



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA – BACHAREL

DAYANE SILVA ALVARES

**CRESCIMENTO E METABOLISMO FOLIAR DE MUDAS DE *Ormosia arborea*  
(Veil.) (FABACEAE) SOB ALAGAMENTO**

DOURADOS – MS

2019

**DAYANE SILVA ALVARES**

**CRESCIMENTO E METABOLISMO FOLIAR DE MUDAS DE *Ormosia arborea*  
(Veil.) (FABACEAE) SOB ALAGAMENTO**

“Trabalho de conclusão de curso apresentado, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, na Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana de Paula Quintao Scalon”

DOURADOS – MS

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A473c Alvares, Dayane Silva  
CRESCIMENTO E METABOLISMO FOLIAR DE MUDAS DE *Ormosia arborea* (Vell.)  
(FABACEAE) SOB ALAGAMENTO [recurso eletrônico] / Dayane Silva Alvares. -- 2019.  
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Silvana de Paula Quintao Scalon.  
Coorientadora: Daiane Mugnol Dresch.  
TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.  
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:  
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. estresse hídrico. 2. alagamento. 3. enzimas antioxidantes. I. Scalon, Silvana De Paula Quintao. II. Dresch, Daiane Mugnol. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**DAYANE SILVA ALVARES**

**CRESCIMENTO E METABOLISMO FOLIAR DE MUDAS DE *Ormosia arborea*  
(Vell.) (FABACEAE) SOB ALAGAMENTO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovado em: 09/11/2019

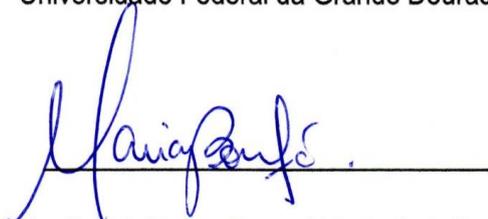
**BANCA EXAMINADORA**



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana de Paula Quintao Scalon  
Universidade Federal da Grande Dourados



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daiane Mugnol Dresch  
Universidade Federal da Grande Dourados



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maricy Raquel Lindenbah Bonfá  
Universidade Federal da Grande Dourados

Dourados, Novembro de 2019

**Dedico este trabalho a minha amada  
Lenira Andrade da Silva (in memoriam),  
meu exemplo de ser humano, mulher e  
amor.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeira e imensamente toda minha família por ser minha base e estar comigo todos os momentos me incentivando e me mantendo em pé, minha mãe Sônia Maria Moreira da Silva, meu pai Luiz Mário de Arruda, minha irmã Yane Silva de Arruda, meu avô Arnaldo Moreira da Silva e minha vó Lenira Andrade da Silva, obrigada por lutarem ao meu lado, se dedicarem e sempre acreditarem em mim e por todo apoio em fazer o que gosto, seguir meus sonhos e conquistar meus desejos.

À Minha orientadora, Dr<sup>a</sup> Silvana de Paula Quintão Scalon que me recebeu e me aceitou como sua orientada, agradeço sua disposição em me atender e pelos seus ensinamentos e ajuda ao longo deste trabalho.

À minha coorientadora, Dr<sup>a</sup> Daiane Mugnol Dresch que sempre tirou minhas dúvidas, me ajudou e auxiliou neste projeto.

Aos amigos que fiz ao longo da graduação, em especial a Steffany Cristina Pereira Santos que esteve presente em todos os momentos, me auxiliou e direcionou na vida acadêmica.

Aos meus companheiros de luta diária neste curso Larissa Avelino Silva, Karine de Jesus Teixeira e Pedro Lucas Costa Nunes Monteiro, a presença de vocês foi essencial na minha vida acadêmica, obrigada pela amizade e companheirismo nos momentos de alegria e tristeza que o curso de Biotecnologia nos proporcionou.

À minha melhor amiga e companheira Bárbara de Oliveira Banega que sempre esteve comigo dentro e fora da faculdade e permanecerá para sempre.

Aos presentes que a Biotecnologia me deu e tive a honra de ser aluna e agora amiga, professoras Filomena Maria Perella Balestieri e Maricy Raquel Lindenbah Bonfá.

Minha eterna gratidão a todos e todas!

*"Ao infinito... e Além".*

(Buzz Lightyear; Toy Story, 1995.)

## RESUMO

Para restauração de áreas sujeitas a alagamentos, é importante a inserção de espécies tolerantes nativas, a fim de evitar prejuízos futuros no estabelecimento de mudas nestes locais. Diante disso, esse trabalho objetivou avaliar aspectos de crescimento, fotoquímica da fotossíntese e atividade antioxidantes de folhas de *Ormosia arborea* sob alagamento. Os vasos com mudas de *O. arborea* foram submetidos a um nível de água de 5 cm acima do substrato por 0, 30 e 60 dias, com exceção do tratamento controle o qual foi mantido irrigação a 70% da capacidade de retenção de água do substrato. As mudas foram avaliadas quanto a área foliar, índice de clorofila, fluorescência inicial ( $F_0$ ) e eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) e atividade enzimática de peroxidase (POX) e superóxido dismutase (SOD). Todas as folhas de *O. arborea* sobreviveram todos os ciclos de alagamento. Pequenas alterações fisiológicas como o aumento da área foliar e da fluorescência inicial não prejudicaram o crescimento das mudas mostrando seu potencial de sobrevivência em áreas temporariamente inundadas.

