



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**

**OCORRÊNCIA DE DANOS CELULARES E A CAPACIDADE DE DEFESA
ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) SOB DUAS
CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO E APÓS REIDRATAÇÃO**

MARCELLE AUDAY COSTA

**BELÉM
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

**OCORRÊNCIA DE DANOS CELULARES E CAPACIDADE DE DEFESA
ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) SOB DUAS
CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO E APÓS REIDRATAÇÃO**

MARCELLE AUDAY COSTA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de **Mestre**.

Orientador: Prof. Hugo Alves Pinheiro

Co-orientador: Prof. Benedito G. dos Santos Filho

**BELÉM
2009**

Costa, Marcelle Auday

Ocorrência de danos celulares e capacidade de defesa antioxidante em mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) sob duas condições de déficit hídrico e após reidratação/ Marcelle Auday Costa – Belém, 2009.

36 f. il. ; 29,7 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2009.

1. Carotenóides; 2. Danos celulares; 3. Déficit hídrico; 4. Enzimas antioxidantes; 5. Estresse oxidativo; 6. Fisiologia Vegetal; 7. Bioquímica; I. Título

CDD – 542.593



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

**OCORRÊNCIA DE DANOS CELULARES E CAPACIDADE DE DEFESA
ANTIOXIDANTE EM MUDAS DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) SOB DUAS
CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO E APÓS REIDRATAÇÃO**

MARCELLE AUDAY COSTA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de **Mestre**.

Aprovada em 20 de março de 2009

BANCA EXAMINADORA

Eng. Agrônomo, DSc., Prof. Hugo Alves Pinheiro
Presidente/Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Eng. Agrônomo, DSc., Dr. Roberto Lisboa Cunha
1º Examinador
Embrapa – Amazônia Oriental

Eng. Agrônomo, DSc., Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição
2º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Biólogo, DSc., Roberto Cezar Lobo da Costa
3º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

DEDICO

Aos meus pais, Suely e Haroldo,

À minha irmã Vanessa,

À minha irmã Andrezza,

Aos meus amigos, tão importantes em todos os momentos da minha vida.

OFEREÇO

Ao meu amigo (irmão de coração) Alfredo Lourinho "in memoriam", que sempre me apoiou, e me incentivou nos meus estudos. Obrigado por tudo e principalmente pela amizade onde quer que você esteja.

AGRADECIMENTOS

A Deus, infinitamente bom, que o Vosso nome seja bendito pelos benefícios que me concedestes; deles seria indigno se os atribuísse ao acaso dos acontecimentos ou ao meu próprio mérito;

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pela oportunidade de realização deste curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

Aos meus pais, que me deram a oportunidade de estudar e sempre me apoiaram e incentivaram para que eu chegasse até aqui. Obrigado por tudo!

Às minhas irmãs Vanessa e Andrezza pelo amor, amizade, conselhos e pela força. Amo vocês!

Ao Prof. Hugo Alves Pinheiro, pelos conhecimentos, orientação, explicações, amizade, apoio. Obrigado pela sua dedicação;

Ao Prof. Benedito Gomes dos Santos Filho, pelos conselhos, orientação, amizade e apoio;

Ao professor Paulo Santos, pela amizade e carinho;

Ao Sr. Demóstenes de Andrade Silva Filho (Doquinha), pelo apoio, nunca medindo esforços para ajudar na casa de vegetação ou qualquer outra coisa que eu precisasse. Obrigado pela amizade;

Ao seu Carlos (Roxo), uma pessoa maravilhosa que sempre me ajudou muito e contribuiu para que eu chegasse até aqui;

Aos amigos, Elizabeth Shimizu, Roberto Silva, Fabrícia Moraes e Kaliene, pela amizade, carinho, ajuda nos trabalhos de casa de vegetação e laboratório;

Aos estagiários Felipe, Bruno, Raphael, Arles e Diego pela total dedicação na casa de vegetação e principalmente no laboratório para a conclusão desta dissertação;

Ao Jessivaldo Galvão, obrigado pela amizade, esclarecimentos e ajuda na análise do solo;

Às amigas de graduação Cristiane Moraes e Deyse Souza, pela amizade, conselhos e parceria até hoje.

SUMÁRIO

	p.
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE TABELA E FIGURAS.....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Material vegetal e procedimentos de amostragens.....	15
2.2. Potencial hídrico.....	16
2.3. Avaliação de danos celulares.....	16
2.3.1. Extravasamento de eletrólitos.....	16
2.3.2. Peroxidação de lipídios.....	16
2.4. Pigmentos cloroplastídicos.....	17
2.5. Ensaio enzimáticos.....	17
2.6. Glicinabetaína.....	19
2.7. Análises estatísticas.....	19
3. RESULTADOS	
3.1. Potencial hídrico, aldeído malônico e extravasamento de eletrólitos.....	20
3.2. Pigmentos cloroplastídicos.....	21
3.3. Enzimas antioxidantes.....	22
3.4. Glicinabetaína.....	24
4. DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÕES.....	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ABS = absorvância

APX = peroxidase do ascorbato

ATP = adenosina trifosfato

CAT = catalase

CaCO₃ = carbonato de cálcio

EAO = espécies ativas de oxigênio

EDTA = ácido etileno diamino tetracético

GB = glicinabetaína

H₂O₂ = peróxido de hidrogênio

NADP = nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NADPH = nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido

MDA = aldeído malônico

NBT = azul de nitrotetrazólio

O₂⁻ = radical superóxido

PVP = polivinilpirrolidona

SOD = dismutase do superóxido

TFK = tampão fosfato de potássio

Ψ_{am} = potencial hídrico de antemanhã

LISTA DE TABELA E FIGURAS

	p.
Tabela 1. Potencial hídrico foliar na antemanhã (Ψ_{am}), concentração de aldeído malônico (MDA) e extravasamento de eletrólitos em plantas de <i>C. guianensis</i> submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28).....	20
Figura 1. Concentração de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , carotenoids totais e razão clorofila <i>a</i> /carotenoids totais em plantas de <i>C. guianensis</i> submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28). Diferentes letras maiúsculas denotam diferenças estatísticas entre medias do tratamento controle, e diferentes letras minúsculas entre medias do tratamento de déficit hídrico comparadas em diferentes dias de experimento (efeito de tempo) pelo teste de Duncan ($P < 0.05$). Médias das plantas sob déficit hídrico seguidas de um asterisco diferem estatisticamente, no mesmo dia, das plantas controle pelo teste F ($P < 0.05$) (efeito de tratamento). Os valores representam a média de seis repetições \pm EP.....	22
Figura 2. Atividades da dismutase do superóxido (SOD), da peroxidase do ascorbato (APX) e da catalase (CAT) em plantas de <i>C. guianensis</i> submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28). Análises estatísticas foram realizadas como na Figura 1.....	23
Figura 3. Concentração de glicinabetaína em plantas de <i>C. guianensis</i> submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28). Análises estatísticas foram realizadas como na Figura 1.....	24

RESUMO

A ocorrência de danos oxidativos aos lipídios de membrana e pigmentos foliares (clorofila *a* e *b*) e a habilidade das plantas em eliminar espécies ativas de oxigênio através de enzimas antioxidantes (dismutase do superóxido, SOD; peroxidase do ascorbato, APX; e catalase, CAT) foram investigadas em plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) sob duas condições hídricas e à reidratação. O papel protetor dos carotenóides e da glicinebetaina (GB) foram também examinadas. Os efeitos do déficit hídrico foram examinados quando o potencial hídrico foliar na antemanhã (Ψ_{am}) das plantas estressadas foi de -1,35 MPa e -3,21 MPa, o que ocorreu 15 e 27 dias após a suspensão da irrigação. Em seguida, a irrigação foi retomada e as análises bioquímicas repetidas 12 h após (reidratação rápida, dia 28). O déficit hídrico causou um decréscimo de 47% (dia 15) e 19% (dia 27) na concentração de aldeído malônico (MDA); e incrementos de 32% (dia 15) e 48% (dia 27) no extravasamento de eletrólitos. Durante o período experimental ocorreu degradação de clorofila *a* e *b* e de carotenóides totais nas plantas estressadas, resultando em menor razão clorofila *a*/carotenóides nessas plantas. Diferenças não-significativas entre tratamentos foram observadas na atividade da SOD, enquanto o déficit-hídrico causou incrementos de 23% (dia 15) e 111% (dia 27) na atividade da APX e 15% (dia 15) e 50% (dia 27) na atividade da CAT. O déficit hídrico resultou em aumentos de 62% (dia 15) e 112% (dia 27) nos teores endógenos de GB e, nas plantas estressadas GB foi 34% maior no dia 27 que no dia 15. Durante a reidratação, o Ψ_{am} das plantas estressadas aumentou para -0,59 MPa, entretanto, as concentrações de MDA e o extravasamento de eletrólitos permaneceram maiores que nas plantas controle. Nas plantas estressadas os teores de clorofilas não retornaram ao nível das plantas controle e, apesar da atividade da SOD ter sido maior que nessas plantas, tanto a atividade da APX quanto da CAT não diferiram entre tratamentos. Finalmente, a concentração endógena de GB permaneceu maior nas plantas previamente estressadas (22%0 que nas plantas controle. Em conclusão, as plantas de andiroba não evitaram o estresse oxidativo sob condições de seca; porém, danos oxidativos expressivos parecem ter sido atenuados através dos ajustes obtidos nos teores foliares de clorofila *a* e carotenóides totais, bem como por meio da modulação das atividades da APX e CAT mediadas pela GB. Além disso, a rápida reidratação promoveu a recuperação da turgescência foliar mas não atenuou os danos oxidativos aos lipídios.

