2	Biossíntese de látex	15
2.2.1	Hidrólise e utilização da sacarose para a biossíntese do látex.....	16
2.2.3	Características do látex e morfologia da casca da seringueira.....	18
2.3	Sazonalidade climática na biossíntese do látex	19
2.4	Efeitos do etileno na produção de látex	20
2.5	Composição mineral e remobilização de nutrientes das folhas durante a senescência foliar	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1	Área e período experimental.....	23
3.2	Aplicação do estimulante Ethrel®	24
3.3	Produção de borracha seca e do Índice de Obstrução (I.O.).....	24
3.4	Potencial hídrico	25
3.5	Análises enzimáticas.....	25
3.5.1	Invertases da casca	26
3.5.2	Invertase neutra do látex	27
3.6	Temperatura e respiração do Caule.....	27
3.7	Análises minerais e orgânicas	28
3.7.1	Composição mineral foliar e do solo	28
3.7.2	Biomoléculas orgânicas	28
3.8	Análise estatística.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
4.1	Condições ambientais durante o período experimental.....	30
4.2	Características morfológicas do painel de sangria e Produção de borracha seca ...	32
4.3	Potencial Hídrico Foliar	35
4.4	Atividade das invertases em tecidos da casca e do látex da seringueira	36
4.5	Temperatura e Respiração de Caule.....	43
4.6	Estado nutricional das plantas	46
4.7	Remobilização de nutrientes minerais e biomoléculas das folhas	49
5	CONCLUSÕES.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

O cultivo da seringueira é de grande relevância, principalmente, por ser uma planta produtora de borracha natural, que exhibe características físico-químicas próprias, representando uma matéria prima insubstituível para mais de 50 mil produtos industrializados, como na fabricação de pneumáticos e de uma grande quantidade de produtos manufaturados (RIPPEL; BRAGANÇA, 2009). A heveicultura é uma importante opção no agronegócio, devido a sua importância social, econômica e no contexto da sustentabilidade ambiental, assim como na potencialidade de ser usada em consórcio com outras culturas (MACHADO FILHO; SILVA, 2012).

Atualmente, o Brasil é um país importador de borracha natural, apesar de possuir áreas favoráveis para o cultivo da seringueira. Uma importante estratégia para diminuir essa importação, com o intuito da autossuficiência e retomar posição de relevância na produção mundial de borracha, é a expansão do cultivo da seringueira, com alta produtividade e qualidade do látex (ALVARENGA et al., 2003).

O estado de Minas Gerais apresenta uma grande área com características climatológicas favoráveis para a implantação e o desenvolvimento da seringueira (CAMARGO; MARIN; CAMARGO, 2003). As áreas de cultivo de seringais mineiras são relativamente pequenas, mas se destacam por apresentarem maior produtividade do que países grandes produtores, evidenciando um grande potencial para a ampliação da heveicultura no mesmo (COSTA et al., 2008a). Dentre as regiões onde se encontram plantios de seringueira em MG, a região sul se destaca devido às suas características climáticas, onde apresenta um período frio e seco bem definido, sendo desfavorável para o desenvolvimento do fungo causador mal das folhas, favorecendo o melhor desenvolvimento das plantas, podendo resultar no melhor rendimento de produção de borracha.

A seringueira é um sistema produtivo que é dependente do processo fotossintético realizado pelas folhas, através da fixação de CO₂ atmosférico, resultando na produção de fotoassimilados, que são destinados para órgãos consumidores naturais (folhas jovens, raiz, ramos, flores e frutos) durante o seu ciclo de vida. Esses assimilados também são direcionados para a produção de látex nos drenos não convencionais gerados na região do caule durante a sangria, além de atuarem na regeneração da casca.

Variações sazonais, tais como ocorrências de períodos frio/seco e quente/úmido, causam alterações na luminosidade, umidade do ar, temperatura e na pluviosidade nas regiões que apresentam essas características, como no sul de MG. Essas variações podem causar

alterações nas trocas gasosas, afetando o processo fotossintético e, conseqüentemente, o metabolismo de carboidratos e do nitrogênio. Devidos a essas variações, há mudanças na biossíntese do látex ao longo do ano, resultando diferenças de rendimento na produção de borracha seca (MELO et al., 2004), sendo menores nos períodos que apresentam baixas temperaturas e pluviosidades.

O uso de estimulante Ethrel[®] em plantios comerciais de seringueira tem sido amplamente utilizado. Esse produto tem como princípio ativo o ethephon, que ao ser aplicado no painel de sangria permite a evolução do etileno, que é um hormônio gasoso. Estudos com esse estimulante têm demonstrado que ele exerce uma função na permeabilidade da membrana celular, aumentando o tempo de fluxo de látex e nos processos metabólicos regenerativos da casca (ZHU; ZHANG; 2009). Além disso, aumenta a hidrólise de sacarose, favorecendo que ocorra mais o processo glicolítico, fornecendo dessa forma mais fonte de carbono para a biossíntese do látex (DOMICIANO, 2015).

A sacarose que chega às células laticíferas do caule, após o descarregamento do floema, é hidrolisada principalmente pelas enzimas invertases e sacarose sintase (SuSy), liberando hexoses para a biossíntese de látex (CAIRO et al., 2009, 2015). Estudos sobre o efeito das variações sazonais associado com o uso de estimulante no comportamento da atividade dessas enzimas em seringueira, ainda são escassos na literatura, principalmente nos tecidos de casca da seringueira.

Em continuidade nas avaliações anteriores da produtividade da seringueira no sul de MG, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da variação climática sazonal e do uso do estimulante Ethrel[®] na atividade das diferentes isoformas das invertases na casca e Soro C do látex e suas relações com a produção de borracha seca em clone RRIM 600 de seringueira. Avaliou-se, também, o estado nutricional das plantas e a remobilização mineral e orgânica durante a senescência das folhas, que antecede o desfolhamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica da cultura da Seringueira

A seringueira é classificada botanicamente na divisão das Magnoliophyta, sendo da classe Magnoliopsida, pertencente à família Euphorbiaceae do gênero *Hevea* (MORENO et al., 2003). As espécies pertencentes a esse gênero são lenhosas de médio a grande porte, apresentando desfolhamento periódico, sendo sua madeira considerada leve. Além disso, também exibe um crescimento intermitente e distanciamento das folhas ao longo dos ramos. O seu hábito decíduo de senescência, queda das folhas e refohamento, acontece quando a planta atinge seu terceiro ano após o plantio. Esses comportamentos são dependentes da genética da planta e das variações das condições ambientais durante as estações do ano, assim como temperatura e disponibilidade de água no solo (GONÇALVES et al., 1990).

O gênero *Hevea*, mesmo sendo nativo da região amazônica, pode ser encontrado em regiões de transição da sua origem, tais como em países que delimitam essa área, como Bolívia, Peru, Colômbia, Equador e Venezuela (PIRES; SECCO; GOMES, 2002). Porém, o seu cultivo comercial ocorre em uma ampla área de distribuição geográfica, podendo estender-se desde latitudes 24°N até 25°S, o que evidencia sua grande capacidade adaptativa a diversas variações climáticas (CECÍLIO et al., 2006; PILAU et al., 2007). No seu estágio jovem de desenvolvimento, a seringueira é sensível a baixas temperaturas, sendo considerado nulo o seu crescimento em locais onde a temperatura média é inferior a 16°C (ZONG DAO; XUEQIN, 1983).

Essa cultura tem grande importância por ser uma espécie produtora de látex, ocorrendo grande variação inter e intraespecífica. Por esse motivo, a produção de látex tem sido usada vantajosamente nas técnicas de seleção de clones em heveicultura (GONÇALVES et al., 1997; PIRES; SECCO; GOMES, 2002). Esse produto vem sendo considerado uma *commodity* mundialmente apreciada devido à sua múltipla utilidade em diversos ramos da indústria (COELHO JÚNIOR et al., 2009; MARTINS; ZIERI, 2003).

A borracha natural é considerada a maior fonte de matéria prima essencial para a fabricação de uma diversidade de produtos de transporte e indústria. Essa importância é devido às suas características quanto à resiliência, elasticidade, resistência ao desgaste e ao impacto e impermeabilidade para líquidos e gases, isso se deve a sua estrutura molecular. Além disso, é um recurso renovável, o que torna um insumo de extrema importância para a economia brasileira, juntamente com o aço e o petróleo (NASCIMENTO, 2010). A borracha

sintética, oriunda do petróleo possui uma composição química muito similar, porém suas propriedades físico-químicas apenas são viáveis para alguns produtos industriais, não podendo substituir a borracha natural, como na fabricação de pneumáticos (INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS - IAC, 2017).

As regiões de ocorrência natural de seringueira é a Amazônia Tropical Úmida, Mato Grosso e Bahia. Nestes locais, devido às suas características climáticas, favorece o aparecimento do fungo *Microcyclus ulei* (P. Henn.) Arx, causador do mal das folhas. Este patógeno torna-se um grave obstáculo para a implantação de seringais comerciais em zonas tropicais equatoriais brasileiras (LIEBEREI, 2007). Devido a isso, o seu cultivo passou a ter importância em regiões não tradicionais, conhecidas como áreas de escape, por apresentarem uma estação seca bem definida, o que dificulta o desenvolvimento do fungo.

As áreas de escape com plantios comerciais estão localizadas em Goiás, Mato Grosso do Sul, Pernambuco, Maranhão, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, São Paulo e Minas Gerais, onde a cultura encontrou condições edafoclimáticas adequadas para o seu desenvolvimento. Nessas regiões há mão de obra especializada e mais recursos financeiros para o investimento (ROSSMANN; GAMEIRO; PEREZ, 2006), também revelando ser uma atividade econômica e ambientalmente viável, devido ao desenvolvimento de clones produtivos, mais tolerantes a doenças e com adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas. O estado de Minas Gerais se destaca por apresentar condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento da cultura, sendo que a produção do triângulo mineiro representa 66% da produção no estado (CAMARGO; MARIN; CAMARGO, 2003).

Os maiores produtores mundiais são os países asiáticos, onde se destacam a Tailândia, Indonésia e Malásia. Segundo os dados fornecidos pelo *International Rubber Study Group* (IRSG, 2017), a produção de borracha em 2015 foi de 12,27 milhões de toneladas, sendo a Ásia com maior representatividade. A produção de borracha natural mundial no primeiro trimestre de 2016 foi de 8,9 milhões de toneladas, dos quais a Ásia representou 92%, seguida da EMEA (Europa, Oriente Médio e África) com 4,7% e as Américas com 2,8%. O consumo de borracha no mesmo período foi de 9,4 milhões de toneladas, sendo estimado que na Ásia esse valor foi representado por 73%, nas Américas 14% e na EMEA com 13%.

A demanda por borracha natural não é acompanhada pelo crescimento da produção mundial como um todo, em consequência do grande número de manufaturados que são imprescindíveis à vida moderna. Se essa demanda seguir crescendo com a atual taxa, o mundo passará por uma diminuição da oferta de borracha natural em um milhão de toneladas em 2020 (GAMEIRO; GAMEIRO, 2008).

Apesar de ser o país de origem da *H. brasiliensis* e possuir áreas aptas ao seu cultivo e tecnologia disponível, o Brasil continua importando 70% da borracha necessária ao consumo interno. De janeiro a junho de 2014, a quantidade importada foi de 119,9 mil toneladas ao preço médio de US\$ 2,25/kg, para os diferentes tipos de borracha que foram importados, com a predominância pelas compras da matéria-prima prensada ou granulada, utilizada pela indústria de pneumáticos. Este volume foi 7,7% superior ao mesmo período do ano anterior, sendo que o preço pago foi 18,2% inferior, com reflexo direto na economia de divisas desta *commodity*, na balança comercial (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2014).

No Brasil, a demanda de borracha natural é cada vez mais elevada, consumindo atualmente em torno de 350.000 toneladas, todavia, a produção nacional é abaixo desse valor, sendo aproximadamente em 178000 toneladas, contribuindo com apenas 1% do total mundial. A produção brasileira se encontra atualmente nos estados de São Paulo (53,3%), Bahia (15,9%), Mato Grosso (8,9%), Minas Gerais (6,3%), Goiás (4,7%) e Espírito Santo (3,8%) (CEPLAC 2016).

No estado de Minas Gerais, as principais regiões onde o cultivo de seringueira está se expandindo são Triângulo Mineiro, Zona da Mata, Alto São Francisco e Vale do Rio Doce (COSTA et al., 2008a). A produtividade de seringais nessas regiões podem chegar a 2900 kg de borracha seca/há.ano, sendo superior à média dos principais países asiáticos produtores que variam entre 750 a 1100 kg/há.ano. Dessa forma, o estado mineiro se destaca como uma das regiões mais produtivas do mundo (CAVALCANTE; CONFORTO, 2006; COSTA et al., 2008b; MESQUITA et al., 2006b).

Além dessas regiões, o sul de MG apresenta características climáticas adequadas para a implantação da cultura, visto que durante o inverno há ocorrências de baixas temperaturas e menores índices pluviométricos. Estas condições são desfavoráveis para o desenvolvimento do fungo causador do mal das folhas, possibilitando plantios com desempenho promissor nessa região. Estudos ecofisiológicos e bioquímicos têm importante papel quando analisam a influência de fatores ambientais, como temperatura e pluviosidade, sobre a biossíntese do látex (LIMA et al., 2002).

2.2 Biossíntese de látex

A produção de borracha, oriunda do processo da biossíntese de látex, surge através de uma complexa cadeia de eventos biofísicos, nutricionais e metabólicos, que têm forte relação

e dependência do meio no qual a planta se encontra, como variações ambientais, síntese e transporte de fotoassimilados, disponibilidade de carboidratos de reserva e a demanda por tecidos drenos das árvores (CAIRO et al., 2009; MESQUITA et al., 2006a, 2006b; MIGUEL et al., 2007).

Nas folhas maduras da seringueira (tecido fonte), pela fixação primária de carbono na fotossíntese, são produzidos carboidratos que devem ser transportados para tecidos drenos, como as células laticíferas, local onde ocorre o descarregamento do floema. Em clones de seringueira, a produção de borracha é dependente das características fisiológicas e bioquímicas do sistema fonte-dreno, as quais podem ser recorrentes tanto aos processos de assimilação e transporte de carbono, quanto à utilização dos assimilados na síntese de látex (MESQUITA et al., 2006b)

Devido às propriedades químicas das hexoses, como apresentarem caráter redutor, são convertidos por uma série de reações à sacarose, que tem caráter não redutor. Por essa sua peculiaridade, a sacarose é o principal produto transportado via floema para atender a demanda de carbono e energia nos diferentes órgãos da planta (WELHAM et al., 2009).

O descarregamento da sacarose nos diferentes órgãos drenos pode ser por duas rotas: via simplasto, por canais de comunicação celular citossólicos (plasmodesmas) ou via apoplástica através da parede celular. A sacarose ao ser descarregada no tecido dreno, sua ligação glicosídica pode ser hidrolisada por duas vias. Uma delas envolve a clivagem irreversível da sacarose, produzindo glicose e frutose, através de isoformas da enzima invertase, que apresenta um baixo Km para sacarose (7 a 15mM) (AVIGAD, 1982). Na outra rota, que é exclusiva de plantas, a sacarose é catalisada reversivelmente pela Susy, formando frutose e UDP-glicose, sendo o seu Km para a sacarose relativamente mais alto (40 a 200mM) (LOEFI et al., 1999; MESQUITA et al., 2006b).

2.2.1 Hidrólise e utilização da sacarose para a biossíntese do látex

Os processos de hidrólise da sacarose em hexoses, têm a função de fornecer substrato para a respiração celular e matéria prima para a biossíntese do látex em seringueira, sendo importante para a produção de borracha natural.

As plantas apresentam algumas isoformas de invertases, com diferentes propriedades e localização subcelular. O papel específico de cada isoforma das invertases parece regular a entrada da sacarose nas suas diversas vias de utilização (KOCK, 2004; STURM, 1999).

Com base no seu pH ótimo de atividade, as invertases podem ser classificadas em dois tipos principais: as invertases ácidas com um pH ótimo de 4,5 a 5,5, sendo mais eficiente nesses valores para a hidrólise da sacarose; as invertases neutras ou alcalinas cuja atividade hidrolítica é maximizada em pH que varie de 6,8 a 8,0 (LEE; STURN, 1996). Os dois tipos de invertase apresentam significantes diferenças na sequência de aminoácidos e propriedades bioquímicas. De acordo com a sua localização subcelular, as invertases ácidas ainda são divididas em invertase da parede celular e invertase vacuolar (RUAN, 2014). A primeira é ionicamente ligada à parede celular, sendo considerada insolúvel. A segunda acumula-se como proteínas solúveis no lúmen acidificado no vacúolo (KOCH, 2004).