**Palavras-chave:** estresse hídrico, fluorescência da clorofila  $a$ , enzimas antioxidantes.

## ABSTRACT

For the restoration of areas liable to flooding, it is important to insert tolerant species, in order to avoid future prejudice in the settlement of the local seedlings. In view of the above, this article had as its goal evaluate aspects of growth, photochemistry of the photosynthesis and antioxidants activities of the *Ormosia arborea* leaves under flood. The vases with *O. arborea* seedlings were submitted to a 5 cm water level above the substrate for 0, 30 and 60 days, with an exception to the control treatment which maintaining 70% of the retention capacity of water of the substrate. The seedlings were evaluated according to the leaf area, chlorophyll index, initial fluorescence (F0) and potential quantum efficiency of the photosystem II (Fv/Fm) and enzymatic activity of peroxidase (POX) and superoxide dismutases (SOD). All of the leaves of *O. arborea* survived to the overflow cycle. Small physiological alterations did not damaged the seedlings growth showing their dynamism and ability to survive in temporary overflowed areas.

**Key words:** hydrous stress, chlorophyll fluorescence  $a$ , antioxidants enzymes.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Visão geral das mudas de <i>Ormosia arborea</i> : (a) Controle, (b) Alagamento por 60 dias. Escala: 5 cm .....	18
<b>Figura 2.</b> Análise enzimática da Peroxidase e Superóxido Dismutase em <i>Ormosia arborea</i> .....	18
<b>Figura 3.</b> Área foliar de mudas de <i>Ormosia arborea</i> durante os diferentes períodos de alagamento.....	19
<b>Figura 4.</b> Eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de mudas de <i>Ormosia arborea</i> durante os diferentes períodos de alagamento.....	20
<b>Figura 5.</b> Florescência inicial ( $F_0$ ) de mudas de <i>Ormosia arborea</i> durante os diferentes períodos de alagamento .....	21
<b>Figura 6.</b> Análise da atividade enzimática de Peroxidase (POX) em folhas de <i>Ormosia arborea</i> durante os diferentes períodos de alagamento.....	22
<b>Figura 7.</b> Análise da atividade enzimática de Superóxido Dismutase (SOD) em folhas de <i>Ormosia arborea</i> durante os diferentes períodos de alagamento .....	23

## LISTA DE SIGLAS

AF – Área foliar

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

DIC – Delineamento inteiramente casualizado

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ERO – Espécies reativas do oxigênio

F0 - Florescência inicial

FV/FM - Eficiência quântica potencial do fotossistema II

H<sub>2</sub> – Hidrogênio

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peróxido de hidrogênio

N<sub>2</sub> - Nitrogênio

NBT – Cloreto de azul tetrazólio

O<sub>2</sub> - Oxigênio

OH – Radical hidroxila

POX - Peroxidase

PSII - Fotossistema II

PVP - Polivinilpirrolidona

SOD - Superóxido dismutase

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
3.1 Local de coleta e desenvolvimento experimental .....	15
3.2 Parâmetros avaliados .....	16
3.2.1 Crescimento .....	16
3.2.2 Eficiência quântica do fotossistema II.....	16
3.2.3 Atividade enzimática.....	17
3.3 Delineamento estatístico e análise dos dados .....	17
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>6. REFERENCIAS .....</b>	<b>24</b>



## 1. INTRODUÇÃO

*Ormosia arborea* (Vell.) Harms é uma espécie nativa e endêmica do Brasil que ocorre nos domínios fitogeográficos do Cerrado e Mata Atlântica (CARDOSO; MEIRELES, 2015) de porte arbóreo pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), conhecida popularmente como olho-de-cabra, tento, pau-ripa (CARVALHO, 2008), Sua árvore tem valor paisagístico sendo recomendada para arborização das ruas e avenidas e plantios destinados à restauração de áreas degradadas (CARVALHO, 2008). Suas sementes são usadas também na medicina, na forma de chá para dores na bexiga (SENS, 2002) e como contraceptivos (DUARTE; DRANKA; YANO, 2012).

O substrato indicado para seu cultivo é terra de subsolo, visto que mudas de *O. arborea* se desenvolvem bem com baixa fertilidade (SILVA; MORAIS, 2013). A planta se estabelece tanto em ambientes ripários quanto em solos bem drenados (CARVALHO, 2008). Encontra-se em vias de extinção, em consequência das contínuas devastações de florestas nativas. A produção de mudas desta espécie é dificultada pela baixa porcentagem de germinação de suas sementes, em razão do tegumento ser muito duro (LORENZI, 2008).

Existem vários estudos com o gênero *Ormosia* principalmente relacionado com a sua germinação, entretanto são raros os que tratam das suas respostas fisiológicas nos diversos ambientes. Considerando que o alagamento é um fator que restringe a vida de diversas espécies vegetais, torna-se importante o estudo da tolerância ou resistência de espécies de mata ciliar a alagamentos temporários ou duradouros (CIRILO; MEDRI, 2002).

No alagamento há diminuição de oxigênio que pode danificar severamente plantas sensíveis à inundação, entretanto as plantas tolerantes suportam essa condição por mais tempo e plantas bem adaptadas, de terras úmidas, crescem e sobrevivem durante períodos mais longos com seus sistemas de raízes em condições de alagamento (TAIZ; ZEIGER, 2017). Segundo Kozlowski (1984), o solo alagado reduz a disponibilidade de oxigênio para a planta. Entretanto, determinadas espécies, quando submetidas ao alagamento, podem produzir modificações morfoanatômicas, e também acelerar a senescência e abscisão de suas folhas, as

quais permitem a difusão de oxigênio da parte aérea para as raízes, mantendo a respiração aeróbica.