Palavras chave: Carotenóides, Catalase, Danos celulares, Enzimas antioxidantes, Estresse oxidativo, Peroxidase do ascorbato

ABSTRACT

The occurrence of oxidative damages to membrane lipids and leaf pigments (chlorophyll *a* and *b*) and the ability of plants to cope with reactive oxygen species through antioxidant enzymes (superoxide dismutase, SOD; ascorbate peroxidase, APX; and catalase, CAT) were investigated in young plants of andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) subjected to water deficit and after short-term rewetting. The protective role of carotenoids and glycinebetaine (GB) was also examined. The effects of water deficit were assessed when pre-dawn leaf water potential (Ψ_{pd}) of water-stressed plants reached -1.35 MPa and -3.21 MPa, what occurred 15 and 27 days after withholding irrigation. Thereafter, irrigation was resumed and biochemical assessments were repeated 12 h latter (short-term rewetting, day 28). Water deficit caused 47% (day 15) and 19% (day 27) increases in concentration of malondialdehyde (MDA); and 32% (day 15) and 48% (day 27) increases in electrolyte leakage. Over the experimental period, degradation of chlorophyll (Chl) *a*, Chl *b* and total carotenoids was clearly evidenced in water-stressed plants, resulting in lower Chl *a*/carotenoids ratio in these plants. Non-significant differences between treatments were observed in SOD activity; while water-deficit caused 23% (day 15) and 111% (day 27) increases APX activity, and 15% (day 15) and 50% (day 27) increases in CAT activity. Water deficit resulted in 62% (day 15) and 112% (day 27) increases in endogenous GB, and in water-stressed plants it was 34% higher on day 27 than in day 15. During short-term rewetting, Ψ_{pd} of water-stressed plants increased to -0.59 MPa; nevertheless, concentration of MDA and electrolyte leakage remained higher than in control plants. In water-stressed plants, no replacement of leaf pigments has occurred, and despite SOD activity has been 28% higher in these plants both APX and CAT activities did not differ between treatments. Finally, the concentration of endogenous GB remained higher (22%) in water-stressed plants. In conclusion, andiroba plants did not avoid oxidative damages under drought; however, expressive oxidative damages were attenuated through adjustments in Chl *a* and carotenoids and by GB-mediated modulation of APX and CAT activities. Also, short-term rewetting recovered leaf turgor but did not attenuate oxidative damages to lipids.

Keywords: Antioxidant enzymes, Ascorbate Peroxidase, Carotenoids, Catalase, Cell damages, Oxidative stress

1. INTRODUÇÃO

A andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) é uma árvore da família Meliaceae, que pode atingir mais de 30 m de altura quando adulta. Apresenta sapopemas baixas, tronco reto e cilíndrico e folhas compostas. No Brasil, pode ser encontrada em toda a bacia Amazônica, preferencialmente nas várzeas e áreas alagáveis (FERRAZ et al., 2003), mas também são encontradas em locais bem drenados de terra firme (RAPOSO et al., 2003). É também conhecida como andirova, angirova, carapa e purge-de-santo-inácio, e sua madeira, moderadamente pesada, de cor avermelhada e muito resistente ao ataque de cupins, é comumente empregada na fabricação de móveis, construção civil e na indústria naval.

O óleo extraído de suas sementes é usado principalmente como linimento contra contusões musculares e como anti-inflamatório, além de seu uso na produção de repelentes, principalmente na forma de velas aromáticas, e na indústria de cosméticos (NEVES et al., 2004). Estima-se que o Brasil consome cerca de 30 mil litros de óleo de andiroba por ano e que a exportação anual é, em média, de 450 mil litros de óleo, cujos preços variam entre cinco e sete dólares por quilo. Os principais estados brasileiros produtores de óleo de andiroba ocorrem no contexto da Amazônia Legal Brasileira, com merecido destaque ao Estado do Pará (NEVES et al., 2004).

Em 2006, a Agência Nacional do Petróleo (ANP, Governo Brasileiro) atestou a qualidade do óleo de andiroba para a produção de biodiesel, cuja principal vantagem em relação ao diesel de petróleo é a redução nas emissões de gás carbônico durante a sua combustão, que pode atingir até 68%. Além disso, a combustão de biodiesel não emite óxido de enxofre, que é um poderoso agente causador do efeito estufa (McCORMICK; ALLEMAN, 2006).

Nesse contexto, a dimensão do mercado brasileiro e mundial assegura grande oportunidade de negócios para o setor agrícola voltado à produção de matéria prima para biodiesel e, dessa forma, milhares de famílias brasileiras poderão ser beneficiadas, principalmente pela geração de emprego no campo e renda proveniente do cultivo e comercialização das plantas oleaginosas utilizadas na produção do biodiesel.

Na região Norte do Brasil, em especial no Estado do Pará, a principal matéria prima para produção de biodiesel advém do óleo de dendê e que a exploração do óleo de andiroba para fins energéticos é ainda inviável devido ao alto valor do mesmo quando comercializado junto às indústrias farmacêuticas e de cosméticos. Essa problemática poderá ser contornada com o desenvolvimento de tecnologias de manejo que permitam o cultivo comercial de andiroba em áreas de terra firme, visando aumento da produtividade e redução de custos de produção. Além

disso, por ser uma espécie perene e produtiva por até 40 anos, plantios comerciais de andiroba poderão ser planejados em áreas degradadas, do ponto de vista da recuperação sustentável das mesmas por meio de sistemas agroflorestais.

A utilização da andiroba na recuperação de áreas degradadas poderá ser limitada pelas condições climáticas que acometem regiões como o sul e sudeste do Pará e Amazonas e norte do Tocantins e Mato Grosso. Nessas áreas, é comum a ocorrência de períodos secos bem definidos, em que as taxas de evapotranspiração excedem consideravelmente as taxas de precipitação, limitando a reposição hídrica ao sistema solo-planta, caracterizando períodos de deficiência hídrica evidentes por até cinco meses. Essa condição de seca é agravante principalmente nos primeiros anos de cultivo, visto que o sistema radicular das plantas possivelmente não se encontra desenvolvido suficientemente para explorar a água do solo a partir de horizontes mais profundos do perfil.

Além disso, a análise dos dados climáticos da Amazônia referente aos últimos 100 anos indica um incremento de aproximadamente 0,63°C nas médias mensais de temperatura do ar (VICTORIA et al., 1998), resultando em variações consideráveis nas médias de precipitação (CHAGNON et al., 2004; CHAGNON; BRAS, 2005), principalmente em relação àquelas observadas para o extremo norte e extremo sul da bacia Amazônica (MARENGO et al., 2000). Prevê-se, dessa forma, que as mudanças climáticas locais em razão do desmatamento da Amazônia possam se manifestar em períodos secos mais longos, e talvez, mais severos, tornando-se um problema ao cultivo de espécies agricultáveis em escala comercial. Portanto, o entendimento do comportamento ecofisiológico da andiroba sob condições hídricas limitantes é fundamental para o estabelecimento de técnicas de manejo adequadas ao seu cultivo em escala comercial.