Segundo Gonzáles et al. (2005), acredita-se que as invertases vacuolares podem desencadear funções importantes em processos de expansão celular, aumentar a turgescência, que pode levar a uma tolerância a baixa disponibilidade de água no solo. As invertases neutras são consideradas enzimas de manutenção, que fornecem glicose para a glicólise para que ocorra, posteriormente, o ciclo do ácido tricarboxílico em tecidos onde as atividades da SuSy e das invertases ácidas são baixas ou insuficientes (ROITSCH; GONZALEZ, 2004; WINTER; HUBER, 2000). Porém, têm sido encontradas numerosas evidências de que as invertases neutras ou alcalinas exercem funções primordiais no metabolismo celular, tais como do nitrogênio e em defesa ao estresse oxidativo (MARUTA et al, 2010; XIANG et al, 2011).

Tanto a SuSy como as invertases solúveis promovem clivagem da sacarose em açúcares redutores no Soro C da seringueira, sendo que a invertase neutra é a enzima mais efetiva na hidrólise da sacarose. A atividade da SuSy, quando comparada à da invertase neutra, é pelo menos duas vezes menos eficiente (GRACIANO 2009; MESQUITA et al., 2006b). A SuSy tem papel importante na regeneração do tecido da casca, visto que na hidrólise da sacarose por essa enzima, é liberado UDP-Glicose, sendo um substrato importante na síntese de componentes da parede celular.

A biossíntese de látex tem uma grande relevância, visto que é a principal característica de plantas laticíferas, e requer exclusivamente as hexoses da hidrólise da sacarose como precursoras (DUSOTOIT-COUCAUD et al., 2010). O látex é sintetizado em vasos laticíferos de todos os órgãos da seringueira, desde a fase cotiledonar, por uma série de reações. Inicia-se pela hidrólise da sacarose, liberando hexoses que entram na rota glicolítica no citossol até a geração de piruvato, que é convertido a acetil-CoA na mitocôndria pela enzima desidrogenase do piruvato. O acetil-CoA entra no processo de anabolismo de isopreno, utilizando o NADPH

como poder redutor e com gasto de energia na forma de ATP. Isso permite a formação de isopentenil difosfato (IPP), que é a unidade básica da borracha (OLIVEIRA et al., 2008).

Existem duas vias aceitas para o fornecimento de IPP para a biossíntese de borracha em tecidos da casca da seringueira. Uma via que ocorre dentro do retículo endoplasmático e no citossol, conhecida como via do ácido mevalônico (MVA), é a mais aceita para fornecer IPP, visto que foi comprovada através da incubação do látex com intermediários marcados com C^{14} (KEKWICK, 1989). A outra via é plástica, pela rota MEP (2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato), que pode ser uma via alternativa de IPP em plantas (CHOW et al., 2012). Na seringueira, a existência da via MEP foi identificada pela presença de um deoxi-D-xilulose-5-fosfato sintase (DXS) através do sequenciamento do transcriptoma do látex (CHOW et al., 2007).

2.2.3 Características do látex e morfologia da casca da seringueira

A borracha natural de *Hevea brasiliensis* é um hidrocarboneto cuja fórmula química é um polímero de poli(cis-1,4-isopreno) (RIPPEL; BRAGANÇA, 2009), sendo um sistema polidisperso, no qual várias partículas carregadas negativamente estão suspensas em um soro. O látex pode ser dividido em três partes principais: uma branca superior, seguida por um soro aquoso e, por último uma fração chamada fração de fundo (LIMA et al., 2002).

A primeira fração é representada por partículas de borracha, estabilizada por uma camada de proteínas e fosfolipídios, que corresponde a 37% do volume final do látex. A segunda é conhecida como Soro C, um soro que contém substâncias solúveis como aminoácidos, proteínas, carboidratos, ácidos graxos, sais inorgânicos e as enzimas envolvidas no metabolismo do látex, ocupando 48% do volume total do látex. A fração inferior é composta pelos lutoides e complexos chamados *Frey Wissling* (FW), correspondendo a 15% do látex total (WEBSTER; PAARDEKOOPEL, 1989).

Os vasos laticíferos podem ser classificados como articulados e não articulados (ESAU, 1976). Os vasos articulados são formados por cadeias longitudinais de células cujas membranas de separação podem permanecer intactas, serem perfuradas ou desaparecerem completamente. A perfuração e a reabsorção dessas membranas causa um aspecto tubular de certos laticíferos, designando, às vezes, de vasos laticíferos. Os laticíferos não articulados formam-se de células individuais que, mediante contínuo crescimento, originam estruturas tubulares miúdas e muito ramificadas e que não se fundem com outras células semelhantes (MESQUITA et al., 2006b). Anastomoses constitui de uma complexa rede de vasos

interligados, podendo ocorrer entre os anéis laticíferos adjacentes dentro de um mesmo sistema laticífero articulado (PICKARD, 2008).

O número de vasos laticíferos é um fator determinante para o rendimento da borracha, mas também o diâmetro das células laticíferas, número de anéis laticíferos, espessura da casca e o diâmetro do caule (DOMICIANO, 2015; MESQUITA et al., 2006 b; SOUZA, 2010).

2.3 Sazonalidade climática na biossíntese do látex

As mudanças climáticas sazonais, que ocorrem nas diferentes estações durante o ano, envolvem alterações na disponibilidade hídrica do solo, temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade. Essas variações afetam a atividade fotossintética e, conseqüentemente, o metabolismo do carbono e do nitrogênio, sendo as principais causas das variações na produção do látex ao longo do ano (MELO et al., 2004; PAARDEKOOOPER; SAMOSOM, 1969; NUGAWELA et al., 1995).

Segundo Lima et al. (2002), as características climáticas do período quente e úmido, com temperaturas médias mais elevadas e maior ocorrência de chuvas, favorecem maior disponibilidade de açúcares redutores nas células laticíferas, podendo aumentar a biossíntese do látex. O período frio e seco causa um estresse à planta, podendo induzir mudanças bioquímicas que levam a menor estabilidade dos lutoídeos, aumentando a obstrução do fluxo de látex (DEVAKUMAR et al., 1988), afeta a atividade das enzimas envolvidas na hidrólise da sacarose, mudando os níveis de açúcares redutores e, conseqüentemente, afeta a produção de borracha (MESQUITA et al., 2006b). Períodos prolongados de baixa disponibilidade de água no solo pode afetar o estado hídrico da planta, alterando a pressão de turgescência das células laticíferas que é diretamente relacionada com a expulsão do látex, durante a sangria (PAKANATHEN et al., 1988).

Trabalhos avaliando plantas de um jardim clonal de seringueiras verificaram que a variação sazonal das condições ambientais pode provocar oscilações na atividade das enzimas invertases e SuSy (CAIRO et al., 2015). A atividade dessas enzimas nos clones avaliados (RRIM 600 e GT 1) foram mais elevadas no período quente e chuvoso e apresentaram baixa atividade no período frio e seco, sendo relacionada a temperatura como fator ambiental que exerceu maior influência sobre a variação da atividade enzimática. Oliveira (1999) observou que temperaturas mínimas no mês de agosto foram bem inferiores que as do mês de dezembro, sendo que esse fator climático parece ser bastante influente na produção de látex, já que as invertases mostraram-se muito sensíveis às baixas temperaturas.

2.4 Efeitos do etileno na produção de látex

A biossíntese de borracha natural é afetada por vários hormônios vegetais, sendo que o etileno é o mais estudado e empregado como estimulante da produção de látex em seringueira (COUPÉ, CHRESTIN, 1989). O produto mais utilizado é o Ethrel[®], cujo princípio ativo é o ethefon (ácido 2-cloretilfosfônico), sendo aplicado no painel de sangria, onde ocorre a liberação do hormônio etileno.

O etileno age na permeabilidade da membrana, levando a um fluxo prolongado de látex e aumentando o metabolismo regenerativo nas células laticíferas (ZHU; SHANG, 2009). Esse aumento no fluxo do látex provocado pela ação do etileno causa um aumento no rendimento da borracha e pode reduzir a frequência de sangrias e aumentar a produtividade no campo e diminuir a mão-de-obra (LACOTE et al., 2010; NJUKENG et al., 2011; TRAORE et al., 2011).

O etileno também é reconhecido por aumentar a hidrólise da sacarose, consequentemente, acelerando a glicólise no citossol, favorecendo o fornecimento de carbono (TUPY, 1985; DOMICINANO, 2015) necessário para a biossíntese do látex. O etileno mantém os vasos laticíferos com paredes mais rígidas e espessas, evitando a oclusão e inibindo a coagulação do látex (BOATMAM, 1996; CASTRO, VIRGENS 1986). Devido a esses fatores, o uso desse estimulante leva a um prolongado fluxo de látex, melhorando o rendimento produtivo de borracha natural em seringueira. Em trabalhos realizados com árvores do clone RRIM 600 em Nepomuceno, no sul de Minas Gerais, foi observado que a aplicação do estimulante aumentou a produção de borracha seca no período de maiores temperaturas (DOMICIANO, 2015).

Resultados de estudos citológicos relatam que os laticíferos são desprovidos de plasmodesmas e pesquisas eletrofisiológicas (BOUTEAU; DELLIS; RONA, 1999) sugeriram a presença de transporte ativo do tipo simporte sacarose- H^+ na membrana plasmática de células laticíferas. O Ethrel[®] promove a atividade de uma ATPase ligada à membrana plasmática, aumentando esse sistema simporte sacarose- H^+ , que está envolvido na absorção de açúcares nas células laticíferas (BOUTEAU et al., 1992). Segundo Domiciano (2015), isso favorece a atividade da INC, assim como a atividade da INV, já que o etileno também estimula uma ATPase do tonoplasto, causando entrada de H^+ no vacúolo, acidificando esse compartimento e alcalinizando o citosol (GIDROL, 1988).

Pesquisas com árvores virgens, que não são exploradas comercialmente, foram verificados que a produção de látex estimulada pelo etileno está associada à alta expressão de

dois transportadores de sacarose. Além disso, esta resposta foi específica para células laticíferas e não foi encontrada nas outras células vivas internas da casca (DUSOTOIT-COUCAUD et al., 2010).

Árvores do clone PB217 de seringueira estimuladas com Ethrel[®] tiveram redução do conteúdo de sólidos totais do látex, correspondendo a sua diluição, devido a um influxo de água nas células laticíferas, sendo correlacionada com aumento do rendimento de borracha (TUNGNGOEN et al., 2009). Esse fato pode estar relacionado com ação das aquaporinas, que facilita a circulação de água entre o xilema e o floema e dentro dos tecidos da casca, contribuindo para manter uma alta pressão de turgescência celular, melhorando assim a produção de borracha.

2.5 Composição mineral e remobilização de nutrientes das folhas durante a senescência foliar

Fatores como água, luz, gás carbônico, assim como os nutrientes minerais, dentre outros, são essenciais para o crescimento e desenvolvimento da planta. Embora os minerais sejam requeridos em pequenas quantidades, são de fundamental importância para o desempenho das principais funções metabólicas da célula (BONATO et al., 1998).

O conhecimento nutricional da planta e da fertilidade do solo em que se encontra o seringal é importante serem avaliados de maneira eficaz, pois a identificação de possíveis desequilíbrios nutricionais na folha e de nutrientes no solo pode limitar a produção (CARMO et al., 2002). A análise de nutrientes foliares em seringueira é um indicativo da eficiência de absorção pela planta dos nutrientes presentes no solo, para a maximização do seu desenvolvimento e produtividade, uma vez que macros e micronutrientes participam em diversos processos metabólicos, bem como de componentes estruturais da planta.

A remobilização de nutrientes ocorre durante a senescência foliar, fazendo com que os nutrientes fiquem disponíveis e sejam redistribuídos para outros órgãos da planta (AVICE; ETIENNE, 2014; FISCHER, 2007). Esse processo exige principalmente mobilidade dos nutrientes pelo floema. Sabe-se que os macronutrientes (N, P, K, S, e Mg), com exceção do Ca, são altamente móveis no floema, enquanto que os micronutrientes (Fe, Zn, Cu, Ni, Mo, B e Cl), com exceção do Mn, são pouco móveis no floema, como relatado por White (2012).

Segundo Marschner (2002) a alta taxa de remobilização dos nutrientes reflete o aparecimento de sintomas de deficiências nas folhas mais velhas. Ao contrário disso, o surgimento de sintomas de deficiência nas folhas mais jovens e de meristemas pode ser

causado pela falta de remobilização, devido à redistribuição ocorrer, predominantemente no floema.

De acordo com Millard e Grelet (2010), a remobilização de macronutrientes em função da sazonalidade já foi relatada em espécies lenhosas. Os mesmos autores ainda afirmam que as árvores que têm o hábito caducifólio, armazenam nutrientes durante o inverno e quando chega à primavera, são mobilizados dos troncos para sustentar o novo crescimento foliar. A seringueira é uma planta lenhosa que apresenta esse comportamento de perda de folhas nos períodos frio e seco no sul de MG. Além de fazer essa remobilização dos nutrientes antes da desfolha, para ser utilizado para refolha, pode exercer um papel importante na reciclagem de nutrientes, uma vez que uma grande quantidade do material vegetal retorna para o solo.

As avaliações de remobilização da maioria dos nutrientes são relativamente escassas, sendo apenas documentadas para os nutrientes mais abundantes, como N, S e P, que na maioria das vezes foram estudados individualmente (MAILLARD et al., 2015). Estudos de remobilização de micronutrientes de folhas têm recebido menos atenção do que para os macronutrientes, tanto em culturas cultivadas como em espécies lenhosas, devido às baixas concentrações nos tecidos (HEGELUND et al., 2012; WATERS et al., 2009).

Geralmente a estimativa de remobilização de nutrientes é simples e pode ser calculada através do método de “remobilização aparente”, que se baseia na determinação da quantidade de nutrientes total presente nos diferentes órgãos da planta, assim como folhas em diferentes estádios de desenvolvimento, conforme utilizado por Hocking e Pate (1977).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área e período experimental

O trabalho foi realizado em um seringal na Fazenda Carandai, localizada no município de Nepomuceno (FIGURA 1), na região sul de Minas Gerais, de propriedade do senhor José Osvaldo Lima Salgado, em plantio comercial do clone RIMM 600 de seringueira de 10 anos. As coordenadas geográficas da fazenda são 21°17'33'' S de latitude, 45°10'41'' W de longitude e com uma altitude de 904m. O clima do município é classificado do tipo CWB, conforme classificado por Köppen (mesotérmico com verões brandos e suaves e estiagem no inverno). A principal atividade econômica da fazenda é a cafeicultura, devido às condições de clima e solo (solo vermelho distrófico).

Figura 1 – Localização do município de Nepomuceno, MG



Fonte: Jonhhanes et al. (2007)

Foram realizadas avaliações nesse plantio no ano de 2014, nos meses de novembro e dezembro, para verificar o efeito fisiológico e na produção de látex em função da aplicação do estimulante Ethrel[®], aplicado no painel de sangria das árvores de seringueira desse plantio. Esse período foi caracterizado por uma grande crise hídrica, com baixo índice de precipitação.

Em continuidade a essa pesquisa, as avaliações deste experimento foram realizadas nos períodos frio/seco e quente/úmido de 2016. O período frio e seco correspondeu de 15 de junho a 15 de julho e o período quente e úmido ao mês de outubro de 2016.

A área onde foi implantado o seringal era de mata nativa. As árvores ficaram um ano e três meses sem serem sangradas e foram selecionadas de acordo com o perímetro do tronco, entre 58 e 73cm, medido a 1,30m acima do solo. Foram utilizadas 30 árvores, com espaçamento de 6 x 2,5m, das quais 15 receberam estimulação com Ethrel[®] e 15 não receberam estimulação.

Os dados climáticos desse ano, assim como do período experimental, foram obtidos pela estação Meteorológica da UFPA, situada a 32km de Nopomuceno. Os dados analisados foram: temperaturas mínima, máxima e média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica.

3.2 Aplicação do estimulante Ethrel[®]

O Ethrel[®] PA (2-chloroethylphosphonic acid- ETHEFON) é um regulador de crescimento do grupo do etileno, produzido pela Bayer S/A e registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob nº 01505.

A recomendação técnica para o uso do produto é na concentração de 0,5% (m/v). Cada árvore selecionada recebeu 5ml da solução, com auxílio de um pincel sobre o canal de sangria. Foram feitas quatro aplicações entre os meses de abril e julho, com intervalos de 30 dias, e uma aplicação feita em outubro.

3.3 Produção de borracha seca e Índice de Obstrução (IO)

O sistema de sangria adotado foi o de meio espiral (½ S), com uma inclinação de 35°, sendo feitas duas sangrias por semana, espaçadas de 3 e 4 dias (d/3 e d/4), realizadas a cerca de 1,30m da superfície do solo.

As sangrias foram realizadas entre 7h e 9h. Nos meses de agosto e setembro a sangria foi suspensa, devido ao desfolhamento do seringal. Em cada sangria foi adicionado 10ml de ácido acético a 20% (v/v), isso para acelerar o processo de coagulação. Os coágulos foram coletados na próxima sangria e em seguida acondicionados em sacos de papel kraft de 2kg, contendo a identificação de cada planta e cada tratamento. O látex coagulado foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar, a 70 °C, durante 72h até o peso constante e posteriormente pesado.