É importante do ponto de vista da agricultura e do meio ambiente o conhecimento sobre os processos fisiológicos que ocorrem com as plantas, seus mecanismos de adaptação ao clima e ao estresse ambiental. De acordo com Taiz e Zaiger (2017) o estresse está relacionado a tolerância da planta, quando enfrenta um ambiente desfavorável.

Diante disso, a planta responde ao estresse hídrico em sua fisiologia e anatomia sofrendo abscisão foliar, aprofundamento das raízes, fechamento dos estômatos, diminuição da fotossíntese, diminuição do potencial hídrico da célula, entre tantas outras regulações para sua sobrevivência em ambiente desfavorável (SOUZA, 2017).

O estresse hídrico caracteriza-se pelas alterações bioquímicas sofridas na estrutura das células, com acúmulo de solutos compatíveis e de proteínas específicas que são rapidamente induzidas por essa reação (SHAO et al., 2005). As respostas fisiológicas da planta relacionada ao excesso de água, variam de acordo com a intensidade aplicada sob alagamento como tempo alagado, quantidade de água, etc.

O alagamento gera efeitos na folha e respostas na condutância estomática, fotossíntese e no seu processo de expansão ou abscisão foliar (PEZESHKI, 1993; PEZESHKI et al., 1993; DREYER, 1994; LIAO; LIN, 1994, 1996; WILL et al., 1995). A área foliar, a área específica foliar, a espessura total da lâmina foliar, o conteúdo de água e a densidade estomática são alguns parâmetros utilizados para avaliar o grau de adaptação da planta a determinados ambientes (GRISI, 2011). Há uma escassez de informações relacionada à área foliar de *Ormosia arborea* principalmente em casos de adaptação em ambientes alagados, sendo assim importante o estudo e pesquisa que relaciona estes fatores.

Analisa-se o índice de clorofila na folha, usado para predizer o nível nutricional de nitrogênio (N) em plantas, devido ao fato de que, a quantidade desse pigmento está diretamente relacionado com teor de N na planta (PIEKIELEK; FOX; 1992; SMEAL; ZHANG, 1994; BOOIJ et al., 2000). Em plantas alagadas, ocorre a

diminuição do oxigênio causando algumas restrições no metabolismo que prejudica a absorção e transporte de íons, reduzindo os nutrientes na parte aérea da planta, dentre eles o nitrogênio (LENHARD; SCALON; NOVELINO, 2010).

Por efeito de estresse hídrico as variáveis de trocas gasosas podem apresentar alterações, restringindo a disponibilidade de dióxido de carbono para assimilação, levando a limitações metabólicas, pelo aumento do efeito fotoinibitório (GLAZ; MORRIS; DAROUB, 2004). A quantificação da fluorescência da clorofila *a* auxilia no conhecimento do processo fotoquímico da fotossíntese, avaliando o efeito de fatores ambientais sobre o metabolismo fotossintético e o estado fisiológico das plantas e sua tolerância à estresses abióticos (PEREIRA, 2001). Dentre eles, sob diferentes disponibilidades hídricas (SOUZA, 2017).

Ao expor as plantas a estresses bióticos e abióticos pode ocorrer o aumento da produção das espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como  $O_2$ ,  $O_2^-$  e  $H_2O$  e OH. Para se proteger contra estes tóxicos intermediários de oxigênio, as células das plantas e suas organelas, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos aplicam um sistema de defesa antioxidante, enzimas e outras moléculas não enzimáticas (DAVAR et al., 2013).

Concomitantemente existem mecanismos de defesa importantes que são contra radicais livres e limitam o estresse oxidativo e a destruição das espécies reativas de oxigênio, os quais dependem da intensidade do estresse sob a planta e sua capacidade de sobrevivência. A planta pode responder com aumento de expressão de genes de enzimas antioxidantes (MUNNÉ-BOSCH, 2013).

Sob condições de alagamento as enzimas do sistema antioxidante são ainda pouco estudadas (SAIRAM et al., 2008). Diversas enzimas estão envolvidas no mecanismo e protege a planta de radicais livres, entre elas, estão as catalases, superóxido dismutases e peroxidases (MUNNÉ-BOSCH; QUEVAL; FOYER, 2013). A superóxido dismutases (SOD) são essenciais na resposta das plantas ao estresse oxidativo porque formam peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular, atuando sobre o radical  $O_2^-$  (CATANEO et al., 2005). A peroxidase (POX) possui uma alta afinidade com  $H_2O_2$  e com isso, faz a sua remoção rápida até mesmo em concentrações menores (MITTLER, 2002).

Acresce que, a peroxidase (POX) esta presente em tecidos de animais, plantas e microorganismos, que cataliza a oxidoredução entre  $H_2O_2$  e vários redutores, também participa de processos fisiológicos nas plantas, tais como a lignificação, suberização, formação e reticulação de componentes da parede celular, catabolismo de auxinas, senescência, proteção contra ataque de patógenos, insetos e estressores abióticos (GULSEN et al., 2010; WAR et al., 2012). O peróxido de hidrogênio é umas das espécies reativas de oxigênio que apresentam relativamente uma longa meia-vida (1ms) e o excesso de  $H_2O_2$  nas células das plantas lidera o estresse oxidativo que cumpre dois papeis nas plantas: em baixa concentração age como um sinal molecular acionando a tolerância a vários estresses bióticos e abióticos, em alta concentração, conduz para a morte programada da célula (BHATTACHARJEE, 2012).