As respostas das plantas à deficiência hídrica têm sido amplamente estudadas em angiospermas e gimnospermas. Comumente, a paralisação do crescimento, em especial da parte aérea, é uma resposta primária à seca (KRAMER; BOYER, 1995). Reduções nas taxas de fotossíntese líquida são também observadas e, sob déficit hídrico moderado, esta geralmente diminui em resposta às limitações estomáticas, que diminuem a concentração de CO₂ nos sítios de carboxilação da Rubisco (LAWLOR, 1995). Sob déficit hídrico mais acentuado, reduções nas taxas fotossintéticas parecem estar mais fortemente associadas às limitações bioquímicas no aparato de fixação de carbono que ao processo de captura e transferência de energia entre os fotossistemas (LAWLOR, 1995; LIMA et al., 2002; PINHEIRO et al., 2004). Dessa forma, o continuado transporte de elétrons gera um excesso de energia na forma de poder redutor (NADPH), o qual deixa de ser consumido adequadamente pela etapa bioquímica da

fotossíntese sob condições de déficit hídrico. Como consequência, a cadeia de transporte de elétrons permanece reduzida por um tempo maior e os elétrons derivados da continuada absorção de energia pelos fotossistemas encontram-se potencialmente livres para reagir com o oxigênio molecular livre no estroma, resultando na produção de espécies ativas de oxigênio (EAO), como o radical superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete e a clorofila tripleto (SCANDALIOS, 1993; NOCTOR; FOYER, 1998; ASADA, 1999; MITTLER, 2002).

Essas EAO são extremamente reativas às proteínas, DNA, RNA, e principalmente aos lipídios de membrana, ocasionando a perda de compartimentalização celular. O efeito negativo da ação exacerbada das EAO recebe o nome de estresse oxidativo e este, em última análise, é um dos responsáveis pela ocorrência de danos fotoinibitórios e fotooxidativos em plantas sob condições de seca (ASADA, 1999; MITTLER, 2002), manifestados na planta sob a forma de cloroses e ou necroses do tecido devido à degradação de clorofilas (KARPINSKI et al., 1999).

Como mecanismos de defesa, sistemas detoxificadores de EAO, enzimáticos e não-enzimáticos, podem ser encontrados em diferentes compartimentos celulares (cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos, dentre outras). Pertencem ao grupo de antioxidantes enzimáticos enzimas como a dismutase do superóxido (SOD, E.C. 1.15.1.1), a qual cataliza a reação de dismutação do radical superóxido em H_2O_2 ; as enzimas do ciclo ascorbato-glutationa, como a peroxidase do ascorbato (APX, E.C. 1.11.1.11), que detoxifica o H_2O_2 produzido pela SOD; e a catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6), cuja função também é a detoxificação de H_2O_2 , formando água e oxigênio (CREISSEN et al., 1994; ASADA, 1999; MITTLER, 2002). Dentre os compostos antioxidantes não enzimáticos pode-se citar o ascorbato (vitamina C), a glutaciona e o tocoferol (vitamina E) e alguns lipídios de membranas, com especial atenção aos carotenóides que agem na dissipação de excedentes de energia na forma de calor através do ciclo das violaxantinas (ASADA, 1999; MITTLER, 2002).

Recentemente, Raza et al. (2007) registraram maiores atividades da SOD, CAT e peroxidase em resposta à aplicação de glicinbetaína (GB) exógena, indicando que a GB modula a atividade das enzimas antioxidantes em cultivares de trigo diferindo com relação à tolerância à seca. Ademais, Raza et al. (2007) inferiram que GB deve exercer um papel protetor às membranas celulares e, portanto, menor peroxidação de lipídios é esperada. Então, possivelmente, a coordenada ativação das enzimas antioxidantes e dos compostos antioxidantes (não-enzimáticos) de detoxificação de EAO é de crucial importância em conferir tolerância à seca.

Considerando-se então a possibilidade de utilização da andiroba em áreas sujeitas a longos períodos de deficiência hídrica, é possível inferir que a mesma poderá estar sujeita à ocorrência de danos celulares decorrentes da produção de EAO, especialmente na fase de mudas. Do exposto, esta pesquisa foi desenvolvida a fim de comparar plantas irrigadas e sob deficiência hídrica a fim de avaliar a magnitude dos danos oxidativos aos lipídios de membrana (peroxidação de lipídios) e aos teores foliares de clorofilas (*a* e *b*). A habilidade das plantas em eliminar EAO através de enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT) e ajustando os teores de carotenóides e GB endógena foram também examinadas. Por fim, a capacidade de rápida recuperação das plantas após a retomada da irrigação foi investigada repetindo-se as análises bioquímicas 12 h após a retomada da irrigação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e procedimentos de amostragens

O experimento foi realizado no Centro de Tecnologia Agropecuária da Universidade Federal Rural da Amazônia, em Belém-PA (01°28'03"S, 48°29'18"W). Mudanças de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) foram selecionadas de acordo com sua uniformidade quanto à altura e diâmetro do caule e quanto ao número de folhas e folíolos transplantadas para vasos de polietileno de 20 L, preenchidos com 16 kg de um latossolo amarelo, textura média, previamente seco ao ar e peneirado para a retirada de impurezas. Após a análise de solo a acidez do mesmo foi corrigida para aproximadamente 6,0 por meio da adição de 5 g de calcário dolomítico por vaso e o teor de macronutrientes foi corrigido pela aplicação de 30 g de nitrogênio:fosfato:potássio (NPK, 10:10:10, p/p/p).

Após o transplante e durante todo o período experimental as mudas foram mantidas em condições de casa de vegetação sob médias diurnas de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em torno de $490 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e umidade relativa (UR) e temperatura do ar (T_{ar}) de, respectivamente, 80% e 28 °C. A RFA foi registrada por meio de um sensor quântico acoplado a um porômetro de equilíbrio dinâmico (mod. Li 1600, LiCor, Nebraska, USA) e UR e T_{ar} foram registradas utilizando-se um termohigrômetro (m5203, Incoterm Ind., Porto Alegre, Brazil) instalado no interior da casa de vegetação. A irrigação foi realizada diariamente a fim de manter o solo próximo à capacidade de campo repondo-se a água evapotranspirada, cuja quantidade foi estimada pela pesagem dos vasos antes do fornecimento hídrico (irrigação). O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente a cada semana.

Quando as plantas apresentaram nove meses de idade, as mesmas foram divididas em dois grupos (tratamentos): (i) plantas permanentemente irrigadas conforme descrito anteriormente (Controle) e (ii) plantas submetidas à suspensão completa da irrigação (Déficit hídrico), no qual o déficit hídrico se desenvolveu naturalmente em função do esgotamento da água remanescente no solo.

Os efeitos do déficit hídrico foram examinados quando o potencial hídrico na antemanhã (Ψ_{am}) das plantas estressadas atingiu -1,35 MPa (15 dias após a diferenciação dos tratamentos) e -3,21 MPa (27 dias após a diferenciação dos tratamentos, Dia 27). Para as avaliações de Ψ_{am} foi utilizado um folíolo do terceiro par de folhas maduras contadas a partir do ápice de seis plantas por tratamento. Para as análises bioquímicas, seis discos foliares (de 0,8 cm² cada) foram coletados de folíolos maduros e saudáveis do segundo ou terceiro par de folhas maduras

contadas a partir do ápice e imediatamente congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises. Para o extravasamento de eletrólitos foram utilizados oito discos foliares coletados como para as análises bioquímicas, porém este ensaio foi realizado imediatamente após a amostragem. À exceção do Ψ_{am} , determinado entre 04:30 to 05:30 h, as amostragens foram realizadas sempre entre 11:00 to 13:00 h. Após a amostragem referente ao dia 27, todas as plantas foram irrigadas as 17:00 h e as análises repetidas na manhã seguinte (dia 28) para examinar a recuperação das plantas após cessar o estresse.

2.2. Potencial hídrico

O potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}) foi determinado entre 4:30 e 5:30 h a partir de folíolos maduros e completamente expandidos que foram selecionados do segundo ou terceiro par de folhas contadas a partir do ápice. Os folíolos foram destacados, armazenados em sacos de polietileno umedecidos e transportados sob gelo até o laboratório para as análises, utilizando-se uma bomba de pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co., Albany, USA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2008).

2.3. Avaliação de danos celulares

2.3.1. Extravasamento de eletrólitos

Discos foliares frescos (oito discos de 1 cm de diâmetro cada) foram lavados e imediatamente incubados em pesa filtro contendo 20 mL de água deionizada por 4 h, à temperatura ambiente (25°C). Após este período, a condutividade elétrica foi determinada utilizando-se um condutivímetro (WA 300, HOMIS, São Paulo, SP) e o extravasamento de eletrólitos expresso como a porcentagem da condutividade elétrica máxima, obtida após a ruptura dos tecidos celulares em estufa a 90°C , por 2h.