Foram realizadas oito sangrias, porém no mês de outubro, devido à ocorrência das chuvas no mês de outubro, foram perdidas duas sangrias. Devido a isso, os dados de produção

de borracha seca foram obtidos a partir da média de seis sangrias feitas durante o experimento de todas as plantas, realizadas em cada período.

O resultado foi expresso em gramas de borracha seca por planta por sangria ($\text{g.árvore}^{-1}.\text{sangria}^{-1}$) e em gramas de borracha seca por cm^2 da área de seção do painel de sangria ($\text{g. cm}^{-2}.\text{sangria}^{-1}$).

Usando os valores da razão do meio perímetro do tronco com o cosseno do ângulo de inclinação do painel de sangria (35°), foi obtido o comprimento da seção do corte. A área de seção do corte de sangria de cada árvore foi obtida pela multiplicação do comprimento do corte pela espessura da casca, podendo assim expressar a produtividade em gramas de borracha seca por cm^2 de seção de painel de sangria.

O perímetro do caule foi feito com auxílio de fita métrica e a espessura da casca com paquímetro.

O índice de obstrução foi calculado através da equação:

$$IO (\%) = \frac{\text{volume de látex aos 5 minutos após a sangria}}{\text{volume de látex final da sangria}} \times 100$$

Para os dados de produção de borracha seca e IO utilizou-se o DBC, com fatorial 2x2 (SE e CE x frio/seco e quente/úmido), com 15 repetições. Para os dados das características das árvores, utilizou-se o mesmo delineamento; porém, comparando apenas as plantas SE e CE, também com 15 repetições.

3.4 Potencial hídrico

O potencial hídrico foi avaliado no dia 16 de maio (frio/seco) e 16 de outubro de 2016 (quente/úmido), utilizando-se uma bomba de pressão, também conhecida como bomba de Scholander (PMS Instrument Company, modelo 1000).

As avaliações foram feitas entre quatro e cinco horas, em folhas completamente expandidas (estádio D), sendo coletadas com auxílio de um podão.

Os dados de potencial hídrico foram analisados utilizando o DIC, com fatorial 2x2 (SE e CE x frio/seco e quente/úmido), com 10 repetições.

3.5 Análises enzimáticas

As análises enzimáticas seguiram os procedimentos protocolares realizados de forma rotineira nos Laboratórios de Nutrição e Metabolismo de Plantas, do Setor de Fisiologia Vegetal da UFLA.

A casca da árvore utilizada para análise enzimática foi obtida através do corte realizado no painel das 30 árvores, com o auxílio de uma faca própria para sangria, entre 8h e 9h da manhã. Foram retiradas do painel de cada árvore duas cascas, resultantes do corte, com aproximadamente 1,00 mm de espessura, sendo a primeira dispensada e a segunda coletada e armazenada dentro de envelopes de alumínio identificados e acondicionados imediatamente em nitrogênio líquido e transportados para o laboratório, onde foram transferidos para conservação em freezer a -80°C até o dia das análises.

As coletas do material vegetal para análise enzimática foram feitas aos 7 e 21 dias após a aplicação (DAA) do Ethrel[®] nos dois períodos avaliados. Foram avaliadas as atividades das três isoformas de invertase: ácida do vacúolo (IAV), neutra do citosol (INC) e ácida da parede (IAP), em árvores com estimulação (CE) e sem estimulação (SE) por Ethrel[®].

Para as atividades das enzimas, foi utilizado o DBC, com fatorial $2 \times 2 \times 2$ (SE e CE x 7 e 21 dias x frio/seco e quente/úmido), com oito repetições.

3.5.1 Invertases da casca

Amostras de 0,4 g de casca foram trituradas com microtritador da Tecnal modelo TE 102 e N_2 líquido, em seguida moídas em graal e amofariz. As amostras ficaram acondicionadas em eppendorf de 2,0ml, com 1,5ml de meio extrator constituído de tampão fosfato de potássio (100 mM pH 7,5), PMSF (1 mM), MgCl_2 (5 mM) e DTT (1 mM). Posteriormente, o conjunto foi centrifugado a 18.000 g a 4°C , durante 20 minutos (CAIRO et al., 2009). O sobrenadante, extrato proteico da casca, foi utilizado como fonte bruta das enzimas para avaliação da atividade das invertases solúveis (invertase ácida do vacúolo – IAV e invertase neutra do citosol – INC). O pelet foi ressuspendido para extrair a invertase insolúvel (invertase ácida da parede celular – IAPC).

A extração da invertase ácida da parede celular foi realizada de acordo com Fahrendorf e Beck (1990), com algumas modificações. Foi utilizado o mesmo tampão de extração das invertases solúveis, no entanto, foram adicionados NaCl 1M e Triton-X-100 (1%). Posteriormente, foram centrifugados a 18.000g a 4°C , durante 20 minutos. O sobrenadante contendo extrato proteico foi utilizado para a realização do ensaio enzimático.

O meio de reação (1,5mL) para o ensaio das invertases foi constituído de tampão 0,1M, específico no pH de cada isoforma; MgCl_2 5mM, sacarose 200mM e 200 μl de alíquota do extrato proteico de casca. A temperatura de incubação foi de 37°C e alíquotas de 200 μL

foram coletadas ao final de 10 e 70 minutos, para cálculo e determinação da atividade enzimática.

As atividades enzimáticas foram avaliadas pela quantificação de açúcares redutores produzidos, segundo o método DNS descrito por Miller (1959). As atividades foram expressas em μmol de açúcares redutores (AR) produzidos por grama de matéria fresca e por hora.

3.5.2 Invertase neutra do látex

Na quantificação da invertase neutra do látex, foram coletados 20ml de látex aos 7 e 21 dias após aplicação do estimulante em cada período. O material foi centrifugado a 18.000g durante 1 hora a 4°C, para extração do soro C. Após extração, uma alíquota de 100 μl do soro C foi adicionada ao meio de reação contendo: 2,1ml de tampão fosfato de potássio 0,2 M pH 7,4; 0,2ml de sacarose a 0,3 M e 1,6ml de água destilada e em seguida foi incubado em banho-maria a 30°C e uma alíquota de 400 μl do meio reacional foi coletado ao final de 10 e 70 minutos para a quantificação da atividade enzimática pelo método do DNS, descrito por Miller (1959). A atividade dessa isoforma foi expressa em μmol de açúcares redutores (AR) produzidos, por ml de Soro C e por hora.

3.6 Temperatura e respiração do Caule

A temperatura do caule foi determinada utilizando um termômetro infravermelho da *Instrutherm*, modelo TI-870. As medidas foram feitas a 60cm de distância das árvores, sendo aplicado o infravermelho no painel de sangria próximo e abaixo do corte. As leituras foram feitas aos 7 e 21 dias após a aplicação do estimulante nos dois períodos experimentais, entre nove e dez horas da manhã.

A respiração do caule foi determinada utilizando o IRGA modelo LCA-4 da ADC, acoplado em uma câmara, que foi construída pela equipe do Laboratório de Ecofisiologia do setor de Fisiologia Vegetal da UFLA. Essa câmara foi fixada junto ao caule, a 4cm abaixo do canal de sangria, e vedada com silicone para não haver perda do ar dentro dela. As medidas foram feitas entre nove e dez horas da manhã e 21 dias após a aplicação do estimulante nos dois períodos.

Para as avaliações da temperatura de caule foi utilizado DBC, com fatorial 2x2x2 (SE e CE x 7 e 21 dias x frio/seco e quente/úmido), com 15 repetições. Para os dados de

respiração usou-se o mesmo delineamento, porém com fatorial 2x2 (SE e CE x frio/seco e quente/úmido), com 10 repetições.

3.7 Análises minerais e orgânicas

O estado nutricional das plantas foi avaliado através da análise química das folhas não senescentes (completamente expandidas), coletadas no mês de abril de 2016.

As análises mineral e orgânica foram realizadas em folhas senescentes coletadas no mês de julho de 2016, durante a desfolha das plantas.

As folhas senescentes foram coletadas no mês de julho de 2016 e realizadas as análises nutricionais para avaliar remobilização mineral e orgânica.

As quantidades mineral e orgânica foram determinadas pela diferença entre as quantidades de nutrientes encontrados nas folhas não senescentes (completamente expandidas) e senescentes.

Foram coletadas quatro folhas na base do terço inferior da copa, nos quatro pontos ortogonais, de 10 plantas de cada tratamento, com auxílio de um podão, formando-se amostras compostas, segundo o método proposto por Bataglia, Cardoso e Carretero (1988).

Os dados do estado nutricional das plantas foram analisados em DIC, com dois tratamentos (SE e CE), com cinco repetições. A taxa de remobilização utilizou-se o mesmo delineamento, comparando os estádios das folhas (não senescente e senescente).

3.7.1 Composição mineral foliar e do solo

A análise foliar dos teores dos macro e micronutrientes dos dois estádios de desenvolvimento da folha foi realizado pelo Laboratório de Análise Foliar pertencente ao Departamento de Química da UFLA/MG. Foi realizada a análise de fertilidade do solo no Laboratório de Análise de solo, pertencente ao Departamento de Solo da UFLA.

3.7.2 Biomoléculas orgânicas

As macro e micromoléculas foram extraídas da massa seca de folhas pela homogeneização de 200mg de massa seca em 5ml de tampão fosfato de potássio, 100 mM, pH 7,0, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40 °C. O homogenato foi centrifugado a

10000g por 20 minutos, coletando-se o sobrenadante. O processo foi repetido por duas vezes e os sobrenadantes, combinados (ZANANDREA et al., 2010).

Para extração do amido, o pellet foi ressuspendido com 8ml do tampão acetato de potássio 200 mM, pH 4,8. Em seguida, foram adicionadas 2ml da enzima amiloglicosidase, incubando-se em banho-maria a 40°C por duas horas. Após a centrifugação a 10.000g por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 15ml.

Para a extração da sacarose, adicionou-se 800µl do sobrenadante (macro e micro) e acrescentou-se 800µl de NaOH a 30%. Após, foi para o banho maria a 37°C por 15min.

Para a quantificação de amido, sacarose e açúcares solúveis totais, foi utilizado o método da Antrona (DISCHE, 1962). Os teores de açúcares redutores foram estimados pela diferença entre os teores de açúcares solúveis totais e sacarose.

Para quantificação de aminoácidos foi utilizado o método da Ninhidrina (YEMN; COCKING, 1955) e os teores de proteínas pelo método de Bradford (1976).

3.8 Análise estatística

As características analisados seguiram o delineamento em blocos casualizados (DBC), exceto os que são relacionados com as folhas, que foram em delineamento inteiramente casualizados (DIC). O número de repetições variou de acordo com a característica avaliada.

As análises estatísticas foram feitas utilizando o pacote computacional Sistema de Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2002). A análise de variância foi feita com base na comparação de médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

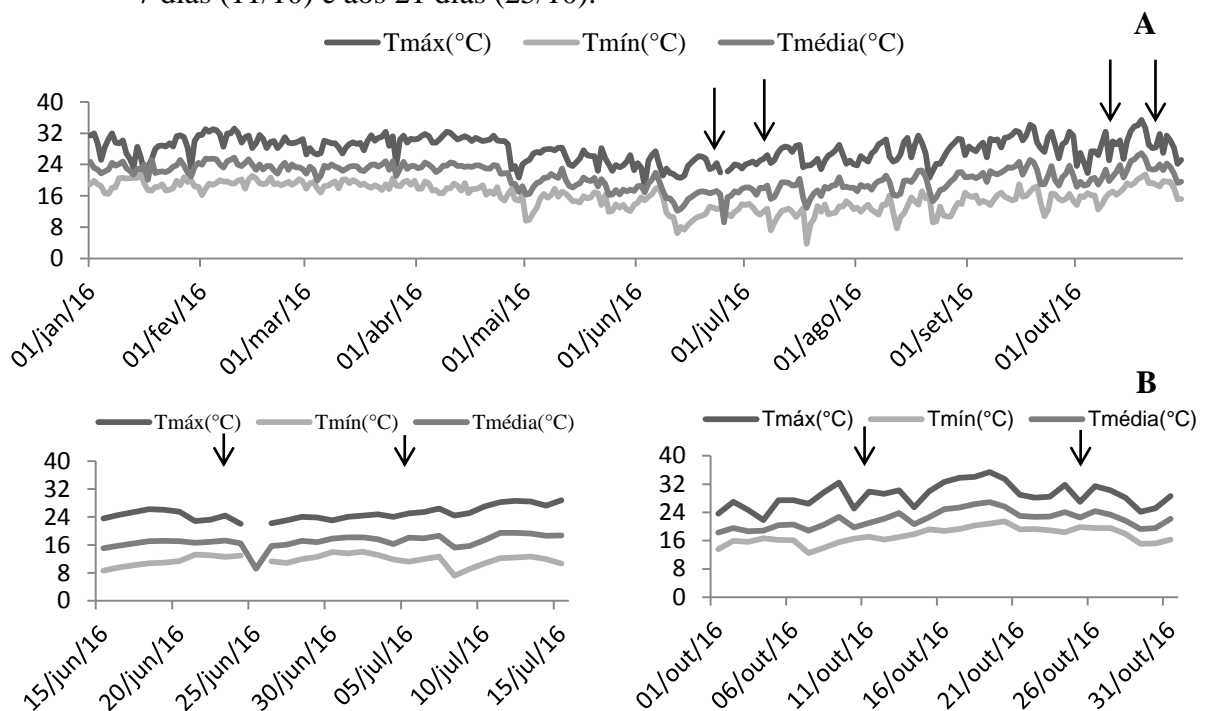
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Condições ambientais durante o período experimental

A Figura 2A apresenta as variações de temperaturas mínima, máxima e média, no período de janeiro a outubro de 2016, para a região de Lavras, localizada a 32km de Nepomuceno, onde foi realizado o experimento. Os valores mais elevados de temperatura e foram nos meses de janeiro a abril. No mês de maio, houve início da diminuição da temperatura, tendo uma queda entre os meses de junho a agosto. No mês de setembro, iniciou-se o aumento das temperaturas, sendo maiores novamente no mês de outubro.

Durante a fase experimental, o período frio/seco demonstrou características bem típicas, com temperatura mínima de 11°C e máxima de 25° (FIGURA 2B). A queda da temperatura média foi causada, principalmente, pela temperatura mínima, se mantendo em média de 17°C. O mês de outubro (caracterizado nesse estudo como quente/úmido) apresentou temperatura mínima de 18°C e máxima de 35°C.

Figura 2 – Dados de temperatura mínima (T_{mín}), temperatura máxima (T_{máx}), temperatura média (T_{méd}) referente ao período de janeiro a outubro de 2016 (A) e a fase experimental (B), que correspondeu ao período de 15/06/2016 a 15/07/2016 (período frio/seco) e 01/10/2016 a 31/10/2016 (período quente/úmido). As setas indicam o dia das coletas do material, após a plicação do Ethrel[®] no período frio/seco, aos 7 dias (21/06) e aos 21 dias (05/07), e no período quente/úmido, aos 7 dias (11/10) e aos 21 dias (25/10).



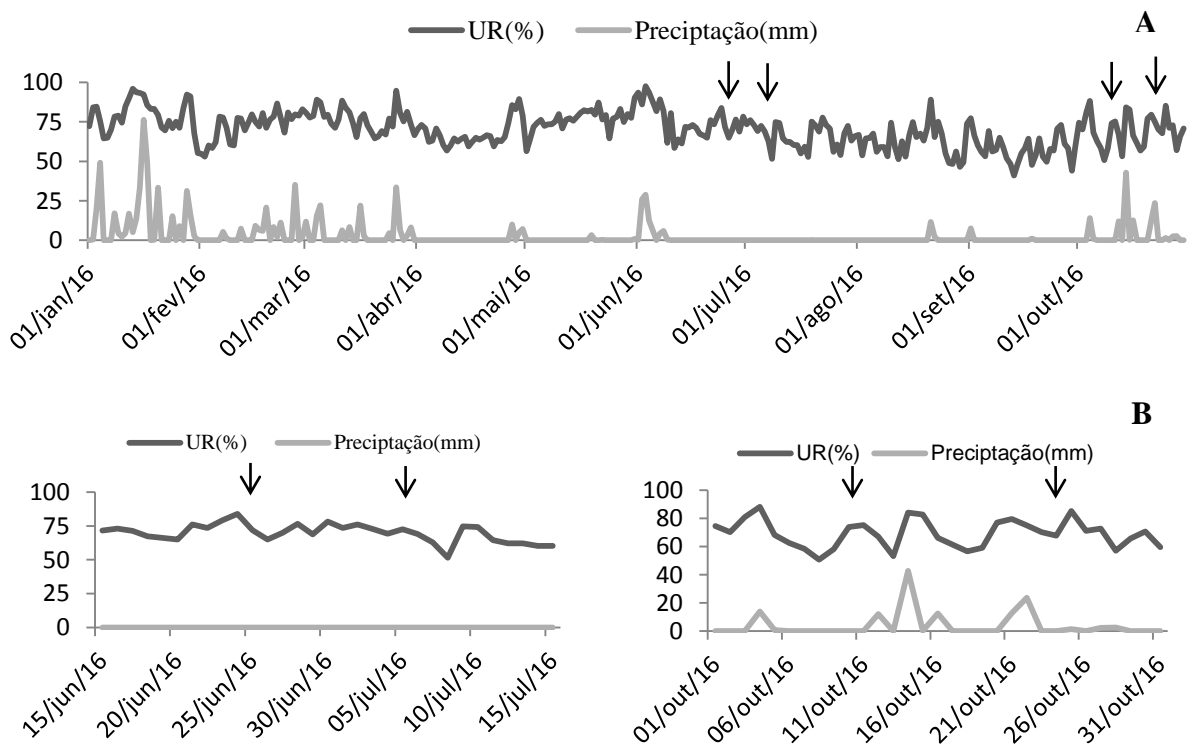
Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) – Estação: Lavras-MG

Temperaturas médias do ar anual acima de 20°C são as mais favoráveis para o desenvolvimento da seringueira. Os limites mais favoráveis para que ocorra a fotossíntese estão situados entre 27°C e 30°C, sendo que em temperaturas acima de 40°C, a respiração é maior que a fotossíntese, causando uma redução no crescimento (ZONG DAO; XUEQIN, 1983). Para o fluxo de látex, os intervalos de temperaturas entre 18°C e 28°C tem sido relatado como o mais indicado.