Bem como a enzima superóxido dismutase (SOD) é uma das enzimas antioxidantes intracelulares mais eficazes e presente em todos os organismos aeróbicos e compartimentos subcelulares que podem sofrer uma reação oxidativa devido a um estresse abiótico ou biótico. É a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis elevados das espécies reativas de oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010). As SOD removem  $O_2^-$ , catalisando a sua dismutação, onde um  $O_2^-$  é reduzido a  $H_2O_2$  e outro oxidado a  $O_2$ . Remove  $O_2^-$  e, portanto, diminui o risco de formação de OH no interior da célula (MITTLER, 2002).

Há uma escassez de informações relacionada à área foliar e metabolismo fotossintético e antioxidante de *O. arborea* principalmente em casos de adaptação a ambientes alagados, sendo assim importante o estudo e pesquisa que relaciona estes fatores.

## **2. OBJETIVO**

Avaliar aspectos de crescimento, fotoquímica da fotossíntese e atividade antioxidantes de folhas de *Ormosia arborea* sob alagamento.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Local de coleta e desenvolvimento experimental**

Frutos abertos de *O. arborea* foram coletados como recomendado por Silva et al. (2014), a partir de matrizes distribuídas à margem esquerda do rio Ivinhema (22

03' 04,5" S; 53° 41' 28,2" W), uma área sujeita à inundação, no município de Nova Andradina/MS. As sementes presentes nos frutos foram selecionadas de acordo coma integridade, uniformidade e colora o.

O experimento foi conduzido no município de Dourados, MS, onde o clima, sendo a classifica o de K ppen,   Mesotérmico  mido; do tipo Cwa, com temperaturas e precipita oes m dias anuais variando de 20° a 24° C e 1.250 a 1.500 mm.

Os vasos com as mudas (Figura 1) foram separados em dois regimes hídricos: (1) Mudas alagadas - mantidas com o nível de água a 5 cm acima do substrato; (2) Controle (Mudas não alagadas) – mantidas com irriga o manual e diária mantendo 70% da capacidade de reten o de água do substrato.

A condi o de alagamento foi obtida pela deposi o dos vasos dentro de piscinas plásticas (Capacidade de 1000 litros) por 0, 30 e 60 dias. O nível de água nas piscinas foi verificado semanalmente e, sempre que necessário, a água foi completada, de forma lenta e suave, para evitar agita o da água e o aumento da concentra o de oxigênio.

### **3.2 Parâmetros avaliados**

#### **3.2.1 Crescimento**

Dois indivíduos de cada repeti o por tratamento (N=8) foram escolhidos ao acaso e avaliados em fun o da ** rea foliar** ( $AF$ ; cm<sup>2</sup>), medida com o aparelho LICOR modelo LI-3100C e do ** ndice de clorofila**: obtido com auxílio de um medidor de clorofila (Konica Minolta, SPAD 502).

#### **3.2.2 Eficiência quântica do fotossistema II**

Obtida por meio de fluor metro portátil modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyl Fluorometer, Hudson, USA), sendo anotadas as medidas de **fluorescência inicial** ( $F_0$ ) e **eficiência quântica potencial do fotossistema II** ( $F_v/F_m$ ). A determina o da fluorescência foi realizada entre 8 e 11h da manhã, em folhas as submetidas a um período de 30 minutos de adapta o ao escuro com o auxílio de cliques adaptadores, para que todos os centros de rea o nessa região foliar adquirissem a condi o de “aberto”, ou seja, oxida o completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons.

### 3.2.3 Atividade enzimática

Utilizando extratos obtidos a partir da homogeneização de 1 g de folhas de cada tratamento, fragmentadas em almofariz, inicialmente na presença de nitrogênio líquido. Em seguida foram adicionados 2 mL de solução de extração, constituída de EDTA 0,1 M em tampão de fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, contendo 20 mg de PVP (Polivinilpirrolidona), procedendo-se uma nova homogeneização. O homogeneizado foi centrifugado por 20 minutos a 4000 rpm e o sobrenadante coletado utilizado nas avaliações enzimáticas (Figura 2). (1) **Peroxidase**: A atividade nas folhas e raízes foi determinada em alíquotas de 20  $\mu$ L do extrato enzimático bruto (triplicata), com solução de extração. Foram adicionados 2 ml de uma mistura de reação contendo tampão fosfato de potássio 0,2M, pH 7, acrescida de 200  $\mu$ L de guaiacol (0,5%) e 200  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,08%). O aumento na absorvância da solução foi lida a 470 nm, utilizando-se para os cálculos, o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (MACEDO et al., 2005). (2) **Superóxido dismutase**: A atividade nas folhas e raízes foi determinada adicionando 50  $\mu$ L de extrato enzimático diluído para 1:5 (v:v) com solução de extração à mistura de reação, constituída de 2 ml de metionina 13 mM, 2 ml de azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 0,44 mM, 2 ml de EDTA 100 nM e 0,8 ml de riboflavina 1 mM, em tampão de fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,8 (DEL LONGO et al., 1993). A reação foi conduzida a 25° C em câmara de reação, sob a iluminação de duas lâmpadas fluorescentes de 15 W. A reação foi iniciada pelo acendimento das lâmpadas e, após 15 minutos, interrompida pelo desligamento das mesmas (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). A produção de formazana azul, resultante da foto-redução do NBT, foi medida pela determinação do incremento na absorvância a 560 nm, que foi subtraída de um “branco”, no qual a mistura de reação foi mantida no escuro (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