2.3.2. Peroxidação de lipídios

Foi determinada estimando-se o teor de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e expresso em equivalentes de aldeído malônico, MDA (CAKMAK; HORST, 1991). A extração foi realizada pela homogeneização de discos foliares (cinco discos de 1 cm de diâmetro cada) em 4 mL de ácido tricloroacético 0,1% (p/v) e o homogenato foi centrifugado a 15.000 g, por 15 min, a 4°C . O sobrenadante foi coletado e a uma alíquota de

500 μL deste foi adicionado 1,5 mL de TBA 0,5% (preparado em ácido tricloroacético 20%). Os tubos foram fortemente agitados e incubados a 90°C , por 20 min. A reação foi paralisada em banho de gelo e a mistura clarificada por centrifugação a 13.000 g, por 8 min a 4°C . Em seguida, a absorvância (*ABS*) da amostra foi registrada a 532 nm em um espectrofotômetro (GenesysTM10series, Thermo Electron Co., Wisconsin, USA) e a *ABS* inespecífica (a 600 nm) descontada.

O coeficiente de extinção molar do MDA ($155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) foi utilizado para os cálculos e os resultados foram expressos em nmol MDA g^{-1} de matéria seca (MS).

2.4. Pigmentos cloroplastídicos

Discos foliares (dois discos de 1 cm de diâmetro cada) foram macerados em 10 mL de acetona 80% em presença de 0,1 g de CaCO_3 e o homogenato resultante foi centrifugado a 500 g, por 15 min, a 4°C . O sobrenadante foi coletado e após a primeira extração o precipitado foi centrifugado por duas vezes, sendo utilizados 5 mL de acetona 80% para dissolver o resíduo em cada uma delas. Após centrifugação (500 g/15 min/ 4°C), os sobrenadantes foram coletados e reunidos ao primeiro, e o volume final do extrato resultante ajustado para 25 mL pela adição de acetona 80%. Todas essas etapas foram realizadas sob banho de gelo e na completa ausência de luz. As *ABS* das amostras foram registradas em espectrofotômetro a 470, 646,8 e 663,2 nm e os teores de clorofilas e carotenóides ($\text{g pigmento kg}^{-1}$ MS) foram obtidos de acordo com Lichthenthaler (1987), pela utilização das equações abaixo:

$$(1) \text{ Clorofila } a = 12,25 \text{ ABS}_{663,2} - 2,79 \text{ ABS}_{646,8}$$

$$(2) \text{ Clorofila } b = 21,50 \text{ ABS}_{646,8} - 5,10 \text{ ABS}_{663,2}$$

$$(3) \text{ Carotenóides totais} = (1000 \text{ ABS}_{470} - 1,82 \text{ clorofila } a - 85,02 \text{ clorofila } b)/198$$

$$(4) \text{ Razão clorofila } a/\text{carotenóides} = \text{Cloro } a \text{ (eq. 1)}/\text{Carotenóides totais (eq. 3)}$$

2.5. Ensaio enzimáticos

A extração da dismutase do superóxido (SOD, E.C. 1.15.1.1) foi realizada a partir de cinco discos foliares (1 cm de diâmetro cada) homogeneizados em 3 mL de 100 mM de tampão

fosfato de potássio (TFK; pH 7,8); 0,1 mM de EDTA; 0,1% (v/v) de 2-Mercaptoetanol; 0,1% (v/v) de Triton X-100; 30 mg de Polivinilpirrolidona (PVP) e 20 mM de ascorbato. Após centrifugação a 15.000 g/15 min/4°C, o sobrenadante foi coletado para as análises posteriores.

A atividade da SOD foi determinada segundo Giannopolitis e Ries (1977). O meio de reação foi constituído de: 52,5 mM de TFK (pH 7,8); 0,1 μ M de EDTA; 13 mM de metionina (pH 7,8); 2 μ M de riboflavina; 0,075 mM de azul de nitrotetrazólio (NBT) e uma alíquota de 10 μ L do extrato enzimático. A produção de formazana azul proveniente da redução do NBT em presença de luz é máxima na ausência da enzima e foi acompanhada em um espectrofotômetro, monitorando-se o incremento na *ABS* a 560 nm. A atividade da SOD está relacionada à capacidade da enzima presente no extrato em inibir a produção de formazana azul. Os resultados foram expressos em unidades de SOD mg^{-1} proteína, considerando-se que 1 unidade de SOD é a quantidade de enzima requerida capaz de reduzir em 50% a produção de formazana azul.

A peroxidase do ascorbato (APX, E.C. 1.11.1.11) foi extraída a partir de cinco discos foliares (1,0 cm de diâmetro cada) para cada 3 mL de TFK 50 mM (pH 7,0); acrescido de 2 mM de EDTA; 0,1% (v/v) de Triton X-100; 0,1% (v/v) de 2-Mercaptoetanol; 20 mM de ascorbato e 30 mg de PVP. Após centrifugação a 15.000 g, por 15 min a 4°C, o sobrenadante foi coletado e uma alíquota de 50 μ L do extrato enzimático foi utilizada na reação. A atividade da APX foi acompanhada pelo decréscimo da *ABS* a 290 nm em um meio de reação constituído de TFK 50 mM (pH 7,0); 0,1 mM de H_2O_2 ; 0,5 mM de ascorbato e 50 μ L do extrato enzimático (NAKANO; ASADA, 1981). Para os cálculos, 1 unidade de APX é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μ mol de ascorbato min^{-1} .

A catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6) foi extraída em TFK 100 mM (pH 7,0); acrescentado de 2 mM de EDTA; 0,1% (v/v) de Triton X-100; 0,1% (V/V) de 2-Mercaptoetanol; 20 mM de ascorbato; 30 mg de PVP. Uma alíquota de 20 μ L do sobrenadante obtido após centrifugação do homogenato a 15.000 g, por 15 min a 4°C, foi utilizada para as reações. O meio de reação (3 mL) continha TFK 50 mM (pH 7,0) e H_2O_2 12,5 mM; e a reação foi iniciada pela adição de 20 μ L de extrato. A atividade da CAT foi determinada pelo monitoramento do decréscimo da *ABS* a 240 nm (HAVIR; McHALE, 1987) e para os cálculos foi considerado que uma unidade de APX é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μ mol de H_2O_2 min^{-1} .

A dosagem de proteínas para os cálculos das atividades enzimáticas da SOD, APX e CAT foi realizada segundo Bradford (1976).

2.6. Glicinabetaina

Foi determinada segundo o método de Grieve e Grattan (1983). As amostras foram maceradas em 2 mL de água destilada sob agitação constante, à temperatura ambiente, por um período de 4 horas, seguindo de centrifugação a 3.500 g por 10 minutos, a 25 °C. O sobrenadante foi coletado e dele retirado uma alíquota de 250 µL para a quantificação de glicinabetaina. Para isso, 250 µL de ácido sulfúrico concentrado foram adicionados a cada amostra, seguindo de incubação em banho de gelo por 1 hora. Após esse tempo, 200 µL de iodeto de potássio (a aproximadamente 8°C) foram adicionados e a mistura incubada por 16 horas a 0°C. As amostras foram centrifugadas a 3.500 g, por 15 minutos a 0°C, e o resíduo coletado. Este foi lavado por duas vezes em 2 mL de ácido sulfúrico 1 N (a aproximadamente 8°C) e após centrifugação a 3.500 g, por 5 minutos a 0 °C, o precipitado foi dissolvido em 3 mL de 1,2-dicloroetano, por meio de agitação vigorosa. Após 2,5 horas de repouso, a ABS das amostras foi obtida a 365 nm e para os cálculos foi utilizada uma curva padrão de glicina - betaína. Os resultados foram expressos em mg glicina – betaína g⁻¹ MS.

2.7. Análises estatísticas

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente ao acaso, com dois tratamentos (Controle e Déficit hídrico) e seis repetições, cada qual consistindo de uma planta por vaso. Após análise de variância, considerando-se o arranjo fatorial 2x3 (dois regimes hídricos: irrigado e déficit hídrico; e três épocas de avaliação: Dias 15, 27 e 28, este último correspondendo a recuperação das plantas após a retomada da irrigação), as médias comparadas pelo teste de Duncan ($P < 0,05$) e/ou teste F ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Potencial hídrico, aldeído malônico e extravasamento de eletrólitos

Sob constante irrigação (plantas controle), alterações não significativas no Ψ_{am} foram observadas, e as médias variaram entre -0,19 MPa (dia 15) e -0,30 MPa (dia 27) (Tabela 1). Após 15 dias da suspensão da irrigação, o Ψ_{am} diminuiu de -0,19 MPa nas plantas controle para -1,35 MPa nas plantas irrigadas, enquanto 27 dias após a suspensão da irrigação o Ψ_{am} diminuiu de -0,30 MPa (controle) para -3,21 MPa (déficit hídrico).