Os valores mais elevados de precipitação ocorreram no mês de janeiro (FIGURA 3A). A partir do mês de fevereiro, observou-se queda dos índices de pluviosidade, sendo que no mês de abril ocorreu uma queda drástica na ocorrência de chuvas, se prolongando até o mês de setembro. No mês de outubro observou-se retomada no início das chuvas desse ano. A umidade relativa do ar variou entre 50 e 90%, mantendo uma média de 70%.

Durante o período frio/seco não ocorreu precipitação, conforme ilustrado na figura Figura 3B. Esse fato caracterizou esse período como tipicamente seco.

Figura 3 – Dados de precipitação (mm) e umidade relativa (%) referentes ao período de janeiro a outubro de 2016 (A) e a fase experimental (B) que correspondeu ao período de 15/06/2016 a 15/07/2016 (período frio/seco) e 01/10/2016 a 31/10/2016 (período quente/úmido). As setas indicam o dia das coletas do material, após a plicação do Ethrel[®] no período frio/seco, aos 7 dias (21/06) e aos 21 dias (05/07), e no período quente/úmido, aos 7 dias (11/10) e aos 21 dias (25/10).



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) – Estação: Lavras-MG

A ocorrência prolongada de baixas temperaturas, associadas com baixa disponibilidade de água no solo, que ocorrem nessa região, contribuem para a entrada das folhas no estágio de senescência e, posteriormente, a sua queda.

No período quente/úmido, referente ao mês de outubro nesse experimento, mês que se caracteriza como início das chuvas, mostrou que teve precipitação pluvial mensal de 125,2mm.

4.2 Características morfológicas do painel de sangria e Produção de borracha seca

O perímetro do caule, espessura da casca, comprimento de corte e área de sessão de sangria não apresentaram diferenças entre os tratamentos (TABELA 1). Esses resultados mostram que as árvores selecionadas exibiram uniformidade nas características relacionadas ao painel de sangria, uma vez que elas são relacionadas com a produtividade de borracha em clones de seringueira.

Tabela 1– Características das árvores avaliadas (média de 15 árvores), sem o estimulante Ethrel[®] (SE) e com o estimulante (CE)

Tratamento	Perímetro de caule(cm)	Espessura da casca (cm)	Comprimento do corte (cm)	Área de seção de sangria (cm ²)
SE	64,8*	0,9*	39,5*	34,7*
CE	62,4	0,9	39,8	35,2

*Médias não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05).

O perímetro do caule e a espessura da casca têm importante função em estudos de seleção precoce de clones de seringueira como materiais promissores. Essas características são relevantes, pois sua utilização como fator de seleção de material genético possibilita ampliar a utilização dos clones em novos plantios na região (MESQUITA; OLIVEIRA, 2010).

A espessura da casca se relaciona positivamente com a sangria, pois quanto mais espessa a casca mais fácil de ser sangrada do que uma de casca mais fina, que tem menor número de vasos laticíferos (SIMMONDS, 1989). As características para a escolha de um bom material genético tais como espessura da casca, perímetro do caule, diâmetros dos vasos e número de vasos laticíferos de árvores de seringueira, estão correlacionadas com a produtividade de borracha.

A produção de borracha seca no período frio/seco não diferiu entre as árvores SE das CE. No período quente/úmido verificou-se que a aplicação do estimulante causou um

aumento de 66% na produção de borracha seca em relação às árvores que não receberam o estimulante (TABELA 2).

Tabela 2 – Produção de borracha seca (média de 15 árvores e 6 sangrias) e Índice de obstrução dos vasos laticíferos (média de 15 árvores) nos períodos frio/seco (F/S) e quente/úmido (Q/U) das árvores sem o estimulante Ethrel[®] (SE) e com o estimulante (CE).

Tratamento	Produção de borracha seca				Índice de Obstrução (%)	
	g. árvore ⁻¹ .sangria ⁻¹		g.cm ⁻² de seção.sangria ⁻¹		F/S	Q/U
	F/S	Q/U	F/S	Q/U	F/S	Q/U
SE	52aA	42bA	1,4aA	1,1bA	25aA	30aA
CE	55aA	70aA	1,5aB	2,1aA	20aA	14bA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05).

Os valores de produção de borracha seca encontrados neste trabalho das árvores estimuladas no período quente/úmido diferem dos valores obtidos por Domiciano (2015), que avaliou o uso do estimulante no mesmo plantio comercial no período de novembro e dezembro de 2014. A autora observou que a estimulação pelo Ethrel[®] aumento em 40% a produção de látex para o clone RRIIM 600 com idade de 8 anos, atingindo valores de 53g.árvore⁻¹.sangria⁻¹, enquanto que neste estudo foi de 70g. árvore⁻¹.sangria⁻¹. Jetro e Simon (2007) apoiam que o rendimento (g.árvore⁻¹.sangria⁻¹) de árvore estimulada é significativamente maior que as árvores não-estimuladas.

Segundo Oliveira (2005), as respostas da produção à estimulação tende a ser mais positiva em plantas mais velhas, já que a sangria causa uma diminuição do crescimento, uma vez que os metabolitos a serem utilizados para construção de novos tecidos é transferido para o látex. Diante disso, esse pode ser um dos fatores que explica as diferenças encontradas entre os resultados obtidos neste trabalho com os observados por Domiciano (2015), já que a diferença de idade das árvores era de dois anos. Além disso, as características como perímetro do tronco e espessura da casca podem também justificar essa diferença na produção, visto que os valores desses parâmetros foram maiores neste estudo. A mesma autora sugere outro fator que pode ter influenciado na produtividade de borracha seca em seu estudo, o baixo índice de chuvas verificado antes e depois do seu experimento.

Em trabalhos realizados para avaliar clones de seringueira no estado de SP, conhecido como maior produtor de borracha natural do Brasil, foi verificado uma produção média de 22,05g.árvore⁻¹.sangria⁻¹ no clone RRIM 600, sendo observado a maior produção para o clone IRCA 111 com 66,01g.árvore⁻¹.sangria⁻¹, ao final de oito anos consecutivos de avaliação (ALEM et al., 2015). Comparado aos dados obtidos neste trabalho e por Domiciano (2015), a

produção do clone RRIM 600 em São Paulo, foi inferior aos nossos resultados. Isso indicando que o sul de MG pode ser uma região promissora para o cultivo e exploração comercial da borracha natural produzida pela seringueira.

Apesar de não apresentar diferença significativa entre os períodos avaliados, no período quente e úmido, as árvores que receberam o Ethrel[®] apresentaram uma tendência de aumento em 27% na produção em relação ao período frio e seco. Devido a isso, é possível que ocorra diferença significativa de produtividade entre os períodos, visto que a região tem histórico de maiores precipitações e temperaturas nos meses seguintes ao mês de outubro, estudado neste trabalho.

Quando a produção é expressa em gramas por área de seção, observa-se que houve diferença entre os períodos das árvores que receberam o estimulante, ocorrendo um aumento de 40% no período quente/úmido.

No período frio/seco é caracterizado por menores produções de látex, pois é quando ocorre um declínio na atividade da rubisco, contribuindo para a redução da eficiência de carboxilação, prejudicando assim a fotossíntese e, conseqüentemente, a síntese de sacarose, causando então queda na biossíntese do látex (CAIRO et al., 2009, 2015). Em baixas temperaturas, a capacidade de regeneração da ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) também é prejudicada, limitando a fotossíntese.

Mesquita et al. (2006a) verificaram maior produção de látex no período quente/úmido do que no período frio/seco, justificando que o aumento das temperaturas mínimas e máximas, assim como da precipitação pluviométrica, favorece todos os processos metabólicos envolvidos na produção de borracha, desde a entrada de carbono e sua assimilação, até a biossíntese do látex.

Trabalhos realizados em clones RRIM 600 mostraram que houve maior produção de borracha nos períodos de maior precipitação e temperaturas médias mais altas, além de considerar relevante a umidade relativa do ar e solos úmidos. Esses fatores contribuem para melhorar as condições hídricas das plantas, pois aumenta o potencial de turgescência das células dos vasos laticíferos, melhorando o fluxo de látex e aumentando assim a produção de borracha (LIMA et al., 2002).

Assim como os valores de produção, os valores do índice de obstrução seguiram o mesmo comportamento, havendo apenas diferença significativa entre os tratamentos no período quente/úmido (Tabela 2). A aplicação do Ethrel[®] reduziu em 53% o índice de obstrução nesse período. Isso refletiu no aumento da produção, devido ao maior fluxo de látex durante a sangria, não somente no tempo inicial, mas também durante todo o tempo da

sangria. Em estudos com os clones FX 2261, GT 1 e RRIM 600 de seringueira foi constatada correlação positiva entre o índice de obstrução e a produção de látex, podendo ser utilizado como um fator importante para a seleção de materiais promissores (MESQUITA et al., 2006a)

Entre os períodos e entre os tratamentos no período frio/seco não houve diferença significativa. Ao contrário disso, Paardekooper e Sookmark (1969) observaram diferenças no índice de obstrução em função da variação sazonal, sendo menores nos meses que coincidem com o período quente/úmido. O estresse causado pelo período frio/seco induz mudanças bioquímicas que levam menor estabilidade dos lutoídes, ocasionando uma maior obstrução dos vasos laticíferos, acarretando assim uma menor produção (DEVAKUMAR et al., 1988).

Os estudos anteriores, realizados no mesmo cultivo comercial do clone RIIM 600, obtiveram resultados parecidos com os deste estudo. As plantas que receberam o estimulante diminuíram o índice de obstrução em 55% (DOMICIANO, 2015). O Ethrel[®] interfere na obstrução do fluxo de látex, pois ele aumenta a estabilidade dos lutoídes fazendo com que os vasos laticíferos prolonguem o tempo de obstrução próximo a superfície de corte, conseqüentemente, aumentando o período de exsudação, refletindo na maior produtividade de borracha (BOATMAN, 1966; OLIVEIRA, 2005).

4.3 Potencial Hídrico Foliar

Observa-se na Tabela 3 diferença entre os potenciais hídricos, apenas entre os períodos avaliados. Entre os tratamentos não houve diferença. No período quente/úmido verificou-se que o potencial hídrico foi 3,5 vezes maior que no período frio/seco, tanto nas plantas que receberam o estimulante, como nas que não receberam.

Tabela 3 – Potencial hídrico foliar (-MPa) das plantas SE e CE avaliadas no período frio/seco e quente/úmido (média de 10 árvores)

Tratamento	Período	
	Frio/Seco	Quente/Úmido
SE	0,25aB	0,07aA
CE	0,24aB	0,07aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05).

O menor potencial hídrico da folha, no período frio/seco, acompanha a falta de chuva registrada nos meses de junho e julho (FIGURA 3B). Observa-se, também, que no período quente/úmido, com medições realizadas no mês de outubro, o potencial hídrico foliar sofreu influência da precipitação que ocorreu neste mês.

Em estudos com clones RRIM 600 e GT 1 realizados em Lavras, MG, foi verificado que nos meses de julho a setembro ocorreu baixos valores de potencial hídrico foliar (em torno de $-0,35$ MPa) (OLIVEIRA, 1999). Esta mesma pesquisadora avaliou também no mês de dezembro, encontrando valor significativamente diferente ($-0,15$ MPa) devido a ocorrência da precipitação nesse período. Os resultados obtidos neste trabalho seguiram um comportamento semelhante aos dessa autora, visto que no período frio/seco foi encontrado valores de potencial hídrico em torno de $-0,25$ MPa e, em outubro, início dos períodos de chuva, o resultado observado foi de $-0,07$ MPa.

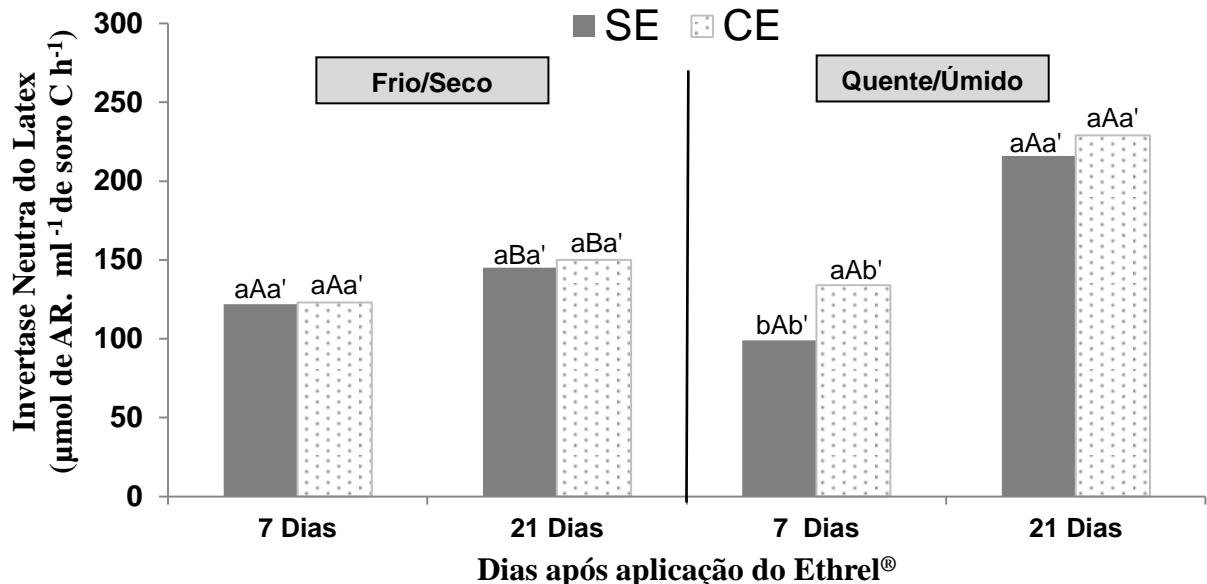
Períodos prolongados de estiagem, que ocorrem durante o inverno na região, onde foi realizado este trabalho, podem acarretar diminuição considerável do potencial hídrico da folha.

O baixo potencial hídrico do solo provoca o fechamento estomático, já que é uma estratégia das plantas para não perder água, prejudicando assim as trocas gasosas. Devido a isso, acarreta uma alteração no metabolismo de carboidratos, que são necessários para a biossíntese do látex e, conseqüentemente, na produtividade da borracha natural. A resistência estomática pode minimizar essas reduções do potencial hídrico, podendo ser uma das causas de variabilidade na atividade fotossintética entre clones de seringueira (MIGUEL, 2007).

4.4 Atividade das invertases em tecidos da casca e do látex da seringueira

Os valores obtidos para atividade da invertase neutra citosólica do látex não tiveram diferença significativa entre as árvores sem o estimulante e com o estimulante e também entre aos 7 e 21 dias após aplicação no período frio/seco (FIGURA 4). Por outro lado, no período quente/úmido observa-se que houve um aumento na atividade dessa enzima nas plantas que receberam o Ethrel[®] aos 7 dias após aplicação, mas não foi alterado aos 21 dias. Após 7 dias da aplicação do estimulante nas árvores, houve um aumento de 34% na atividade enzimática, quando comparada às plantas que não receberam a aplicação no tempo inicial.

Figura 4 – Atividade da invertase neutra do citosol do látex nos períodos frio/seco e quente/úmido, aos 7 e 21 dias após a aplicação do estimulante Ethrel® (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas com apóstrofe compararam as árvores SE e CE em cada período e DAA, letras maiúsculas compararam os períodos (frio/seco e quente/úmido) em cada tratamento e DAA e letras minúsculas com apóstrofe compararam os DAA em cada tratamento e período.