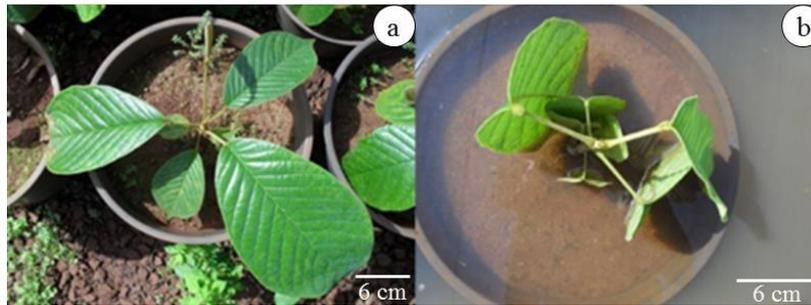
### 3.3 Delineamento estatístico e análise dos dados

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial foi de 2 regimes hídricos (Controle e Alagado) x 3 períodos de alagamento (0, 30 e 60 dias), com 4 repetições de 5 mudas cada.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade e, havendo efeito estatisticamente significativo as médias referentes

aos regimes hídricos foram submetidas ao teste t e os períodos de alagamento e sua interação com os regimes hídricos foram submetidas a teste de Tukey, ambos a 5% de probabilidade.

**Figura 1:** Visão geral das mudas de *Ormosia arborea*: (a) Controle, (b) Alagamento por 60 dias. Escala: 5 cm.



Fonte: Fernanda Soares Junglos

**Figura 2:** Análise enzimática da Peroxidase e Superóxido Dismutase em *Ormosia arborea*.



Fonte: Dayane Alvares, 2018.

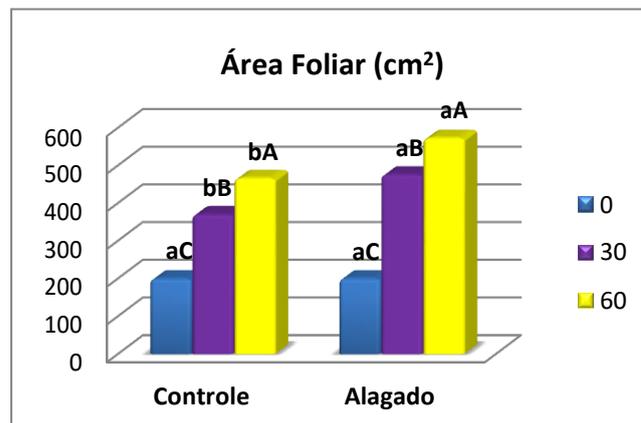
#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As mudas de *Ormosia arborea* sobreviveram até o final do experimento, sem dano aparente, independente do tratamento utilizado.

O índice de clorofila das mudas de *O. arborea* não variou significativamente entre os fatores avaliados, apresentando média geral de 37,9 (SPAD).

A área foliar das mudas aumentou em ambos tratamentos, sendo os valores superiores em relação ao controle em todos os tratamentos alagados. As mudas com 60 dias de alagamento apresentaram maior média (572,37 cm<sup>2</sup>) e os menores índices no início das avaliações (199,29 cm<sup>2</sup>) (Figura 3).

**Figura 3:** Área foliar de mudas de *Ormosia arborea* durante os diferentes períodos de alagamento.



Letras maiúsculas comparam diferentes períodos de alagamentos no mesmo regime hídrico. Letras minúsculas comparam diferentes regimes hídricos no mesmo período de alagamento.

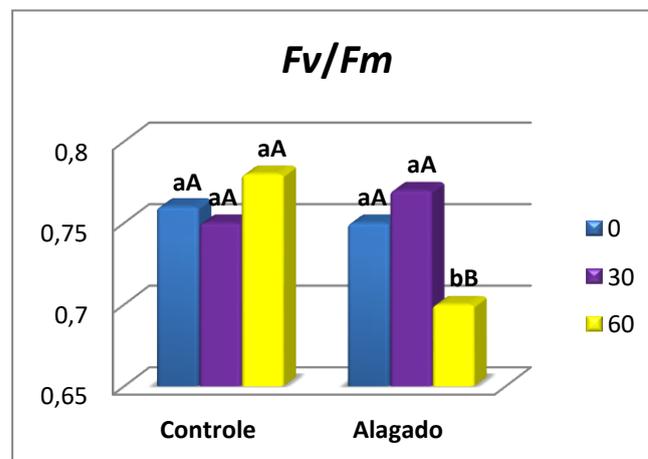
Em períodos de longos alagamentos a planta normalmente diminui ou paralisa o crescimento da parte aérea e ocorre a murcha foliar (SCHAFFER et al., 1992), em várias espécies vegetais, o decréscimo no crescimento torna-se tão intenso, que ocorrem danos irreversíveis que não permitem a retomada do crescimento após a drenagem da água, podendo levar também a morte da planta (SANTIAGO; PAOLI, 2003).

Resultados contrários foram observados por GRISI et al. (2011), que verificaram que as plantas sob alagamento apresentaram menor área foliar do que

os demais tratamentos. As folhas de *O. arborea* apresentaram uma resposta particular com um aumento significativo da área foliar no tratamento alagado, podendo ser compreendido como consequência do alagamento, promovendo uma expansão foliar, ressaltando sua adaptação e resistência em ambientes alagados.

Com relação ao  $Fv/Fm$ , as plantas não apresentaram diferença entre si, com exceção do tratamento alagado por 60 (0,7 elétron quantum<sup>-1</sup>) (Figura 4).

**Figura 4:** Eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $Fv/Fm$ ) de mudas de *Ormosia arborea* durante os diferentes períodos de alagamento.