A concentração de MDA sob plena irrigação permaneceu constante durante todo o período experimental. Do contrário, plantas estressadas apresentaram maiores concentrações de MDA no dia 15 (544,5 nmol g⁻¹ MS) que no dia 27 (451,5 nmol g⁻¹ MS) (Tabela 1). Quando os tratamentos foram comparados no mesmo dia experimental, ficou evidente que o déficit hídrico promoveu incrementos significativos nos teores de MDA. Dessa forma, 15 após a suspensão da irrigação, a concentração de MDA foi 47% maior nas plantas estressadas, enquanto um incremento de 19% ocorreu no dia 27 (Tabela 1).

Tabela 1. Potencial hídrico foliar na antemanhã (Ψ_{am}), concentração de aldeído malônico (MDA) e extravasamento de eletrólitos em plantas de *C. guianensis* submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28)

Parâmetros	Tratamentos	Dias após a diferenciação dos tratamentos		
		15	27	28
Ψ_{am} (MPa)	Controle	-0.19 ± 0.05 Ba*	-0.30 ± 0.05 Aa	-0.25 ± 0.01 Aa
	Déficit hídrico	-1.35 ± 0.04 Bb	-3.21 ± 0.20 Ab	-0.59 ± 0.07 Cb
MDA (nmol g ⁻¹ MS)	Controle	371.4 ± 26.4 Aa	379.9 ± 24.9 Aa	379.6 ± 24.5 Aa
	Déficit hídrico	544.6 ± 29.9 Ab	451.5 ± 30.0 Bb	475.0 ± 27.8 Bb
Extravasamento de eletrólitos (%)	Controle	18.43 ± 1.30 Ba	23.9 ± 3.02 Aa	15.46 ± 2.78 Ba
	Déficit hídrico	24.35 ± 4.66 Bb	35.54 ± 2.97 Ab	19.26 ± 4.33 Cb

* Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre médias para cada parâmetro avaliadas dentro de cada tratamento em diferentes dias experimentais (efeito de tempo). Letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas entre médias para cada parâmetro avaliadas no mesmo dia experimental (efeito de tratamento). As comparações entre médias foram realizadas pelo teste de Duncan ($P < 0,05$). Os valores representam a média de seis repetições \pm erro padrão (EP)

O déficit hídrico resultou em decréscimos de 32% (dia 15) e 48% (dia 27) no extravasamento de eletrólitos, indicando a ocorrência de injúrias às membranas celulares. Quando a irrigação foi retomada, o Ψ_{am} das plantas previamente estressadas aumentou de -3,21 MPa (dia 27) para -0,59 MPa (dia 28), indicando uma excelente habilidade das plantas em recuperar sua turgescência. Entretanto, tanto as concentrações de MDA e o extravasamento de eletrólitos permaneceram maiores nas plantas previamente estressadas que nas plantas controle. Nesse caso, a recuperação não foi alcançada durante o período de reidratação testado (Tabela 1).

3.2. Pigmentos cloroplastídicos

As médias de clorofila *a* no dia 15 diferiram significativamente ($P < 0.05$) plantas irrigadas e sob déficit hídrico, enquanto nenhuma diferença significativa foi observada entre tratamentos no dia 27. A concentração de clorofila *b* foi 27% (dia 15) e 33% (dia 27) maior nas plantas estressadas que nas plantas irrigadas, e o déficit hídrico causou aumentos de 36% (dia 15) e 12% (dia 27) no teor de carotenóides totais (Figura 1). Dessa forma, a razão clorofila *a*/carotenóides nas plantas estressadas foi menor que nas plantas irrigadas durante todo o experimento (Figura 1). As médias de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides totais mantiveram-se inalteradas nas plantas irrigadas durante todo o período experimental (efeito de tempo). Entretanto, as médias de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides totais nas plantas sob déficit hídrico foram, respectivamente, 34%, 19% e 42% menores no dia 27 quando comparadas ao dia 15 (Figura 1).

Após a retomada da irrigação as médias de clorofila *a* e clorofila *b* não diferiram entre tratamentos, mas o teor de carotenóides totais permaneceu maior (18%) nas plantas estressadas (ver dia 28, Figura 1). Uma vez que as médias de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides totais foram menores nas plantas irrigadas que nas plantas sob déficit hídrico durante todo o experimento e que as máximas médias de pigmentos foliares foram registradas no dia 15, então as inferências acerca da habilidade das plantas em recuperar suas concentrações de pigmentos foliares durante a recuperação são melhores analisadas comparando-se as concentrações de pigmentos nos dias 28 e 15 que comparando diferentes tratamentos apenas no dia 28. Portanto, as concentrações de clorofila *a* e clorofila *b* nas plantas estressadas no dia 28 foram 46% e 15% menores que no dia 15, sugerindo que não houve recuperação na concentração desses pigmentos durante a reidratação (Figura 1). Apesar da degradação de clorofilas nas plantas estressadas, nenhum sintoma aparente de clorose ou necrose foliar foi percebido.

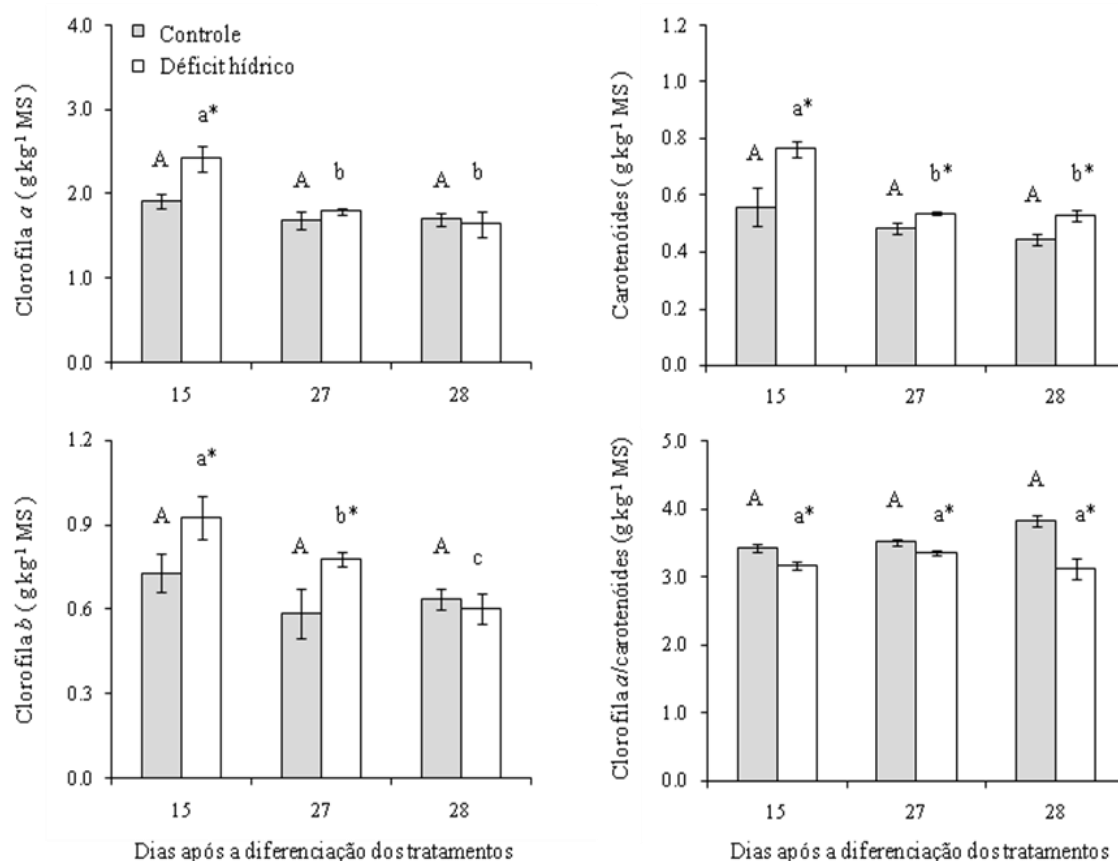


Figura 1. Concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides totais e razão clorofila *a*/carotenóides totais em plantas de *C. guianensis* submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28). Diferentes letras maiúsculas denotam diferenças estatísticas entre médias do tratamento controle, e diferentes letras minúsculas entre médias do tratamento de déficit hídrico comparadas em diferentes dias de experimento (efeito de tempo) pelo teste de Duncan ($P < 0.05$). Médias das plantas sob déficit hídrico seguidas de um asterisco diferem estatisticamente, no mesmo dia, das plantas controle pelo teste F ($P < 0.05$) (efeito de tratamento). Os valores representam a média de seis repetições \pm EP.