Em estudos realizados com seringueiras estimuladas com etileno, foi comprovado que este hormônio aumentou a atividade das invertases, resultando na aceleração da glicólise, levando a um melhor suprimento de carbono, como a acetil-CoA, para a biossíntese de borracha (MESQUITA et al., 2006b; TUPY, 1973). Isso está de acordo com os resultados obtidos neste trabalho aos sete dias no período quente/úmido, assim como nos estudos realizados no mesmo plantio que também identificaram maior atividade dessa enzima das árvores que foram tratadas com etileno após 12 dias da aplicação (DOMICIANO, 2015).

A mesma autora observou que no mesmo tratamento teve um aumento no teor de açúcares solúveis totais e nos açúcares redutores próximos ao corte no painel de sangria, mas também menor teor de sacarose. Isso pode estar relacionado com a rápida utilização da sacarose pelas invertases e da sintase da sacarose (SuSy), para fornecer hexoses para a biossíntese do látex e também para a regeneração da casca (CONDURÚ NETE, 1986; TUPY, 1985).

Aos 21 dias após a aplicação no período quente/úmido não se observou efeito no uso do estimulante sobre a atividade dessa enzima. Além disso, verificou-se que nesse mesmo período houve um aumento de duas vezes na atividade da INC, quando comparada aos 7 dias após a aplicação, independente do uso ou não do estimulante.

Pode ser observado que apenas aos 21 DAA no período quente/úmido a atividade dessa enzima foi significativamente maior que no período frio/seco, com aumento de 34% na produção de açúcares redutores, tanto nas plantas SE como nas plantas CE.

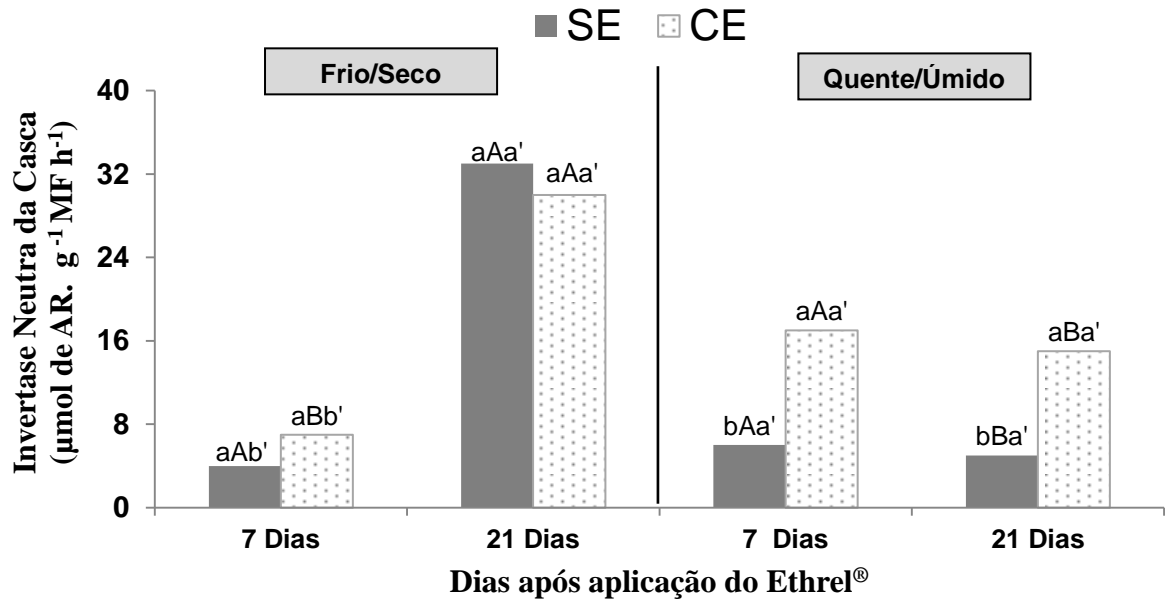
Trabalhos realizados em seringueira, para avaliar o efeito da variação sazonal na atividade da invertase neutra do látex, verificaram que nos meses de temperaturas mais baixas, houve uma menor atividade dessa enzima (YEANG et al., 1984). Isso também foi observado nos resultados obtidos neste trabalho, visto que as condições de baixas temperaturas associadas com baixas precipitações não favoreceram a atividade da INC do látex, mesmo com a aplicação do estimulante.

Variações sazonais interferem na atividade das enzimas que atuam na hidrólise da sacarose, resultando em alterações nos níveis de produção de açúcares redutores. De fato, isso foi obtido por Cairo et al. (2009, 2015) em seus resultados com os clones GT1 e RRIM 600, em que a atividade conjunta das invertases e da SuSy foi maior no período quente/úmido do que no período frio/seco. Esses mesmos autores também observaram menor atividade da enzima Rubisco, responsável pela fixação primária de carbono, e também na atividade da sintase da sacarose fosfato (SPS), envolvida na síntese de sacarose, no período frio/seco. Diante disso, baixas temperaturas podem afetar os eventos envolvidos com a biossíntese e transporte da sacarose das folhas, para a sua posterior utilização na biossíntese do látex no caule das árvores de seringueira.

A Figura 5 mostra a atividade da invertase neutra do citosol da casca, em que diferentemente da INC do látex, observou-se diferença significativa entre os dias após a aplicação, mesmo não havendo diferença entre as árvores SE e CE no período frio/seco. Observa-se que aos 21 dias após a aplicação, houve um aumento de 88% e de 76% nas plantas SE e CE, respectivamente, nesse período. Essa diferença pode estar relacionada com a menor temperatura observada aos 7 DAA (FIGURA 2B), que chegou à temperatura média de 9°C e, aos 21 dias, à 16°C, tendo uma diferença de 8°C entre os dois DAA.

Entretanto no período quente/úmido aos 7 e 21 DAA observou-se diferença significativa entre as árvores que foram estimuladas com Ethrel[®] das que não foram estimuladas. Esse aumento na atividade da INC da casca chegou a ser três vezes maior nas plantas CE. Porém, tanto aos 7 DAA como aos 21 DAA, a atividade enzimática das árvores SE e CE foi praticamente a mesma.

Figura 5 – Atividade da invertase neutra do citosol da casca nos períodos frio/seco e quente/úmido, aos 7 e 21 dias após a aplicação do estimulante Ethrel® (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam as árvores SE e CE em cada período e DAA, letras maiúsculas comparam os períodos (frio/seco e quente/úmido) em cada tratamento e DAA e letras minúsculas com apóstrofe comparam os DAA em cada tratamento e período.



Quando se comparam os períodos, houve um aumento de 61% na atividade da invertase neutra da casca, no período quente/úmido, das plantas CE aos 7 dias, em relação ao período frio/seco. Ao contrário disso, a atividade enzimática no período quente/úmido foi de sete e duas vezes menores nos tratamentos SE e CE, respectivamente, aos 21 dias, quando comparado ao período frio/seco.

O comportamento da atividade da INC no período quente/úmido foi semelhante com os resultados obtidos por Domiciano (2015), em que as árvores que foram estimuladas tiveram uma maior atividade enzimática. Porém, a quantidade de açúcares redutores produzida na casca pela ação dessa enzima foi muito menor que os encontrados pela autora, que obteve 250 e 150 $\mu\text{mol de AR.g}^{-1} \text{MF h}^{-1}$ aos 7 e 21 dias, respectivamente, nas árvores CE. Essas diferenças podem ser atribuídas por alguma alteração nas condições ambientais durante os períodos de estudo, especialmente na disponibilidade de água no solo, fazendo com que tivesse essa variação na atividade. Outra justificativa, que não pode ser descartada, é que as árvores avaliadas pela autora já vinham sendo exploradas comercialmente, e neste trabalho isso não ocorreu, uma vez que as árvores estavam sem serem sangradas por mais de um ano.

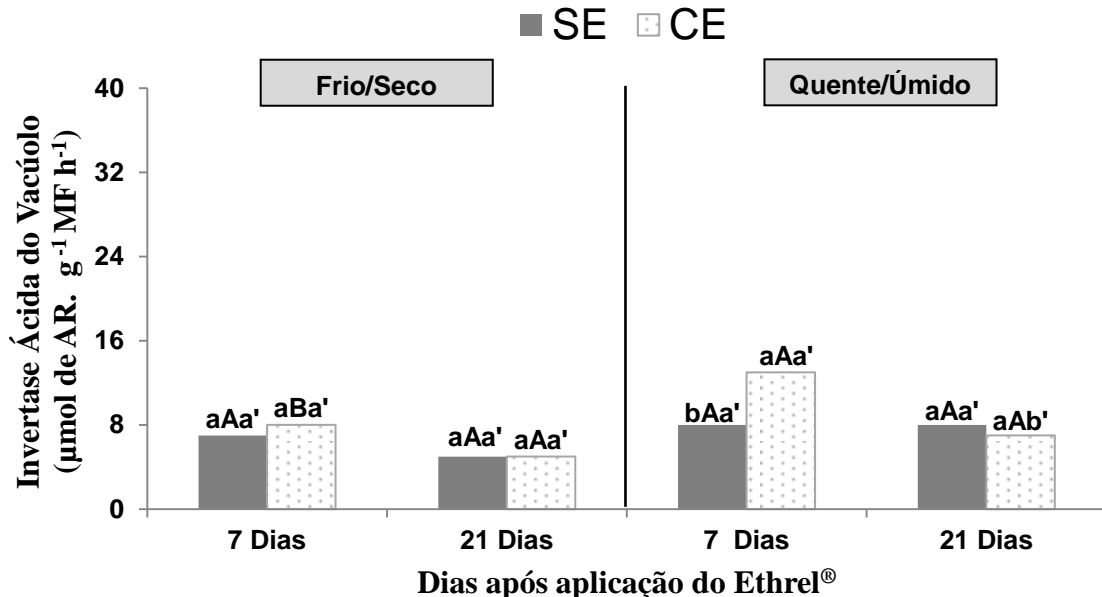
Em estudos realizados com clone PB 217, avaliaram os efeitos da estimulação com etileno e verificaram que aumentou o fluxo de látex nas primeiras sangrias, sendo 27 vezes maior do que nas plantas sem estimulação (DUSOTOIT-COUCAUD et al., 2010). Esse fato está de acordo com o observado por Domiciano (2015), em que a atividade da INC das plantas CE foi maior aos 7 dias após a aplicação, diminuindo aos 21. O mesmo foi encontrado para a atividade da INC do látex aos 7 dias do período quente/úmido desse trabalho. Porém, a atividade da INC da casca contraria esse relato da literatura, uma vez que a atividade dessa enzima se manteve praticamente igual tanto aos 7 dias como aos 21 dias nas árvores que receberam estimulação.

Foram identificados dois transportadores de sacarose que são regulados pelo etileno, conhecidos como HbSUT1A e HBSUT2A. Esses transportadores foram significativamente estimulados pelo etileno após 16 horas da aplicação (DUSOTOIT-COUCAUD et al., 2010), garantindo uma melhor importação da sacarose para o meio intracelular dos laticíferos, que é necessária para a produção de borracha pelas árvores da seringueira (ZHU; SHANG, 2009). A presença desses transportadores de sacarose nas células laticíferas pode estar relacionada com a maior atividade da INC encontrada neste estudo, uma vez que permitiu a entrada da sacarose do apoplasto para o citosol.

No período frio/seco, época em que se observou menor potencial hídrico foliar, indica que as árvores poderiam estar em condições de disponibilidade de água no solo menos favoráveis. Esse fato pode ter levado a uma maior atividade da INC aos 21 dias, pois a quebra da sacarose em glicose mais frutose, leva a um ajustamento osmótico das células. O aumento desses carboidratos na célula causa uma diminuição do potencial osmótico e consequentemente no potencial hídrico (MARTINEZ et al., 2007). Isso ajuda a entrada de água das células vizinhas para as células laticíferas, ocasionando um aumento no potencial de turgescência, visto que isso é um fator importante para o melhor funcionamento do metabolismo celular.

A IAV apresentou uma baixa atividade enzimática, não tendo diferença entre os tratamentos e entre os dias após a aplicação, no período frio/seco. Por outro lado, aos 7 dias no período quente/úmido houve um aumento de 39% nas plantas CE quando comparada com as SE (FIGURA 6).

Figura 6 – Atividade da invertase ácida do vacúolo da casca nos períodos frio/seco e quente/úmido, aos 7 e 21 dias após a aplicação do estimulante Ethrel® (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam as árvores SE e CE em cada período e DAA, letras maiúsculas comparam os períodos (frio/seco e quente/úmido) em cada tratamento e DAA e letras minúsculas com apóstrofe comparam os DAA em cada tratamento e período.



No período quente/úmido, quando se compara os dias após aplicação, as plantas que não receberam o estimulante não diferiram entre os 7 e 21 dias, porém as plantas tratadas com o estimulante tiveram o dobro da sua atividade aos 7 dias. A única diferença observada entre os períodos foi aos 7 dias nas plantas que receberam aplicação do Ethrel®. No período quente/úmido houve um aumento de 39% na atividade da IAV, quando comparado ao período frio/seco das plantas CE aos 7 dias após a aplicação.

A IVA do vacúolo é muitas vezes envolvida para desempenhar função de acumular hexoses nos órgãos das plantas, principalmente em condições de estresse hídrico. A quebra da sacarose no vacúolo gera um acúmulo hexoses, causando uma queda no potencial osmótico (RUAN, 2014), o que contribui para a manutenção de turgescência celular. Em trabalhos realizados no mesmo seringal, foi verificado um aumento na atividade dessa isoforma, nas plantas estimuladas com etileno (DOMICIANO, 2015). A autora atribui isso à seca que ocorreu no ano experimental de seu estudo, uma vez que esse ajustamento osmótico sustenta o influxo de água para os tecidos da casca e na manutenção da turgescência, prolongando o fluxo de látex.

Neste estudo, não houve essa diferença entre as árvores tratadas e não tratadas com o estimulante, muito menos aumento da atividade da IAV no período mais crítico de seca que

foi no inverno. Isso sugere que essa enzima solúvel não exerceu essa função no ajustamento osmótico. Esse processo pode ter ocorrido pela alta atividade da INC da casca, quebrando a sacarose no citosol em hexoses e essas, posteriormente, foram transportadas e acumuladas no vacúolo.

O aumento da IAV aos 7 dias das plantas CE, no período quente/úmido está de acordo com principal envolvimento dessa enzima, uma vez que no início do mês de outubro houve baixas precipitações pluviométricas, o que coincidiu com a coleta da casca nesse período.

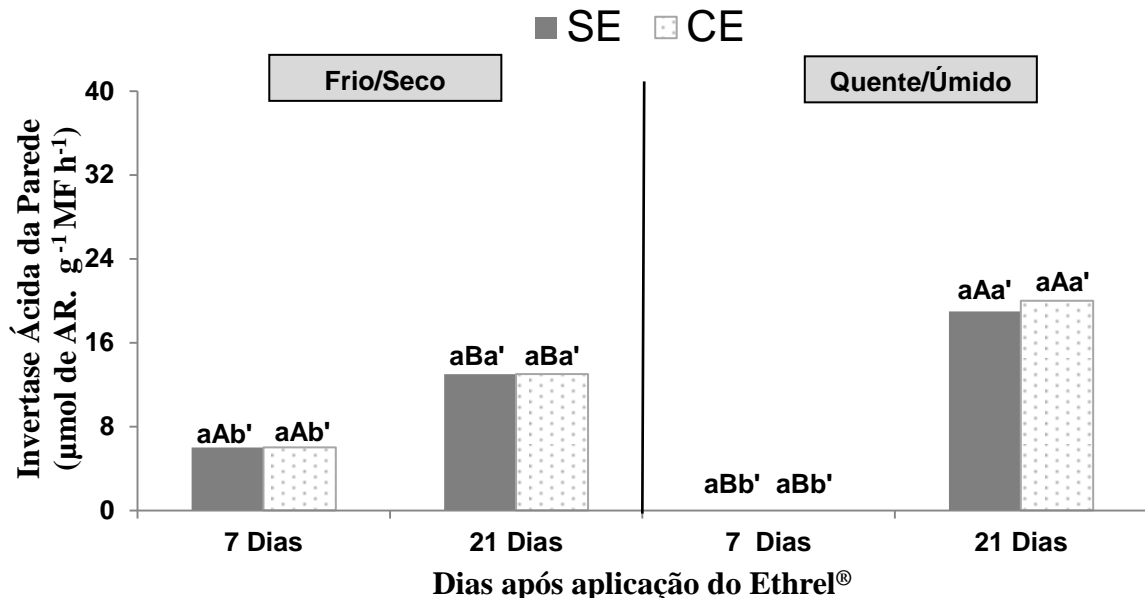
Em alguns trabalhos realizados com seringueira, foi verificado que o efeito do estimulante aumenta a atividade de uma ATPase ligada ao tonoplasto do vacúolo (GIDROL, 1988). Esta enzima transloca prótons do citosol para o vacúolo, favorecendo a acidificação dessa organela e, conseqüentemente, a alcalinização do citosol, melhorando assim a hidrólise da sacarose por diferentes enzimas dependentes de pH, resultando no melhor aproveitamento das hexoses para regeneração do látex (CHRESTIN, 1984; JACOB et al., 1982). Além dos efeitos do etileno já citados, esse fato pode estar relacionado tanto com o aumento na atividade da IAV aos 7 dias, assim como a atividade da INC aos 7 e 21 dias nas plantas CE no período quente/úmido.