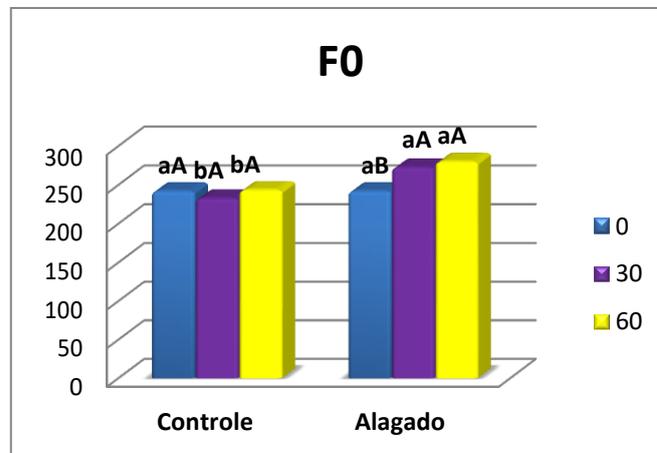


Letras maiúsculas comparam diferentes períodos de alagamentos no mesmo regime hídrico. Letras minúsculas comparam diferentes regimes hídricos no mesmo período de alagamento.

De acordo com Maxwell e Johnson (2000), em condições não estressantes a razão  $Fv/Fm$  em algumas espécies varia entre 0,75 e 0,85, uma queda no valor desta razão indica estresse, considerando um dano fotoinibitório nos centros de reação da eficiência quântica do sistema. O valor de  $Fv/Fm$  apresentado aos 60 dias tratamento alagado foi de 0,70 logo, presume-se que houve um dano fotoinibitório nestas mudas, onde se obteve a menor razão  $Fv/Fm$ .

A fluorescência inicial ( $F_0$ ) foi maior em plantas alagadas apresentando valores entre 242,12 e 280 nos períodos de 30 e 60 dias de alagamento respectivamente. Os menores valores observados no controle indicam um equilíbrio na emissão de fluorescência inicial (Figura 5).

**Figura 5:** Florescência inicial ( $F_0$ ) de mudas de *Ormosia arborea* durante os diferentes períodos de alagamento.



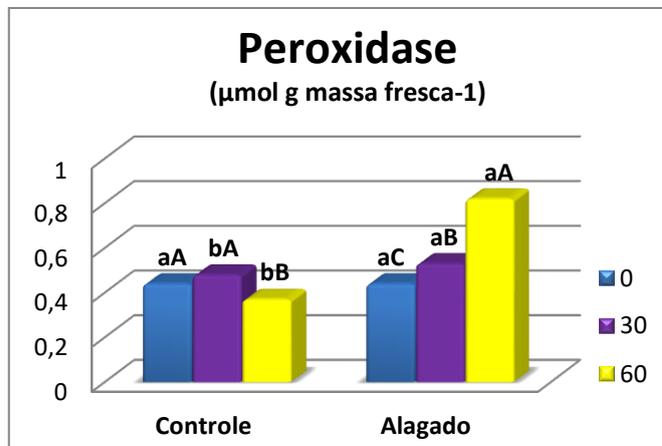
Letras maiúsculas comparam diferentes períodos de alagamentos no mesmo regime hídrico. Letras minúsculas comparam diferentes regimes hídricos no mesmo período de alagamento.

A  $F_0$  é a emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila  $a$  do complexo coletor de luz do PSII. Possivelmente o seu aumento no tratamento com plantas alagadas, pode ser consequência de danos no centro de reação do PSII (BAKER; ROSENQVST, 2004; BAKER, 2008).

Em condições de estresse a eficiência fotossintética nas plantas causa uma baixa na eficiência quântica do potencial PSII e o início dos processos de fotoinibição quando a capacidade de fotoproteção é excedida, indicada pelo declínio da relação  $F_v/F_m$  e aumento de  $F_0$  (CHAGAS, 2007).

A atividade de Peroxidase (POX) em folhas de *O. arborea* apresentou um aumento crescente de atividade ao longo dos dias de alagamento. Nos 60 dias alagado, houve a maior produção de POX quando comparado as folhas controle (Figura 6). Essa produção significativa demonstra uma contínua produção do sistema de defesa antioxidativo das folhas.

**Figura 6:** Análise da atividade enzimática de Peroxidase (POX) em folhas de *Ormosia arborea* durante os diferentes períodos de alagamento.

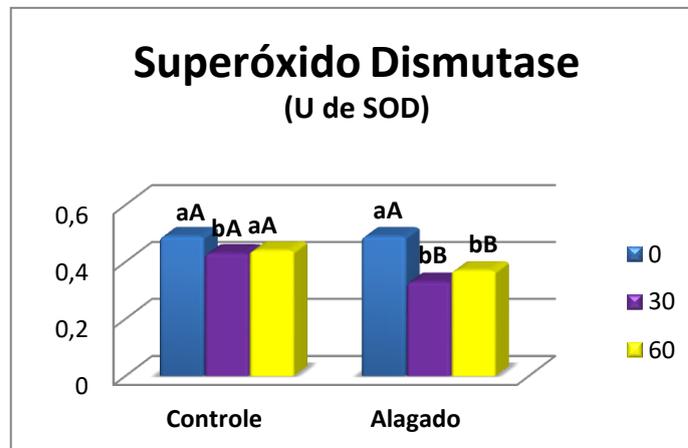


Letras maiúsculas comparam diferentes períodos de alagamentos no mesmo regime hídrico. Letras minúsculas comparam diferentes regimes hídricos no mesmo período de alagamento.