3.3. Enzimas antioxidantes

As atividades da SOD não diferiram ($P < 0.05$) tanto no mesmo tratamento comparado em diferentes dias experimentais (dia 15 vs. dia 28) ou entre diferentes tratamentos (controle vs. déficit hídrico) comparados no mesmo dia experimental (Figura 2). Nenhuma alteração significativa nas médias de APX e CAT foi encontrada nas plantas irrigadas em dias diferentes (dias 15 e 27); porém, nas plantas sob déficit hídrico, as atividades da APX e CAT no dia 27 foram 41% e 21% maiores em relação ao dia 15 (Figura 2). Os efeitos do déficit hídrico nas atividades da APX e CAT foram evidentes comparando-se os tratamentos no mesmo dia

experimental. Assim, o déficit hídrico resultou em aumentos de 23% (dia 15) e 111% (dia 27) na atividade da APX e de 15% (dia 15) e 50% (dia 27) na atividade da CAT (Figura 2). Durante a reidratação, a atividade da SOD foi significativamente maior (28%, $P < 0.05$) nas plantas previamente estressadas que nas plantas controle, enquanto nenhuma diferença significativa nas médias da APX e CAT foi observada entre tratamentos (Figura 2).

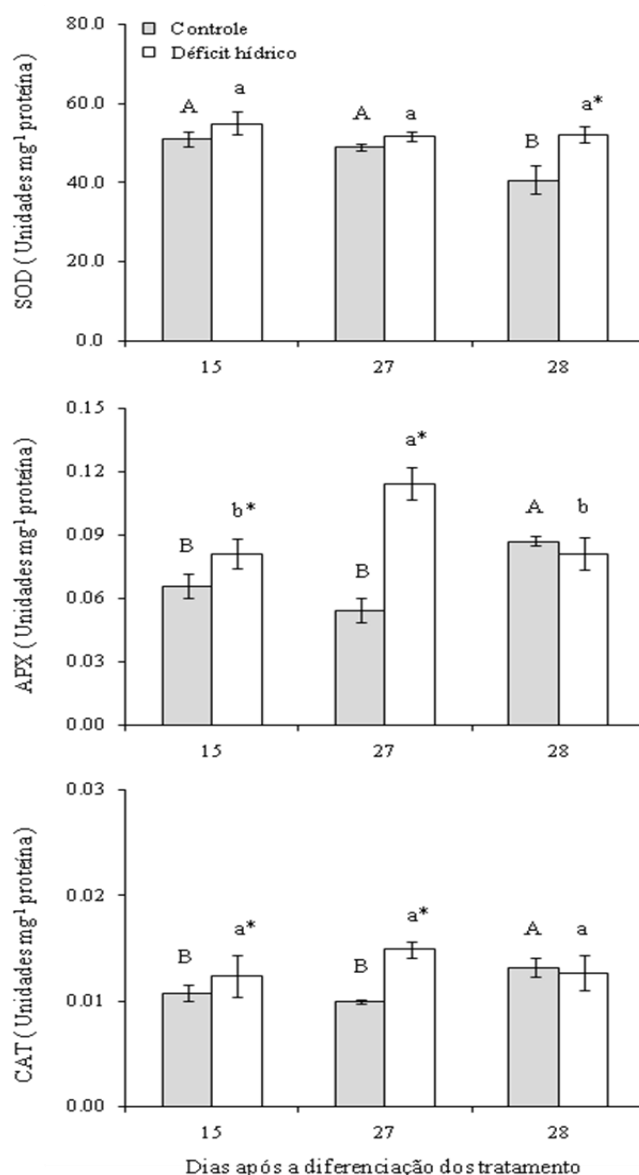


Figura 2. Atividades da dismutase do superóxido (SOD), da peroxidase do ascorbato (APX) e da catalase (CAT) em plantas de *C. guianensis* submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28). Análises estatísticas foram realizadas como na Figura 1.

3.4. Glicinabetaina

O déficit hídrico resultou em aumentos de 62% (dia 15) e 112% (dia 27) nas concentrações de GB. Com relação ao efeito de tempo, em que cada tratamento foi comparado em diferentes dias experimentais, nenhuma alteração significativa na concentração de GB foi observada nas plantas irrigadas, enquanto nas plantas sob déficit hídrico a concentração de GB foi 34% maior no dia 27 que no dia 15 (Figura 3). Após a retomada da irrigação (dia 28), a concentração de GB permaneceu maior (22%) nas plantas previamente estressadas. Comparando-se apenas as plantas estressadas em diferentes dias experimentais, a concentração de GB no dia 28 foi 26% e 44% menor que nos dias 15 e 27, respectivamente (Figura 3).

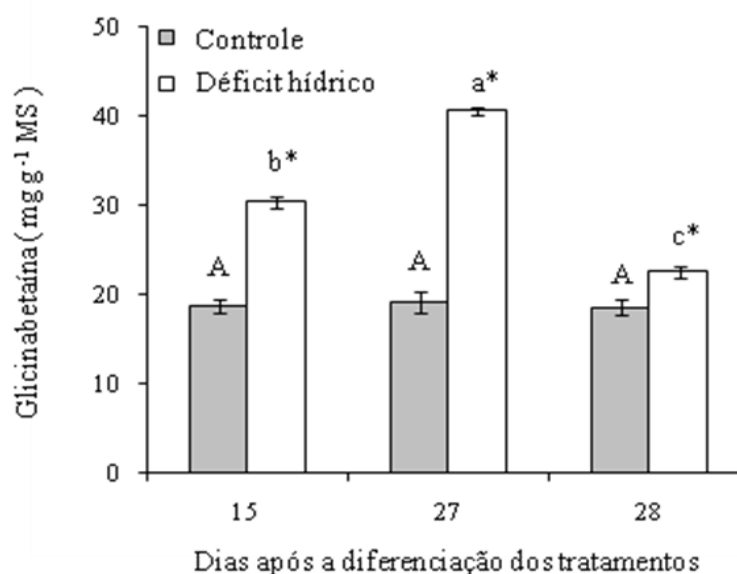


Figura 3. Concentração de glicinabetaina em plantas de *C. guianensis* submetidas ao déficit hídrico (dias 15 e 27) e a reidratação (dia 28). Análises estatísticas foram realizadas como na Figura 1.

4. DISCUSSÃO

A peroxidação de lipídios sob condições de seca tem sido relatada em diferentes espécies, tais como *Myracrodruon urundeuva* (QUEIROZ et al., 2002), *Coffea canephora* (LIMA et al., 2002; PINHEIRO et al., 2004), *Momordica charantia* (AGARWAL; SHANEEN, 2007) e *Picea asperata* (DUAN et al., 2007), e os efeitos do déficit hídrico na degradação de clorofilas foram relatados em *Arabidopsis thaliana* (KARPINSKI et al., 1999), *Melissa officinalis* (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 1999) e em *Rosmarinus officinalis* (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2000). Porém, a magnitude dos danos oxidativos difere entre espécies ou genótipos e em resposta à intensidade e duração do estresse (SGHERRI et al., 2000). No presente trabalho, as concentrações foliares de MDA evidenciaram claramente que as plantas de andiroba sofreram danos oxidativos aos lipídios de membrana, independentemente do regime hídrico. No entanto, os danos oxidativos nas plantas irrigadas foram limitados aos lipídios de membrana, enquanto nas plantas sob déficit hídrico tanto as maiores concentrações de MDA e o maior extravasamento de eletrólitos bem como a degradação das clorofilas (*a* e *b*) indicaram que os danos oxidativos nessas plantas foram mais expressivos que nas plantas controle.

A ocorrência de peroxidação de lipídios e de extravasamento de eletrólitos nas plantas irrigadas poderia ser atribuída aos distúrbios normais que ocorrem nas rotas metabólicas que envolvem reações de transferência de elétrons, como na fase fotoquímica da fotossíntese, na fotorespiração (em plantas C_3) e na respiração mitocondrial (MITTLER, 2002). Mas, em geral, a produção de EAO sob condições de crescimento não limitantes (ou não estressantes) é comumente reduzida e as atividades constitutivas das enzimas antioxidantes e os teores constitutivos de compostos antioxidantes não enzimáticos devem atenuar os efeitos do estresse oxidativo (POLLE, 2001).

De acordo com Gonçalves et al. (2009), a fotossíntese nas plantas de andiroba sob déficit hídrico é substancialmente suprimida (80% em relação às plantas irrigadas) após 21 dias da suspensão da irrigação, quando o potencial hídrico foliar, medido as 9:00 h, foi de -3,4 MPa; além disso, apenas sutis alterações na fluorescência da clorofila *a* foram observadas. Uma vez que o déficit hídrico aos quais as plantas de andiroba foram submetidas neste experimento (dia 27) foi bastante similar àquele estudado por Gonçalves e colegas, então o contínuo fluxo de elétrons através dos fotossistemas em paralelo à diminuições significativas na fotossíntese líquida devem ter resultado em maior produção de $O_2^{\cdot -}$ e H_2O_2 nos cloroplastos (LAWLOR 1995; ASADA, 1999; MITTLER, 2002; BLOKHINA et al., 2003; REDDY et al., 2004;

JALEEL et al., 2009), explicando, pelo menos em parte, a maior peroxidação de lipídios e degradação de clorofilas *a* e *b* nas plantas sob déficit hídrico.