Quanto a atividade da IAPC, observa-se que não houve efeito do Ethrel[®] em nenhum dos períodos avaliados. No entanto, no período frio/seco, a atividade da IAPC foi apenas expressiva quando comparada aos 21 dias em relação aos 7 dias (FIGURA 7). Esse aumento foi duas vezes maior aos 21 dias após a aplicação e ocorreu tanto nas plantas SE como nas plantas CE.

No período quente/úmido, não foi detectada a atividade dessa enzima insolúvel aos 7 dias após a aplicação. Porém, aos 21 dias apresentou um aumento significativo na sua atividade, quando comparada aos 7 dias. Isso sugere que o Ethrel[®] não gerou nenhum efeito na atividade dessa enzima.

Aos 21 dias no período quente/úmido, a atividade da IAPC foi maior do que no período frio/seco, aumentando em 30%, independentemente das plantas terem recebido a aplicação ou não do estimulante.

Figura 7 – Atividade da invertase ácida da parede celular da casca nos períodos frio/seco e quente/úmido, aos 7 e 21 dias após a aplicação do estimulante Ethrel[®] (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas com apóstrofe compararam as árvores SE e CE em cada período e DAA, letras maiúsculas compararam os períodos (frio/seco e quente/úmido) em cada tratamento e DAA e letras minúsculas com apóstrofe compararam os DAA em cada tratamento e período.



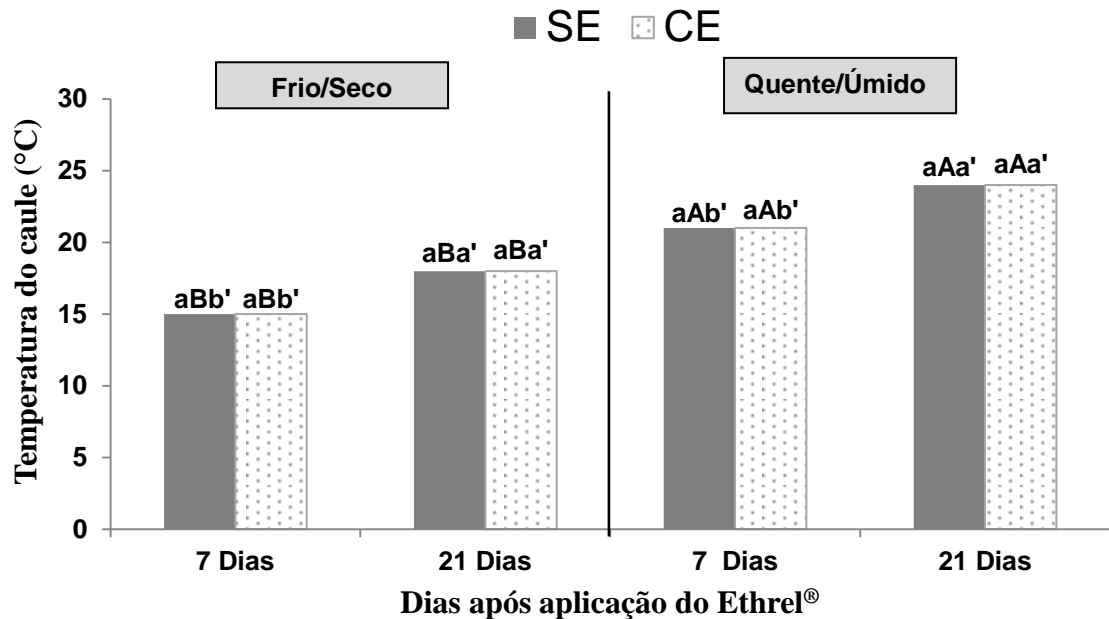
Os resultados da atividade da IAPC obtidos neste estudo diferem daqueles encontrados por Domiciano (2015), visto que seus dados mostraram diferença significativa entre os tratamentos após 7 dias da aplicação do Ethrel[®].

Estudos que avaliaram a atividade das diferentes isoformas da invertase no clone RRIM 600 da seringueira apresentaram maiores atividades nas isoformas ácidas, tanto no método *in vivo* como *in vitro*, (CAIRO et al., 2009). Porém, o mesmo autor verificou que o método *in vivo* favorece a ação da atividade ácida da parede celular, pois se acredita que essa seja a via preferencial de hidrólise de sacarose nos tecidos da casca em seringueira.

4.5 Temperatura e Respiração de Caule

A temperatura de caule não sofreu efeito do estimulante Ethrel[®] (Figura 8). Isso mostra que todas as árvores estavam com a mesma temperatura no momento das avaliações aos 7 e 21 DAA e em cada período. Observa-se que a temperatura de caule mais baixa se encontra no período frio/seco, com uma diferença de 6°C aos 7 dias e aos 21 dias, quando comparada ao período quente/úmido.

Figura 8 – Temperatura do caule (°C) nos períodos frio/seco e quente/úmido, aos 7 e 21 dias após aplicação do estimulante Ethrel® (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas com apóstrofe compararam as árvores SE e CE em cada período e DAA, letras maiúsculas compararam os períodos (frio/seco e quente/úmido) em cada tratamento e DAA e letras minúsculas com apóstrofe compararam os DAA em cada tratamento e período.

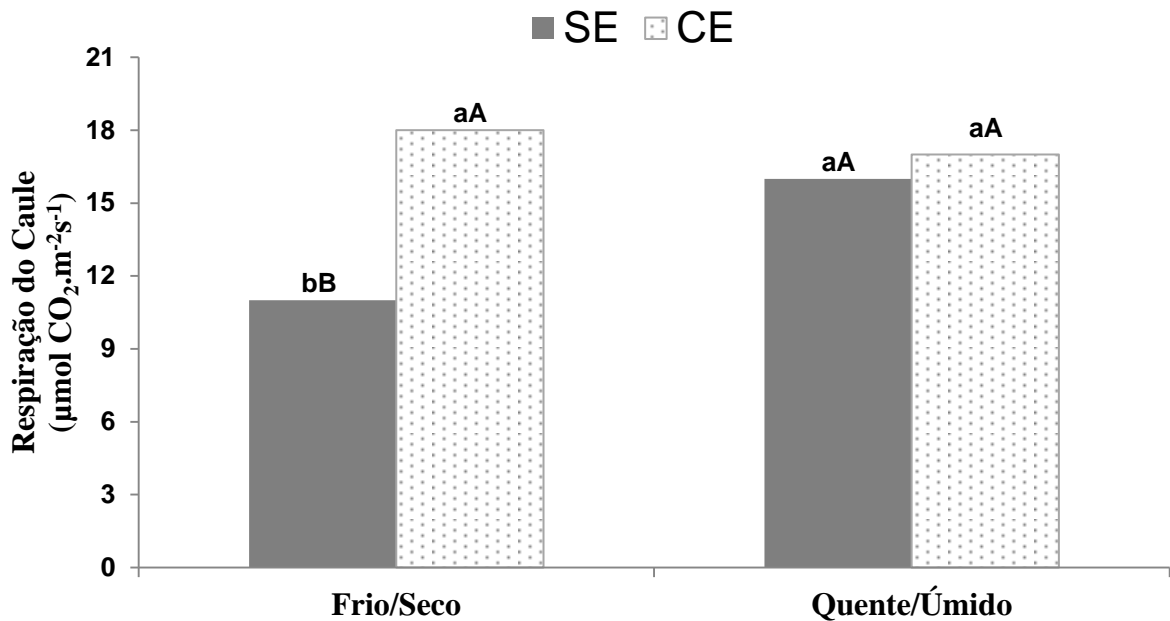


Os dados de temperatura do caule obtidos neste trabalho são fortemente influenciados pela temperatura mínima, que geralmente é registrada no período noturno, pois essas leituras foram realizadas entre 8 e 9 horas, sendo menores no período frio/seco e maiores no período quente/úmido (FIGURA 2B).

Dentro de cada período experimental, houve diferença entre os dias após a aplicação do Ethrel®. Tanto no período frio/seco quanto quente/úmido, essa temperatura aumentou em 3°C aos 21 dias, quando comparado aos 7 dias.

Na respiração de caule verificou-se aumento significativo nas árvores que receberam Ethrel® apenas no período frio/seco (FIGURA 9). Nesse período, as plantas que receberam aplicação do estimulante tiveram um aumento na respiração de caule em 38% em relação às que não foram estimuladas.

Figura 9 – Respiração do caule ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) nos períodos frio/seco e quente/úmido, com aplicação do estimulante Ethrel[®] (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P<0,05$). Letras minúsculas comparam as árvores SE e CE em cada período e letras maiúsculas comparam os períodos (frio/seco e quente/úmido) em cada tratamento.



Tecidos estressados ou danificados respondem por meio da biossíntese de etileno e aumentos na taxa respiratória, como forma de manter o seu metabolismo e/ou ativar vias para produção de metabolitos cicatrizantes (SALTVEIT, 2003). Esse fato pode explicar o aumento da respiração das plantas CE no período frio/seco. Baixas temperaturas e restrição hídrica associada com o corte da casca no painel de sangria são fatores de estresse e de dano ao tecido da seringueira. Isso leva ao aumento da síntese de etileno endógeno, que associado à aplicação exógena desse hormônio, pode ter possibilitado o aumento da respiração do caule.

Não deve ser considerada que a liberação de CO_2 ocorre somente pelo processo respiratório, mas também ocorre por outros processos, especialmente pela via das pentoses fosfato. Isso pode também estar relacionado com esse aumento da respiração que foi observado nas plantas CE no período frio/seco, uma vez que a respiração é quantificada em $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ liberados. Essa via alternativa de oxidação da glicose é aumentada quando as plantas estão em condições de estresse, como no caso das plantas desse estudo nesse período caracterizado por baixas temperaturas e disponibilidade de água no solo. Em estudos com plantas de soja, foi verificado aumento na rota das pentoses fosfato nas plantas submetidas em

baixas temperaturas (VAN HEERDEN et al., 2003). Porém, a ação do estimulante Ethrel® na via das pentoses fosfato ainda é desconhecida, estudos mais específicos sobre isso são necessários.

Verificou-se que no período frio/seco não houve diferença significativa entre as plantas SE e CE na produção de borracha seca, ou seja, o aumento na respiração do caule pode estar mais relacionado com uma homeostase metabólica, assim como para a produção de metabolitos para a regeneração da casca.

Existe uma relação direta da respiração com a temperatura ambiente, mesmo que as condições de temperatura possam diferir das condições de temperatura no microclima do sub-bosque do seringal (DAMESIN et al., 2002). As folhagens causam sombreamento próximo ao solo, podendo ocorrer registros de temperaturas menores do microclima próximo ao caule, mais que a temperatura ambiente.

Neste trabalho, verificou-se que a respiração foi maior no período quente/úmido em 31% apenas nas plantas que não receberam o estimulante. De fato, isso pode estar relacionado com as maiores temperaturas do caule, que ocorreram no período quente/úmido.

Existem poucos estudos sobre respiração de caule em seringueira em função da sazonalidade associada ao uso do Ethrel®. Por isso, pesquisas com mais detalhes são necessárias.

4.6 Estado nutricional das plantas

O resultado da análise de solo onde se encontra o seringal deste experimento encontra-se na Tabela 4.

Segundo a Interpretação dos Resultados de Análise de Solos, o pH encontrado nesse solo, pela classificação agrônômica, foi bom. O teor de matéria orgânica encontra-se baixo, entre os limites de 0,71 a 2,00 dag/kg (ALVARES et al., 1999).

Os níveis de cálcio e magnésio do solo estudado são considerados baixos e a acidez trocável classificada como muito baixa. Os níveis de fósforo e potássio estão classificados como muito baixos e médios, com valores de 0,49 e 42,20 mg/dm³, respectivamente. Os níveis de enxofre encontram-se bom (ALVARES et al., 1999).

Para os micronutrientes Zn, Mn e B foram considerados, médio, bom e muito baixo, respectivamente. Para Fe e Cu, esses se encontram classificados como alto.

Tabela 4: Análise da fertilidade do solo onde se encontra implantado o seringal deste trabalho

Amostra	pH	K	P	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	t	T
Solo	5,4	mg/dm ³		cmol/dm ³				cmolc/dm ³		
		42,20	0,49	1,10	0,40	0,20	2,22	1,61	1,81	3,83

Amostra	V	m	M.O.	P-Rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
Solo	%		dag/Kg	mg/L	mg/dm ³					
	41,99	11,05	1,46	23,89	1,14	63,45	9,21	2,73	0,06	10,79

Na Tabela 5, encontram-se as faixas de teores de macro e micronutrientes, estabelecidos por alguns autores para folhas maduras de seringueira, e os teores foliares encontrados nas plantas SE e CE.

Tabela 5 – Composição mineral de folhas completamente expandidas das plantas de seringueira que não receberam (SE) e que receberam (CE) Ethrel[®] e valores minerais de referência em seringueira adulta

Nutrientes Minerais	Cantarutti et al. (2007)	Garcia et al. (1999)	SE	CE
Macronutrientes (g/kg)				
Nitrogênio	26-35	30-35	31a	29a
Fósforo	1,6-2,3	2,0-2,5	2,1a	2,5a
Potássio	10-14	12-15	9,2a	9,5a
Cálcio	10-14	12-15	22a	23a
Magnésio	1,7-2,5	2,4-4,0	3,6a	3,9a
Enxofre	1,8-2,6	1,4-2,6	2,6a	2,8a
Micronutrientes (mg/kg)				
Boro	20-70	20-70	40a	43a
Cobre	10-15	10-30	12a	11a
Manganês	15-40	40-200	269a	264a
Zinco	20-30	25-50	35a	36a
Ferro	70-90	66-200	524a	463a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Pode-se observar que não houve diferença significativa entre as árvores SE e CE. O teor de macronutrientes encontrados se enquadra dentro da faixa considerada por Cantarutti et al. (2007) e Garcia et al (1999), com exceção do cálcio e magnésio, que tiveram maiores teores, mesmo o solo apresentando baixos níveis desses dois nutrientes. Isso pode ser justificado devido à seringueira ser bastante exigente em cálcio, além de NPK, e o magnésio ser importante para a produtividade, por fazer parte estrutural de clorofilas e cofator de enzimas fosforilativas (MARSCHENER, 2002)

Os micronutrientes estão de acordo com as faixas consideradas pelos mesmos autores, com exceção do manganês e do ferro. O acúmulo de ferro nas folhas foi causado pela sua maior disponibilidade no solo, pois pela análise de solo sua classificação encontra-se alta (ALVARES et al., 1999), levando assim uma maior absorção pela planta. Apesar disso, as plantas não apresentaram sintomas de toxicidade, mesmo com teores de ferro sendo o dobro do que os valores de referência. As fontes primárias de nutrientes nos tecidos foliares são oriundas da oferta do solo e da retranslocação de tecidos senescentes pelo floema (PIATEK; ALLEN, 2000).

Segundo Bataglia e Cardoso (1990), o conhecimento do estado nutricional da seringueira constitui um subsídio para avaliar respostas de fatores limitantes à produtividade.

Diante disso, o estado nutricional das plantas de seringueira estudadas neste trabalho apresenta-se favorável, mesmo que alguns nutrientes encontrem-se fora dos limites previstos na literatura para seringueira, uma vez que as plantas não apresentaram sintomas de toxicidade.

4.7 Remobilização de nutrientes minerais e biomoléculas das folhas

As análises de remobilização foram feitas pela comparação da presença de compostos minerais e orgânicos em folhas não senescente (NS) e senescente (S).

Na Tabela 6, estão os teores dos macro e micronutrientes encontrados nos dois estádios das folhas.

Tabela 6 – Teor de macro e micronutrientes das folhas não senescentes (NS) e senescentes (S) das plantas SE e a porcentagem de remobilização

Nutrientes Minerais	Folha não senescente	Folha senescente	Quantidade Remobilizada	Remobilização (%)
Macronutrientes (g/kg)				
Nitrogênio	31a	17b	14	45
Fósforo	2,1 a	1,3b	0,8	38
Potássio	9,2 a	6,5b	2,7	29
Cálcio	22 b	37a	-15	0
Magnésio	3,6 a	5,3 a	-1,7	0
Enxofre	2,6a	2,3 a	0,3	11
Micronutrientes mg/kg				
Boro	40a	52 a	-12	0
Cobre	12a	11 a	1	8
Manganês	270b	422 a	-152	0
Zinco	35a	49 a	-14	0
Ferro	524 a	477 a	47	8

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Verificou-se que houve uma mobilização dos nutrientes: nitrogênio, fosforo e potássio, durante a senescência foliar para outros órgãos da planta. As porcentagens de remobilização desses nutrientes, para outros órgãos das plantas, foram de 45%, 38% e 29%, respectivamente. Além desses, o enxofre teve uma pequena taxa de mobilização, sendo de 11%.