A POX tem papel fundamental no ciclo ascorbato-glutationa e elimina  $H_2O_2$  dos cloroplastos e citosol, sendo que mudanças na atividade desta enzima está relacionado com a tolerancia da planta em relação ao estresse oxidativo (LEE et al., 2001; SUDHAKAR et al., 2001). Existem inúmeras isoformas de POXs envolvidas nos processos celulares, estão localizadas na parede celular e vacúolo. as quais utilizam o peróxido de hidrogênio como oxidante e compostos fenólicos como doadores de elétrons, podem ser induzidas ou expressas em ambientes estressantes (BARBOSA et al., 2014).

As mudas alagadas apresentaram menor atividade de superóxido dismutase (SOD) quando comparadas ao controle (Figura 7). Essa produção inferior reflete num sistema de defesa antioxidativo baixo, ou seja, as folhas não estão sendo capazes de restabelecer ou combater significativamente o superóxido produzido.

**Figura 7:** Análise da atividade enzimática de Superóxido Dismutase (SOD) em folhas de *Ormosia arborea* durante os diferentes períodos de alagamento.



Letras maiúsculas comparam diferentes períodos de alagamentos no mesmo regime hídrico. Letras minúsculas comparam diferentes regimes hídricos no mesmo período de alagamento.

A baixa atividade da SOD pode indicar baixa produção de  $O_2$  o que justifica a alta atividade da POX, responsável pelo catabolismo do  $H_2O_2$  (MESSCHMIDT et al; 2015). O acetaldeído, acumulado sob essa condição de estresse, funciona como doador de elétrons ativando o  $O_2$  que, ao sofrer dismutação pela ação da SOD, forma  $H_2O_2$ . Os níveis de  $H_2O_2$  são regulados por diversas peroxidases como a POX (BLOKHINA et al; 2003).

A SOD são metaloenzimas que constituem a defesa primária das células contra os radicais superóxidos gerados em condições estressantes para a planta, um aumento da atividade da SOD confere tolerância ao estresse oxidativo (JALEEL et al., 2007). A SOD dismuta o  $O_2$  em  $H_2O_2$ , interferindo nos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) extremamente tóxicas aos seres vivos (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002). Entretanto, na presente pesquisa, *O. arborea* durante o período de estresse avaliado não foi eficiente em intensificar a atividade de SOD.

A capacidade da planta de se reestabelecer após o período de alagamento é fundamental para o estabelecimento de plantas em ambientes sujeitos a períodos de inundação. Com base nos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que mudas de *Ormosia arborea* possui um grande potencial de tolerância e adaptação a ambientes

alagados, sendo uma interessante opção de plantio em ambientes desfavoráveis como os de alagamento.

## 5. CONCLUSÃO

As mudas de *Ormosia arborea* embora sensíveis ao alagamento sobreviveram até os 60 dias. Não foi observado prejuízo na área foliar e índice de clorofila. Mas já sinalizaram sinais de estresse baseado na redução do *Fv/Fm* e alta atividade da Peroxidase aos 60 dias de alagamento.

## 6. REFERENCIAS

ALSCHER, R. G; ERTURK, N; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M.A.; Santos, A.O Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, 2000.

BHATTACHARJEE, S. The Language of Reactive Oxygen Species Signaling in Plants. **Journal of Botany**, 2012. doi:10.1155/2012/985298.

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

BOOIJ, R.; VALENZUELA, J. L.; AGUILERA, C. Determination of crop nitrogen status using non-invasive methods. In: HAVERKORT, A. J.; MACKERRON, D. K. L. (Eds.). **Management of nitrogen and water in potato production**. The Netherlands, Wageningen Pers, p. 72-82, 2000.

CARDOSO, D. B. O. S.; MEIRELES, J. E. Ormosia in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB29802>. Acesso em 26 de Setembro de 2019.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008.

CATANEO, A. C.; CHAMMA, K. L.; FERREIRA, L. C.; DÉSTRO, G. F. G.; DE SOUSA, D. C. F. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 2, p. 23-31, 2005.

CHAGAS, R. M. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativas em plantas de cana-deaçúcar (*Saccharum officinarum* L.) tratadas com paraquat**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

CIRILO, L. F.; MEDRI, M. E. Estudos da tolerância a hipoxia em populações naturais de *Parapiptadenia rigida* Benth. Brenan (Leguminosae-Mimosoidae). **ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, v. 11, 2002.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, v. 68, p. 821-829, 2013.

DEL LONGO, O. T.; GONZÁLES, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxy genic and hyperosmotic conditions in leaves of wolines of

maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v. 34, p. 1023-1028, 1993.

DREYER, E. Compared sensitivity of seedlings from 3 woody species (*Quercus robur* L, *Quercus rubra* L and *Fagus silvatica* L) to water-logging and associated root hypoxia: effects on water relations and photosynthesis. In: **Annales des Sciences Forestières**. EDP Sciences, p. 417-428, 1994.

DUARTE, M. R.; DRANKA, E. R. K.; YANO, M. Leaf Microscopic Characters of *Ormosia arborea* (Vell.) Harms, Fabaceae. **Latin America Journal of Pharmacy**, v. 31, n. 4, p. 526-530, 2012.

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

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GLAZ, B.; MORRIS, D. R.; DAROUB, S. H. Sugarcane photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance due to flooding and water table. **Crop Science**, v. 44, p. 1633-1641, 2004.