Por outro lado, considerando-se que a degradação de clorofila *a* não foi manifestada sob forma de lesões cloróticas e/ou necróticas nas plantas estressadas, é possível que tal degradação haja como uma estratégia de regulação da absorção e transferência de energia luminosa entre fotosistemas, evitando ou atenuando uma super redução da cadeia fotoquímica da fotossíntese a qual favorece a produção de EAO (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2000). Além disso, se a degradação da clorofila *a* ocorre paralelamente a manutenção ou a aumentos na concentração de carotenóides totais, então uma contínua dissipação de excessos de energia é esperada (DEMMING-ADAMS et al., 1996; ALONSO et al., 2001; CORCUERA et al., 2005; JALEEL et al., 2009). De fato, os resultados indicam que as plantas estressadas de andiroba ajustaram suas concentrações de clorofila *a* e carotenóides totais, reduzindo, dessa forma, a razão clorofila *a*/carotenóides. Portanto, menor absorção de energia luminosa em paralelo a maior dissipação de excessos de energia via carotenóides deve ter contribuído, em alguma extensão, para atenuar os efeitos da seca na ocorrência dos danos oxidativos.

A atividade das enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT) é geralmente incrementada para promover melhor eliminação das EAO e promover uma maior proteção celular contra danos oxidativos (ASADA, 1999; MITTLER, 2002; BLOKHINA et al., 2003; REDDY et al., 2004; JALEEL et al., 2009). SOD catalyzes the dismutation of superoxide anions to dioxygen and H₂O₂; and both APX and CAT detoxify the H₂O₂ produced by SOD reaction (ASADA, 1999; MITTLER, 2002; BLOKHINA et al., 2003; REDDY et al., 2004; JALEEL et al., 2009). Em todo caso, a cooperação entre enzimas antioxidants deve prover melhor proteção contra os efeitos deletérios das EAO, minimizando os danos oxidativos (POLLE, 2001; BLOKHINA et al., 2003).

Por exemplo, maiores atividades da SOD, CAT e APX em plantas de *Coffea canephora*, clone 120 (tolerante à seca), promoveram consideráveis decréscimos nos teores foliares de MDA e extravasamento de eletrólitos que no clone 109 A (sensível à seca) sob condições de deficiência hídrica (LIMA et al. 2002). Aparentemente, tal cooperação entre enzimas antioxidantes não foi observada neste experimento, uma vez que a atividade da SOD nas plantas sob déficit hídrico permaneceu constante em paralelo a significativos aumentos nas atividades da APX e CAT. Respostas diferenciais (aumentos e decréscimos) na atividade da SOD sob condições de seca tem sido relatados em literatura (DHINDSA; MATOWE, 1981; DEL LONGO et al., 1993; MORAN et al., 1994; vanRENSBURG; KRÜGER, 1994; SCHWANZ et al., 1996; SGHERRI et al., 2000; MARTINEZ et al., 2001; LIMA et al., 2002;

PINHEIRO et al., 2004). De qualquer modo, como as atividades da APX e CAT foram maiores nas plantas de andiroba sob déficit hídrico, pode-se inferir que o estresse desencadeou uma maior produção de H₂O₂. Assim, a detoxificação de O₂⁻ nessas plantas pode ser parcialmente resultante da atividade da SOD nos cloroplastos (CORPAS et al., 2001; MITTLER, 2002), como também a partir da reação direta do O₂⁻ com o ascorbato e a glutatona reduzida (SMIRNOFF, 1995; MITTLER, 2002; JALEEL et al.; 2009) ou com a GB (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; SHEN et al., 1997). A GB é um composto quaternário abundante nos cloroplastos e sua síntese a partir da serina, via etanolamina (RHODES; HANSON, 1993) é estimulada em condições de déficit hídrico (MOHANTY et al., 2002; YANG et al., 2003). Os resultados obtidos evidenciaram maiores concentrações de GB sob condições de déficit hídrico, indicando que a GB possivelmente coopera com a SOD na detoxificação do O₂⁻ nos cloroplastos. Ademais, Raza et al. (2007) propuseram que a aplicação exógena de GB estimula a síntese de GB em cultivares de trigo diferindo quanto à tolerância ao estresse salino, modulando positivamente a atividade das enzimas antioxidantes nos genótipos tolerantes. Portanto, uma possível modulação das enzimas antioxidantes por meio das maiores concentrações de GB nas plantas de andiroba sob déficit hídrico foi evidenciada neste experimento para as enzimas APX e CAT, mas não para a SOD. Isto porque as maiores (dias 15 e 27) e menores (dia 28) atividades da APX e CAT foram coincidentes as maiores (dias 15 e 27) e menores (dia 28) concentrações de GB.

A magnitude dos danos oxidativos durante o desenvolvimento do estresse responde tanto ao período e intensidade do estresse e isto deve determinar a capacidade das plantas em recuperar sua turgescência e demais processos fisiológicos após o estresse ser cessado (SGHERRI et al., 2000). Neste trabalho, a recuperação das plantas foi avaliada 12 h após a retomada da irrigação, uma vez que resultados prévios indicaram que plantas jovens de mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla*, outra espécie da família Meliaceae nativa da região Amazônica) recuperaram sua turgescência durante esse período de tempo (CORDEIRO, 2007). Em concordância, plantas estressadas de *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), uma típica espécie encontrada nas regiões semi-áridas do Brasil, recuperaram sua turgescência e diminuíram a peroxidação de lipídios eficientemente após 6 h da retomada da irrigação (QUEIROZ et al., 2002). Em comparação, os resultados obtidos para andiroba permitem inferir que as plantas sob déficit hídrico recuperam-se de forma bastante satisfatória durante o curto período de recuperação e, embora os mecanismos que contribuem para tal recuperação não tenham sido avaliados neste experimento, as maiores concentrações de GB nas plantas estressadas tanto durante o desenvolvimento do estresse quanto na reidratação permitem inferir que a GB deve ter

contribuído para uma melhor absorção e transporte de água do solo à parte aérea por meio de ajustamento osmótico (SUBBARAO et al., 2001; MUNNS 2002; ASHRAF; HARIS, 2004). Entretanto, a rápida recuperação no Ψ_{am} não resultou em decréscimos significativos na concentração de MDA e no extravasamento de eletrólitos nas plantas previamente estressadas, porém, os decréscimos nas atividades da APX e CAT indicaram que a produção de H_2O_2 foi atenuada em alguma extensão após a retomada da irrigação. Uma vez que a reidratação por um tempo relativamente maior (a partir de oito dias) promoveu uma eficiente recuperação da fotossíntese e variáveis de fluorescência da clorofila *a* em plantas de andiroba sob déficit hídrico (GONÇALVES et al., 2009), então, os efeitos do estresse oxidativo aos lipídios de membrana e pigmentos foliares deverão ser também atenuados.

5. CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que as plantas de andiroba não previnem a ocorrência de danos oxidativos sob condições de déficit hídrico. Entretanto, danos mais expressivos aos lipídios de membrana foram mitigados pelos ajustes nos teores foliares de clorofila *a* e carotenóides e por meio da modulação da APX e CAT mediada pela GB. Finalmente, a reidratação por 12 h permitiu a recuperação da turgescência; mas não atenuou os danos oxidativos aos lipídios de membrana.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, R.; ELVIRA, S.; CASTILLO, F.J.; GIMENO, B.S. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidant enzymes in *Pinis halpensis*. **Plant Cell Environment**, v. 24, p. 905-916, 2001.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of Active Oxygen and Dissipation of Excess Photons. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, n.1, p.601-639. 1999.

ASHRAF, M.; HARIS, P.J. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, v. 91, p. 179-194, 2003.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p.248-254. 1976.

CHAGNON, F. J. F.; BRAS, R. L.; WANG, J. Climatic shift in patterns of shallow clouds over the Amazon. **Geophysical Research Letters**, v.31, 2004. Acesso em doi: 10.1029/2004GL021188.

CHAGNON, F. J. F.; BRAS, R. L. Contemporary climate change in the Amazon. **Geophysical Research Letters**, v.32, 2005. Acesso em doi:10.1029/2005GL022722.

CAKMAK, I.; HORST, J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine Max*). **Physiologia Plantarum**, v.83, p.463-468, 1991.