Em estudos de remobilização de macro e micronutrientes, em diferentes estádios fenológicos das folhas de árvores de pinhão manso, os resultados obtidos seguiram o mesmo comportamento deste trabalho, em que todos esses macronutrientes diminuíram nas folhas mais velhas (LIMA et al., 2011). Sabe-se que o nitrogênio, fósforo e potássio apresentam alta mobilidade no floema (MARSCHANER, 2002; WHITE, 2012). Devido a isso, encontraram-se baixas concentrações desses minerais nas folhas senescentes. Apesar de o enxofre apresentar baixa mobilidade, esse mesmo autor também encontrou redução nas folhas mais velhas, assim como observado nas folhas de seringueira deste estudo.

Os resultados mostram que o cálcio não foi remobilizado durante a senescência foliar, pois apresentou um aumento de 68% e 47%, respectivamente, nas folhas senescentes.

De um modo geral, os micronutrientes não foram remobilizados (boro, manganês e zinco), ou pouco mobilizados (cobre e ferro) durante a senescência foliar. O manganês foi o que apresentou maiores teores nas folhas senescentes, com um aumento de 56%.

Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos encontrados por Lima et al. (2011), que observaram teores mais elevados de magnésio, assim como de cálcio, nas folhas mais velhas das árvores de pinhão manso, mesmo o magnésio sendo considerado móvel. Segundo Malavolta (2006) é comum encontrar maiores teores de magnésio em folhas senescentes do que em folhas mais jovens.

O cálcio apresenta baixa mobilidade no floema das plantas, por isso acumula-se nas folhas, sem ser redistribuído para outras partes da planta (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Segundo Marschane (2002), a elevação nos teores de cálcio em folhas senescentes pode ser justificada por um aumento na produção de material estrutural, como os pectatos, na massa seca e de compostos de reserva.

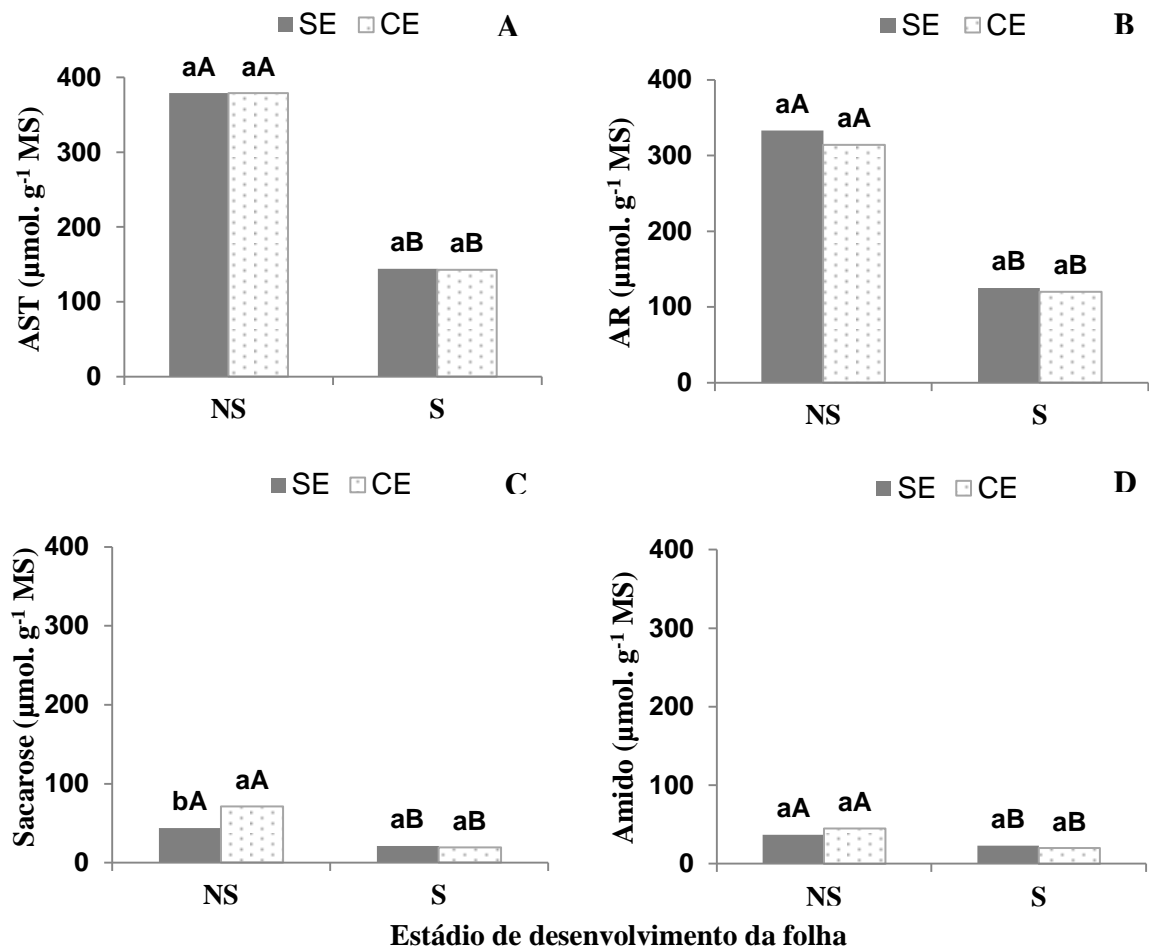
A remobilização de nutrientes é frequentemente associada com a senescência foliar, fazendo com que os nutrientes sejam disponíveis para outros órgãos em crescimento ou de reserva da planta, contribuindo assim para a eficiência de utilização de nutrientes (AVICE; ETIENNE, 2014; FISCHER, 2007)

A maioria dos micronutrientes, com exceção do manganês, apresenta baixa mobilidade no floema (WHITE, 2012). Esse fato explica os resultados obtidos neste trabalho para os micronutrientes, não havendo redistribuição deles para os outros órgãos da planta, com exceção do cobre e do ferro, que houve uma pequena quantidade translocada das folhas senescentes.

Em estudos realizados por Lima et al. (2011), foi observado um incremento de manganês nas folhas mais velhas. Esse resultado corrobora com os obtidos neste estudo, em que o manganês aumentou nas folhas senescentes das árvores de seringueira.

Não houve efeito da aplicação com Ethrel[®] nos níveis de AST, AR e amido nos estádios foliares (FIGURA 10 A, B e D, respectivamente), com exceção da sacarose que foi maior nas folhas NS das plantas estimuladas com Ethrel[®] (FIGURA 10 C), sendo esse aumento de 39%.

Figura 10 – Teor de açúcares solúveis totais (AST) (A), açúcares redutores (AR) (B), sacarose (C) e amido (D) nas folhas não senescentes (NS) e senescentes (S), das árvores tratadas com o estimulante Ethrel[®] (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam as árvores SE e CE em cada estágio da folha e letras maiúsculas comparam os estádios da folha (NS e S) em cada tratamento.



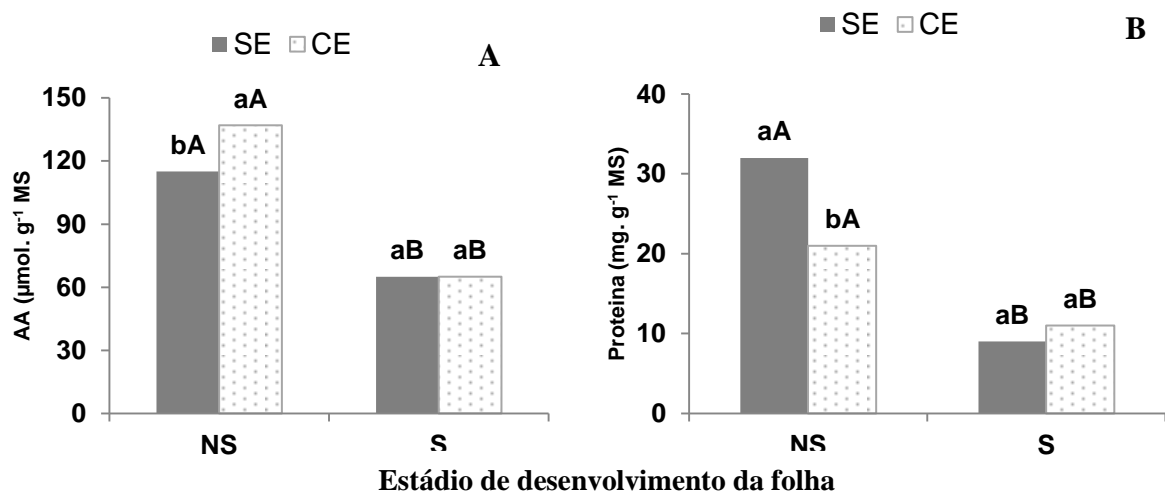
Essa diferença encontrada nos teores de sacarose pode estar relacionada com um aumento da força dreno que é provocado pela aplicação do estimulante, juntamente com o corte da casca no painel de sangria, conforme já discutido.

Todos os carboidratos tiveram uma redução nas folhas senescentes, com taxas de remobilização de 62% para os AST e AR, de 47% para o amido e de 52% e 73% para a sacarose nas plantas SE e CE, respectivamente.

As árvores que apresentam comportamento caducifólio, nos períodos de baixas temperaturas e de restrição hídrica, perdem suas folhas. Porém antes disso, a redistribuição (mobilização ou remobilização) de nutrientes e moléculas para outros órgãos da planta é essencial (CAMARGOS; MURAOKA, 2007), pois serão importantes na fase de refohamento da planta.

Os teores de aminoácidos e proteínas encontrados na análise das folhas NS e S estão apresentados na Figura 11 A e B.

Figura 11 – Teor de aminoácidos (AA) (A) e proteínas (B) nas folhas não senescentes (NS) e senescentes (S), das árvores tratadas com o estimulante Ethrel® (CE) e sem o estimulante (SE). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$). Letras minúsculas comparam as árvores SE e CE em cada estágio da folha e letras maiúsculas comparam os estádios da folha (NS e S) em cada tratamento.



Pode-se observar que o teor de aminoácidos variou significativamente apenas entre as plantas SE e CE nas folhas NS, obtendo um aumento de 16% nas árvores que foram estimuladas com Ethrel®. Com relação às proteínas, houve redução de 34% nas plantas CE das folhas NS, quando comparada com as plantas SE.

Tanto para teores de aminoácidos, quanto para os teores de proteínas, houve uma redução das folhas NS para as folhas S, indicando que ocorreu mobilização dessas moléculas orgânicas. A taxa de mobilização dos aminoácidos foi em média 48%, enquanto que para as proteínas foi de 70% nas árvores SE e de 48% nas árvores CE.

As proteínas presentes nas folhas, principalmente as fotossintéticas e da respiração, são extensivamente degradadas durante a senescência (MATÍNEZ et al., 2008), sendo isso uma das principais funções da senescência foliar, a remobilização de nutrientes para outros órgãos da planta, especialmente de nitrogênio, assim como a reciclagem deles no solo. Isso está de acordo com os dados observados neste estudo, pois tanto a redução de proteínas, como de aminoácidos nas folhas senescentes, acompanham o decréscimo de nitrogênio nesse estágio da folha.

A literatura sobre a remobilização de compostos minerais e orgânicos das folhas senescentes em plantas caducifólias como a seringueira ainda é muito escassa, principalmente com o uso do estimulante do Ethrel[®] no painel de sangria dessa cultura. Devido a isso, estudos mais detalhados devem ser realizados para o melhor entendimento dos mecanismos desse processo.

5 CONCLUSÕES

Os resultados permitiram concluir que a variação sazonal associada ao uso do estimulante Ethrel[®] provocam mudança na atividades enzimática das diferentes isoformas da invertase, no clone RRIM 600 de seringueiras cultivado em Nepomuceno, sul de MG. A atividade dessas enzimas foi mais elevada nas plantas que receberam Ethrel[®] no período quente/úmido e, conseqüentemente, a produção de borracha do clone RRIM 600 foi maior nessas plantas nesse período.

O estimulante exerceu um aumento na respiração do caule nas plantas que receberam Ethrel[®] no período frio/seco.

As plantas apresentaram estado nutricional favorável. Os nutrientes minerais N, P, K, S, Cu e Fe foram remobilizados das folhas para outros órgãos das plantas, assim como todos os carboidratos, aminoácidos e proteínas solúveis avaliados. Os nutrientes Ca, Mg, B, Mn e Zn não foram remobilizados.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, A.P. et al. Determinação do carbono orgânico na biomassa da seringueira em solos de Minas Gerais. Pirassununga: **Borracha natural**, 2003. Disponível em <http://www.borrachanatural.agr.br/artigos/pdf/CBCS20032.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2017.
- ALEM, H. M. et al. Avaliação de clones de seringueira para a região noroeste do Estado de São Paulo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n.5, p. 430-437, set-out, 2015
- ALVAREZ, V. H. et al. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 25-32.
- AVICE, J.-C.; ETIENNE P. (2014). Leaf senescence and nitrogen remobilization efficiency in oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Journal of Experimental Botany**. v. 65, p. 3813–3824. AVIGAD, G. Sucrose and other disaccharides. In: LOEWUS, F. A.; TANNER, W. *Plant Carbohydrates I*. Heidelberg: Springer, v.13, p. 217-347, 1982.
- AVIGAD, G. Sucrose and other disaccharides. In: LOEWUS, T. A.; TANNER, W., eds. **Encyclopedia of Plant Physiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1982
- BATAGLIA, O. C.; CARDOSO, M.; CARRETERO, M. V. Situação nutricional de seringais produtivos no Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 47, n. 1, p. 109-123, 1988.
- BATAGLIA, O.; CARDOSO, M. Situação nutricional dos seringais de São Paulo. In: SIMPOSIO DA CULTURA DA SERINGUEIRA, 2., 1987, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1990. p. 88-97.
- BOATMAN, S. G. Preliminary physiological studies on the promotion of latex flow by plant growth regulators. **Journal of the Rubber Research Institute of Malaya**, Kuala Lumpur, v. 19, n. 5, p. 243-258, 1966.
- BONATO, C. M. et al. **Nutrição mineral de plantas**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1998. 60 p.
- BOUTEAU, F.; DELLIS, O.; RONA, J.P. Transient outward K⁺ currents across the plasma membrane of laticifer from *Hevea brasiliensis*. **FEBS Letters**, v. 458, p.185–187, 1999.
- BOUTTEAU, F., U. et al. Sucrose/H⁺ and glucose/H⁺ symports at the plasma membrane of laticiferous cells and protoplasts of *Hevea brasiliensis*. **Indian Journal Natural Rubber Research**, v. 5, p. 25–37, 1992.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method of microgram quantitie of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. **Crop Science**, v.7, p. 248-254, 1976.
- CAMARGOS, S. L.; MUROKA, T. Teores, acúmulo e redistribuição de macronutrientes em castanheira-do-brasil. **Revista Agricultura Tropical**, v.10, p.72-83, 2007

- CAMARGO, C. A. S. de. et al. Avaliação do estado nutricional de seringais implantados na região da Zona da Mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n. 10, 0. 1437-1444, 2007.
- CAMARGO, A. P.; MARIN, F. R.; CAMARGO, M. B. P. **Zoneamento climático da Heveicultura no Brasil**. Embrapa Monitoramento por Satélite, Campinas, p. 19, 2003.
- CAIRO, P. A. R. et al. Atividade da rubisco e das enzimas de síntese de hidrólise de sacarose, associada à produtividade de látex, em clones de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd ex. ADR. de Juss.) Muell-Arg] cultivados em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p.369-376, 2009.
- CAIRO, P. A. R. et al. Sasonal Variation in the enzymatic activity of the source-sink system of rubber plants in a clonal garden. **Journal of Rubber Research**, Vitória da Conquista, v. 18, n.3, p. 139-147, 2015.
- CANTARUTTI, R.B. et al. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: NOVAES, R. F. et. al. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. P. 769-850.
- CARMO, C. A. F. S. de. do et al. Avaliação do estado nutricional de seringais implantados na região da zona da mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1437-1444, 2002.
- CASTRO, P. R. C.; VIRGENS, A. C. **Fisiologia da seringueira**. In: Simpósiosobre a cultura da seringueira no Estado de São Paulo. Piracicaba. Anais. Campinas, SP: Fundação Cargill, 333p, 1986.
- CAVALCANTE, J. R.; CONFORTO, E. C. Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 701-708, 2006.
- CECÍLIO, R. A. et al. Zoneamento agroclimático para a heveicultura na parte leste do Estado da Bahia. **Revista Bahia Agrícola**, Eunapolis, v.7, n.1, p.14-17, 2006.
- CHOW, K. S. et al. Insights into rubber biosynthesis from transcriptome analysis of *Hevea brasiliensis* latex. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 10, p. 2429-2440, 2007.
- CHOW, K. S. et al. Metabolic routes affecting rubber biosynthesis in *Hevea brasiliensis* latex. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63 p. 1863–1871, 2012.
- CHRESTIN, H. et al. Role of the luteoidic tonoplast in the control of the cytosolic homeostasis within the laticiferous cells of *Hevea*. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, Amsterdam, v. 114, n. 3, p. 269-277, 1984.
- COELHO JÚNIOR, L.M. et al. **Análise temporal da borracha natural brasileira**. Cerne, v.15, n.1, p.19-26, 2009.
- COMISSÃO EXECUTIVA DA LAVOURA CACAUEIRA (CEPLAC). Bahia busca a autossuficiência na produção de borracha natural.