GRISI, F. A., ANGELO, A. C., BOEGER, M. R., LEITÃO, C. A. E., GALVÃO, S. F.; WENDLING, I. Morfoanatomia foliar em mudas de *Schinus terebinthifolius* sob diferentes níveis de saturação hídrica. **Floresta**, v. 41, n. 4, 2011.

GULSEN, O.; EICKHOFF, T.; HENG-MOSS, T.; SHEARMAN, R.; BAXENDALE, F.; SARATH, G.; LEE, D. Characterization of peroxidase changes in resistant and susceptible warm-season turf grasses challenged by *Blissus occiduus*. **Arthropod Plant Interact**, v. 4, p. 45-55, 2010.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.; SOMASUNDARUM, R.; PANNEERSELVAN, R. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, p. 110-116, 2007.

JUNGLOS, Fernanda Soares. **Germinação, emergência e crescimento de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms (Fabaceae) sob alagamento**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral/Bioprospecção) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2016.

KOZLOWSKI, T. T. Responses of woody plants to flooding. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Flooding and plant growth**. London: Academic Press p. 129 - 163. , 1984.

LEE, D. H.; KIM, Y.S.; LEE, C.B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Physiology**, v. 158, p. 737-745, 2001.

LENHARD, N. R.; SCALON, S. P. Q.; NOVELINO, J. O. Crescimento inicial de mudas de pau ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *leiostachya* Benth.) sob diferentes regimes hídricos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 870-877, 2010.

LIAO, C. T; LIN, C. H. Effect of flooding stress on photosynthetic activities of *Momordica charantia*. **Plant physiology and biochemistry (Paris)**, v. 32, n. 4, p. 479-485, 1994.

LIAO, C. T; LIN, C. H. Photosynthetic responses of grafted bitter melon seedlings to flood stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 2, p. 167-172, 1996.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras** - manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil - v. 01- 5. p. 384. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M.; SATO, H. H.; PARK, Y. K. **Bioquímica experimental dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 187p, 2005.

MAXWELL C.; JOHNSON, G. M. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668, 2000.

MESSCHMIDT, A. A., BIANCHI, V. J., ZANANDREA, I., MARTINAZZO, E. G., RADMANN, E. B., & BACARIN, M. A. Trocas gasosas e atividade antioxidante de

portaenxertos de *Prunus* spp. submetidos ao estresse seca e alagamento. **Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata**, v. 114, n. 1, p. 71-81, 2015.

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

MUNNÉ-BOSCH, S., QUEVAL, G; FOYER, C. H. The Impact of Global Change Factors on Redox Signaling Underpinning Stress Tolerance. **Plant Physiology**, v. 161, p. 5-19, 2013.

PEREIRA, W. F. **Trocas gasosas, fluorescência da clorofila, crescimento e composição mineral quatro portas-enxerto de citros submetidos a estresse por alumínio, em cultivo hidropônico**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, p.123 (Tese de Doutorado), 2001.

PEZESHKI, S. R. Differences in patterns of photosynthetic responses to hypoxia in flood-tolerant and flood-sensitive tree species. **Photosynthetica**, v. 28, p. 423-430, 1993.

PEZESHKI, S. R.; PARDUE, J. H.; DELAUNE, R. D. The influence of soil oxygen deficiency on alcohol dehydrogenase activity, root porosity, ethylene production and photosynthesis in *Spartina patens*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 33, n. 4, p. 565-573, 1993.

PIEKIELEK, W. P.; FOX, R. H. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. **Agronomy Journal**, n. 84, p. 59-65, 1992.

SAIRAM, R. K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P. S.; SRIVASTAVA, G. C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, v. 52, p. 401-412, 2008.

SANTIAGO, E. F.; PAOLI, A. A. S. O aumento em superfície em *Adelia membranifolia* (Müll. Arg.) Pax & K. Hoffm. e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., em resposta ao estresse por deficiência nutricional e alagamento do substrato. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 503-513, 2003.

SCHAFFER, B.; ANDERSEN, P. C.; PLOETZ, R. C. Responses of fruit trees to flooding. **Horticultural Reviews**, New York, v. 13, p. 257-313, 1992.

SENS, S. L. **Alternativas para auto sustentabilidade dos Xokleng da terra indígena Ibirama**. 2002. 366 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SHAO, H. B., LIANG, Z. S., SHAO, M. A., & Sun, Q. Dynamic Changes of Anti-Oxidative Enzymes of 10 Wheat Genotypes at Soil Water Deficits. **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, v. 42, Issues 3-4, p. 187-195, 2005.

SILVA, A. L.; DIAS, D. C. F. S.; LIMA, L. B.; MORAIS, G. A. Methods for overcoming seed dormancy in *Ormosia arborea* seeds, characterization and harvest time. **Journal of seed Science**, v. 36, n. 318-325, 2014.

SILVA, A. L.; MORAIS, G. A. Influencia de diferentes substratos no crescimento inicial de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms (Fabaceae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 4, p. 22-27, 2013.

SMEAL, D.; ZHANG, H. Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, n. 25, p. 1495-1503, 1994.

SOUZA, A. P. R. **Aspectos fisiológicos da emergência e crescimento inicial das mudas de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms em diferentes disponibilidades hídricas**. 2017. 115 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral/Bioprospecção) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2017.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 613-619, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 954 p., 2017.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, p. 1306-1320, 2012.

Will, R. E.; Seiler, J. R.; Feret, P. P.; Aust, W. M. Effects of rhizosphere inundation on the growth and physiology of wet and dry-site *Acer rubrum* (red maple) populations. **American Midland Naturalist**, p. 127-139, 1995.