CORCUERA, L.; MORALES, F.; ABADÍA, A.; GIL-PELEGRÍN, E. Seasonal changes in photosynthesis and photoprotection in a *Quercus ilex* subsp. *ballota* woodland located in its upper altitudinal extreme in the Iberian Peninsula. **Tree Physiology**, v.25, p.599-608, 2005.

CORDEIRO, Y.E.M. Aspectos biofísicos e bioquímicos de plantas jovens de Mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King R.A) sob dois regimes hídricos. Tese (Mestrado em Agronomia/Biologia Vegetal Tropical) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 44f:II, 2007.

CORPAS, F.J.; BARROSO, J.B.; del RIO, L.A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. **Trends in Plant Science**, v. 6, p. 145–150, 2001.

CREISSEN, G. P.; EDWARDS, E. A.; E. A.; MULLINEAUX, P. M. Glutathione reductase and ascorbate peroxidase. In: FOYER, C. H.; MULLINEAUX, P. M. (Ed.). **Causes of photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants**. Florida: CRC Press Boca Raton, p.343-364, 1994.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.4, p.1023-1028, 1993.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W.; BAKER, D.H.; LOGAN, B.A.; BOWLING, D.R.; VERHOEVEN, A.S. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum*, v. 98, p. 253–264, 1996.

DHINDSA, R.S.; MATOWE, W. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation. **Journal of Experimental Botany**, v. 32, p. 79–91, 1981.

DUAN, B.; YANG, Y.; LU, Y.; KORPELAINEN, H.; BERNINGER, F.; LI, C. Interactions between water deficit, ABA and provenances in *Picea asperata*. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 3025-3036, 2007

FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. **Manual de sementes da Amazônia**. Fascículo 1. 2003. Disponível em:

ftp://ftp.inpa.gov.br/pub/documentos/sementes/manuais/fasciculo1_carapa.pdf. Acesso em: 29 de janeiro de 2009.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GONÇALVES, J.F.C; SILVA, C.E.M; GUIMARÃES, D.G. Photosynthesis and water potential of andiroba seedlings submitted to water stress and rewetting. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 8-14, 2009.

GRIEVE, C.M.; GRATTAN, S.R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, v. 70, p. 303-307, 1983.

HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalas in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.

JALEEL, C.A.; RIADH, K.; GOPI, R.; MANIVANNAN, P.; INÈS, J.; AL-JUBURI, H.J.; CHANG-XING, Z.; HONG-BO, S.; PANNEERSELVAM, R. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. **Acta Physiologie Plantarum**, v. 31, p. 427-436, 2009.

KARPINSKI, S.; REYNOLDS, H.; KARPINSKA, B.; WINGSLE, G.; CREISSEN, G.; MULLINEAUX, P. The role of hydrogenperoxide and antioxidants in systemic acclimation to photo-oxidative stress in *Arabidopsis*. In: Smallwood, M. F., Calvert, C. M., Bowles, D. J. (Eds.), **Plant Responses to Environmental Stress**. BIOS Scientific Publishers, Oxford, p. 25–32, 1999.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water Relations of Plants and Soils**. San Diego: Academic Press, p.495, 1995.

LAWLOR, D.H. The effects of water deficit on photosynthesis. In: Smirnoff, N. (Ed.), **Environment and Plant Metabolism—Flexibility and Acclimation**. BIOS Scientific Publishers, Oxford, p.129–156, 1995.

LICHTHENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

LIMA, A. L. S.; DaMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TOTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental Experimental Botany**, v.47, p.239-247, 2002.

MARENGO, J.; BHATT, U.; CUNNINGHAM, C. Decadal and multidecadal variability of climate in the Amazon basin. **International Journal of Climatology**, v.20, p.503-518, 2000.

MARTINEZ, C. A.; LOUREIRO, M. E.; OLIVA, M. A.; MAESTRI, M. Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing sensitive *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress. **Plant Science**, v.160, p. 505-515, 2001.

McCORMICK, R.; ALLEMAN, T. L. Emissões de exaustão. In: **Manual do Biodiesel** (Knothe, G.; Van Gerpen, J.; Krahl, J.; Ramos, L. P. eds.). Editora Edgard Blücher, São Paulo, p.181-193, 2006.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, 2002.

MOHANTY, A.; KATHURIA, H.; FERJANI, A.; SAKAMOTO, A.; MOHANTY, P.; MURATA, N.; TYAGI, A.K. Transgenics of an elite indica rice variety Pusa Basmati 1 harbouring the *codA* gene are highly tolerant to salt stress. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 51-57, 2002.

MORAN, J. F.; BECANA, M.; ITURBE-ORMAETXE, I.; FRECHILLA, S.; KLUCAS, R. V.; APARICIO-TEJO, P. Drought induces oxidative stress in pea plants. **Planta**, v.194, p.346-352, 1994.

MUNNÉ-BOSCH, S.; ALEGRE, L. Role of dew on the recovery of water-stressed *Melissa officinalis* L. plants. **Journal of Plant physiology**, v. 154, p. 759-766, 1999.

MUNNÉ-BOSCH, S.; ALEGRE, L. Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. **Planta**, v. 210, p. 925-931, 2000.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.

NEVES, O. S. C.; BENEDIO, D. S.; MACHADO, R. V.; CARVALHO, J. G. Crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de N, P, K, Ca, Mg e S na parte aérea de mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) cultivadas em solo de várzea, em função de diferentes doses de fósforo. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.28, n.3, p.343-349, 2004.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v.49, p.249-279, 1998.

POLLE, A. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. **Plant Physiology**, v.126, n.1, p.445-462, 2001.

PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; FONTES, E. P. B.; LOREIRO, M. E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clone of *coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**, v.167, p.1307-1314, 2004.

PINHEIRO, H.A.; SILVA, J.V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V.M.; CÂMARA, C.A.; CABRAL, F.F.; OLIVEIRA, J.F.; CARVALHO, L.W.T.; SANTOS, J.M.; SANTOS FILHO, B.G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 27, 385-392, 2008.

QUEIROZ, C.G.S.; GARCIA, Q.S.; LEMOS FILHO, J.P. Photosynthetic activity and membrane lipid peroxidation of aroeira-do-sertão plants under water stress and after rehydration. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, p. 59-63, 2002.

RAPOSO, A.; SILVA, J. M. M.; SOUSA, J. A. **Estudos fenológicos de andiroba (*Carapa guianenses*) no município de Rio Branco.** 2003. Disponível em: <http://adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0437-1.htm>. Acesso em: 29/01/2009.

RAZA, S.H.; ATHAR, H.R.; ASHRAF, M.; HAMEED, A. Glycinebetaine-induced modulation of antioxidant enzymes activities and ion accumulation in two wheat cultivars differing in salt tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 368-376, 2007.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1189-1202, 2004.

RHODES, D.; HANSON, A.D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 357-384, 1993.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.101. p. 7-12, 1993.

SCHWANZ, P.; PICON, C.; VIVIN, P.; DREYER, E.; GUEHL, J. M.; POLLE, A. Response of the antioxidative systems to drought stress in pendunculate oak and maritime pine as affected by elevated CO₂. **Plant Physiology**, v.110, p.393-402, 1996.

SGHERRI, C. L. M.; MAFFEI, M.; NAVARI-IZZO, F. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. **Journal Plant Physiology**, v.157, p.273-279, 2000.

SHEN, B.; JENSEN, R.G.; BONHERT, H.J. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. **Plant Physiology**, v. 115, p. 527-532, 1997.

SMIRNOFF, N. Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff, N. (Ed.), **Environment and Plant Metabolism-Flexibility and Acclimation**. BIOS Scientific Publishers, Oxford, p.217-243, 1995.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q.J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatibles solutes. *Phytochemistry*, v. 28, p. 1057-1060, 1989.

SUBBARAO, G.V.; WHEELER, R.M.; LEVINE, L.H.; STUTTE, G.W. Glycine betaine accumulation, ionic and water relation of red-beet at contrasting levels of sodium supply. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, p. 767-776, 2001.

Van RENSBURG, L.; KRÜGER, G.H.J. Evaluation of components of oxidative stress metabolism for use in selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. **Journal Plant Physiology**, v. 143, p. 730–737, 1994.

VICTORIA, R.; MATINELLI, L.; MORAES, J.; BALLESTER, M.; KRUSCHE, A.; PELLEGRINO, G.; ALMEIDA, R.; RICHEY, J. Surface air temperature variations in the Amazon region and its border during this century. **Journal Climate**, v.11, p.1105–1110, 1998.

YANG, W.J.; RICH, P.J.; AXTELL, J.D.; WOOD, K.V.; BONHAM, C.C.; EJETA, G.; MICKELBART, M.V.; RHODES, D. Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. **Crop Science**, v. 43, p. 162-169, 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)