Disponível em: <www.ceplac.gov.br/restrito/lernoticias.asp?id=1806> Acesso em: 23 fev. de 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Conjuntura Mensal de Borracha Natural**, 2014. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_07_16_13_52_53_borrachajunho2014.pdf. Acesso em janeiro de 2017.

CONDURÚ NETO, J. M. H. **Fatores limitantes e parâmetros fisiológicos da produção da seringueira**. Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 1986. 20 p.

COSTA, L. C. et al. Mudanças climáticas e seus impactos na cultura da seringueira em Minas Gerais. In: ALVARENGA, Antonio de Padua; CARMO, Ciriaca Arcangela Ferreira Santana do Carmo. (Org.). **Seringueira**. Viçosa: EPAMIG, p. 53-81, 2008a.

COSTA, R. B. et al. Variabilidade genética e seleção para caracteres de crescimento da seringueira. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 299-305, 2008b.

COUPÉ, M.; CHRESTIN, H. Physico-chemical and biochemical mechanisms of hormonal (ethylene) stimulation. In: D'AUZAC, J.; JACOB, JL; CHRESTIN, L. (Eds.). **Physiology of Rubber Tree Latex: the laticiferous cell and latex-a model of cytoplasm**. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 295–319, 1989.

DAMESIN, C. et al. Stem and branch respiration of beech: from tree measurements to estimations at the stand level. **New Phytologist**, Lancaster, v.153, pag. 159-172, 2002.

DEVAKUMAR, A. S. et al. Studies on soil-plant-atmosphere system in *Hevea*: II. Seasonal effects on water relations and yield. **Indian Journal of Natural Rubber Research**, Keerala, v. 1, n. 1, p. 45-60, 1988.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (Ed.). **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 477-520.

DOMICIANO, D. **Efeitos do ethrel® sobre a produção e atividade das invertases em seringueira, clone RRIM 600, cultivadas em Nepomuceno – MG**. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, p. 77, 2015.

DUSOTOIT-COUCAUD, A. H. et al. Ethylene stimulation of latex yield depends on the expression of a sucrose transporter (*HbSUT1B*) in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Tree Physiology**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 1586-1598, 2010.

EPSTEIN, E; Bloom, A. Nutrição mineral de plantas. 2.ed. Londrina: Planta, v.1, 2006. 416p.

ESAÚ, K. **Plant anatomy**. New York: J. Wiley, 1953.735 p.

FAHRENDORF, T.; BECK, E. Cytosolic and cell-wall-bound acid invertases from leaves of *Urtica dioica* L.: a comparison. **Planta**, Heidelberg, v. 180, n. 2, p. 237-244, 1990.

FAY, E.; JACOB, J. L. Anatomical organization of the lactiferous system in the bark. In: AUZAC, J. d' et al. (Ed.). **Physiology of rubber tree latex**. Boca Raton: CRC, p. 2-14, 1988.

FERREIRA, D. F. **SISVAR** Sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, Lavras, 2002.

FISCHER, A. M. "Nutrient remobilization during leaf senescence," in **Annual Plant Reviews**, v. 26, Senescence Processes in Plants, ed S. Gan (Oxford: Blackwell Publishing Ltd.), p. 87–107, 2007.

GAMEIRO, A. H.; GAMEIRO, M. B. P. Perspectivas para o mercado internacional de borracha natural. In: ALVARENGA, Antônio de Pádua; CARMO, Ciriáca Arcângela Ferreira Santana do. (Org.). **Seringueira**. Viçosa: EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), p. 855-878, 2008.

GARCIA, N.C. P. et al. **Seringueira**. IN: COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5^a aproximação. Viçosa, MG, 1999. p. 317-322.

GIDROL, X. et al. Early activation by ethylene of the tonoplast H⁺-pumping ATPase in the latex from *Hevea brasiliensis*. **Plant physiology, Rockville**, v. 86, n. 3, p. 899-903, 1988.

GONZÁLEZ, M. C. et al. Circadian and developmental regulation of vacuolar invertase expression in petioles of sugar beet plants. **Planta**, Heidelberg, v. 222, n. 2, p. 386-395, 2005.

GONÇALVES, P. S de. et al. Variabilidade genética da produção anual da seringueira: estimativas de parâmetros genéticos e estudo de interação genótipo x ambiente. **Bragantia**, Campinas, v. 49, n. 2, p. 305-320, 1990.

GONÇALVES, P. S. de.; ORTALANI, A. A.; CARDOSO, M. **Melhoramento genético da seringueira**: uma revisão. Campinas: IAC, p. 55, 1997.

GRACIANO, M. H. P. **Comportamento produtivo, metabólico e anatômico de clones de Seringueira do sul de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG, 2009.

HEGELUND, J. N. et al. Zinc fluxes into developing barley grains: use of stable Zn isotopes to separate root uptake from remobilization in plants with contrasting Zn status. **Plant Soil**, v. 361, p. 241–250, 2012.

HOCKING, P. J.; PATE, J. S. Mobilization of minerals to developing seeds of legumes. **Annals of Botany**, v.41, p. 1259–1278, 1977.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC). **Programa Seringueira**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/seringueira/>>. Acesso em: 17 fev. 2017.

INTERNATIONAL RUBBER STUDY GROUP (IRSG). **Production and consumption of natural rubber**. Rubber industry Report. Statistics [Online]. Disponível em: <http://www.rubberstudy.com> > Acesso em: 17 fev de 2017.

JACOB, J. L. et al. Physiological activators of invertase from *Hevea brasiliensis* latex. **Phytochemistry**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 887-893, 1982.

JETRO, N.N.; SIMON, G.M. Effect of 2-chloroethylphosphonic acid formulations as yield stimulants on *Hevea brasiliensis*. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, p. 523-528, 2007.

- JONNHANES, R. A. T. et al. **Nepomuceno SF.23-V-D-III, escala 1:100.000**: nota explicativa. Belo Horizonte: Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais, 2007. 92 p.
- KEKWICK, R. G. O. The formation of isoprenoids in *Hevea* latex. In: D'AUZAC, J.; JACOB, J.L.; CHRESTIN, L. (Eds.). **Physiology of rubber tree latex**. Boca Raton: CRC Press Inc. p. 145–164, 1989.
- KOCH, K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Current opinion in plant biology**, Cambridge, v. 7, n. 3, p. 235-246, 2004.
- LACOTE, R. et al. Longterm effect of ethylene stimulation on the yield of rubber trees is linked to latex cell biochemistry. **Field Crops Research**, v. 115, p. 94-98, 2010.
- LEE, H. S.; STURM, A. Purification and characterization of neutral and alkaline invertase from carrot. **Plant Physiology**, v. 112, p. 1513-1522, 1996.
- LIEBEREI, R. South American leaf blight of the Rubber Tree (*Hevea* spp.): new steps in plant domestication using physiological features and molecular marks. **Annals of Botany**, Oxford, v.100, n. 6, p.1125-1142, 2007.
- LIMA, D. U. et al. Avaliação sazonal da produção de borracha e da dinâmica de carboidratos solúveis em plantas de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) cultivadas em Lavras, Minas Gerais. **Revista Árvore**, v.36, n. 3, p. 377-383, 2002.
- LIMA, R. L. S. et al. Redistribuição de nutrientes em folhas de pinhão-mansão entre estádios fenológicos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v.15, n.11, p.1175–1179, 2011.
- LOEFI, S. M. et al. Feeding orotate leads to a specific increase in uridine nucleotide levels, resulting in a stimulation of sucrose degradation and starch synthesis in discs of growing potato tubers. **Planta**, Heidelberg, v. 209, n. 1, p. 314-323, 1999.
- MACHADO FILHO, G. C.; SILVA, F. R. Benefícios sociais, econômicos e ambientais dos sistemas agroflorestais (SAFs) em pequenas propriedades rurais. **Inclusão Social**, Brasília, v. 6, n.1, p. 219-225, 2012.
- MAILLARD, A. et al. Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p.317, 2015.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Livroceres, 2006. 638p.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, 2002. 889p.
- MARUTA, T. et al. New insights into the regulation of greening and carbon-nitrogen balance by sugar metabolism through a plastidic invertase. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, p. 1131–1133, 2010.
- MARTÍNEZ, J. P. et al. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **European Journal of Agronomy**, v. 26, p. 30–38, 2007.

MARTINS, M. B. G.; ZIERI, R. Anatomia foliar de clones de seringueira. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 709-713, out./dez. 2003.

MELO et al. Variação sazonal de algumas características nutricionais e bioquímicas relacionadas com a produção de látex em clones de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Wild.) Muell. Arg.], EM LAVRAS-MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1326-1335, nov./dez., 2004.

MESQUITA, A. C.; OLIVEIRA, L. E. M. Características anatômicas da casca e produção de látex em plantas de seringueira não enxertadas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 40, n. 2, p. 241-246, 2010.

MESQUITA, A. C. et al. Comportamento produtivo de clones de seringueira [*Hevea brasiliensis* (WILD. EX. ADR. DE JUSS) MUELL ARG.] em Lavras, MG. **Bragantia**, Campinas, v.65, n. 4, p. 633-639, 2006a.

MESQUITA, A C. et al. Anatomical characteristics and enzymes of the sucrose metabolism and their relationship with latex yield in the rubber tree. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.18, p.1-8. 2006b.

MIGUEL, A. A. et al. Photosynthetic behaviour during the leaf ontogeny of rubber tree clones [*Hevea brasiliensis* (WILD. EX. ADR. DE JUSS) MUELL. - ARG.], in Lavras, MG. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 91-97, 2007.

MILLARD, P.; GRELET G. Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world. **Tree Physiol**, v. 30, p. 1083–1095, 2010.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MORENO, R.M.B. et al. Avaliação do látex e da borracha natural de clones de seringueira no Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.38, n.5, p.583-590, 2003.

NASCIMENTO, M. N. **Enzimas Envolvidas na hidrólise de sacarose em tecidos foliares e de casca e produção de mudas clonais por estaquia em seringueira**. Tese em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Lavras-MG (Doutorado). 83p. 2010.

NJUKENG, J. N. et al. Ethephon stimulation and yield response of some *Hevea* clones in the humid forests of south West Cameroon. **International Journal of Agronomy**, p. 1-5, 2011.

NUGAWELA, A.; ARIYAWANSA, P.; SAMARASEKERA, R.K. Physiological yield determinants of sun and shade leaves of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. **Journal of Rubber Research Institute of Sri Lanka**, v. 76, p. 1-10, 1995.

OLIVEIRA, D. M. Efeitos do ethefon sobre a produção de borracha em plantas de seringueira. In: CONGRESSO DOS PÓS GRADUANDOS, Lavras. **Anais...** Lavras, MG: UFLA, v. 14, p. 1-7, 2005.

OLIVEIRA, L. E. M. et al. Assimilação e transporte de carbono e biossíntese de látex em seringueira. In: ALVARENGA, A. P.; CARMO, C. A. F. S. (Ed.). **Seringueira**. Viçosa, MG: EPAMIG, p. 601-640, 2008.

- PAARDEKOOPEL, E. C.; SOOKMARK, S. Diurnal variations in latex yield and dry matter content and relation to the saturation deficit of the air. **Journal of Rubber Research**, Croydon, v. 21, p. 341-347, 1969.
- PAKANATHAN, S. W. et al. Water relation and látex flow. In: DÁUZAC, J.; JACOB, J. L.; CHRESTIN, H. **Physiology of rubber tree látex**. Boca Raton: CRC, p. 233-256, 1988.
- PIATEK, K. B.; ALLEN, H. L. Site preparation effects on foliar N and P use, retranslocation and transfer to litter in 15-year-old *Pinus taeda*. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 129, n. 2, p. 143-152, 2000.
- PICKARD, W. F. Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. **New Phytologist**, Lancaster, v. 177, n. 4, p. 877-888, 2008.
- PILAU, G.F. et al. Zoneamento agroclimático da heveicultura para as regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Piracicaba, v.15, n.2, p. 161-168, 2007.
- PIRES, J. M.; SECCO, R. S.; GOMES, J. I. **Taxonomia e fitogeografia das seringueiras (*Hevea spp.*)**. Belem: EMBRAPA Amazônia Oriental, p. 103, 2002.
- RIPPEL, M. M.; BRAGANÇA, F. C. Borracha natural e nanocompósitos com argila. **Química nova**, v. 32, p. 818-826, 2009.
- ROITSCH T.; GONZALEZ M. C. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 606–613, 2004.
- ROSSMANN, H.; GAMEIRO, M.B.P.; PEREZ, P. A competitividade da borracha natural no Brasil. In: GAMEIRO, A.H. org. **Competitividade do agronegócio brasileiro: textos selecionados**. Santa Cruz do Rio Pardo, SP: Editora Viena, p. 218-235, 2006.
- RUAN Y. L. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 33–67, 2014.
- SALTVEIT ME. Fresh-cut vegetables. In: BARTZ JA; BRECHT JK (eds). **Post harvest Physiology and Pathology of Vegetables**. New York: Marcel Dekker. p. 691-712, 2003..
- SIMMONDS, N.W. Rubber breeding. In: WEBSTER, C.C.; BAULKWILL, W.J. (Eds.). **Rubber**. London: Longman, cap.3, p. 85-124, 1989.
- SOUZA, G. A. Influência do método de sangria e da adubação na produção e qualidade do látex de seringueira. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, p. 77, 2010.
- STURM, A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. **Plant physiology**, Rockville, v. 121, n. 1, p. 1-8, 1999.
- WELHAM, T. et al. A cytosolic invertase is required for normal growth and cell development in the model legume, *Lotus japonicus*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.60, n. 12, p.3353-3365, 2009.

- TRAORE, M. S. et al. Long-term effect of different annual frequencies of ethylene stimulation on rubber productivity of clone GT1 of *Hevea brasiliensis* (Muell. Arg.) in south east of Cote d'Ivoire. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 2, p. 1251-1260, 2011.
- TUNGNGOEN, K. et al. Involvement of *HbPIP2*; 1 and *HbTIP1*; 1 aquaporins in ethylene stimulation of latex yield through regulation of water exchanges between inner liber and latex cells in *Hevea brasiliensis*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 151, n. 2, p. 843-856, 2009.
- TUPÝ, J. Some aspects of sucrose transport and utilization in latex producing bark of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 34, n. 4, p. 51-64, 1985.
- TUPÝ, J. The regulation of invertase activity in the latex of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.: the effects of growth regulators, bark wounding and latex tapping. **Journal of Experimental Botany**, v. 24, p.516–524, 1973.
- VAN HEERDEN P. D. R. et al. Dark chilling increases glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in soybean leaves. **Physiology Plant**, v. 119, n. 01, p. 221-230, 2003.
- WATERS, B. M. et al. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. **Journal of Experimental of Botany**, v. 60, p. 4263–4274, 2009.
- WEBSTER, C. C.; PAARDEKOOPEER, E.C. The botany of the rubber tree. In: WEBSTER, C. C. & BAULKWILL, W.J., eds. **Rubber**. London: Longman, cap.2, p.57-84, 1989.
- WHITE, P. “Long-distance transport in the xylem and phloem,” in Marschner’s **Mineral Nutrition of Higher Plants** (3rd - Edn.), ed. P. Marschner, Berlin: Elsevier, p. 49–70, 2012
- WINTER H.; HUBER S. C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. **Critical Reviews in Plant Sciences** 35: 253–289, 2000.
- XIANG, L. et al. Exploring the neutral invertase-oxidative stress defence connection in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany** 62: 3849–3862, 2011.
- YEANG, H. Y. et al. A preliminary investigation into the relationship between latex invertase and latex vessel plugging in *Hevea brasiliensis*. **Journal of Rubber Research Institute of Malaysia**, Kuala Lumpur, v. 32, n. 1, p. 50-62, 1984.
- YEMN, E. M.; COCKING, E. C. 1980. Estimation of amino acids by ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, p. 209-213, 1955.
- ZANANDREA, I. et al. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, Elmsford, v. 57, n. 8, p. 661-669, Jan. 2010.
- ZONG DAO, H.; XUEQUIN,Z. Rubber cultivation in China. In: PLANTARES’ CONFERENCE, 1983, Kuala Lumpur. Persidangan Pelandang, 1983. 15 p.

ZHU, J; ZHANG, Z. Ethylene stimulation of latex production in *Hevea brasiliensis*. **Plant signaling & behavior**, Paris, v. 4, n. 11, p. 1072-1074, 2009.