

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal



Dissertação

**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE *Sapindus saponaria* L. SUBMETIDA
À RESTRIÇÃO HÍDRICA**

Rodrigo Fernando Eichholz

Pelotas, 2015

Rodrigo Fernando Eichholz

**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE *Sapindus saponaria* L. SUBMETIDA
À RESTRIÇÃO HÍDRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Sidnei Deuner

Co-Orientador: Prof. Dr. Luciano do Amarante

Conselheiro: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

E34c Eichholz, Rodrigo Fernando

Comportamento fisiológico de sapindus saponaria l.
submetidas à restrição hídrica / Rodrigo Fernando Eichholz ;
Sidnei Deuner, orientador ; Luciano do Amarante, Dario Munt
de Moraes, coorientadores. — Pelotas, 2015.

46 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação
em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade
Federal de Pelotas, 2015.

1. Saboneteira. 2. Estresse hídrico. 3. Crescimento. 4.
Estresse oxidativo. I. Deuner, Sidnei, orient. II. Amarante,
Luciano do, coorient. III. Moraes, Dario Munt de, coorient. IV.
Título.

CDD : 571.2

Banca Examinadora

Prof. Dr. Sidnei Deuner

Dr^a. Ariadne Ribeiro Henriques

Dr^a. Leticia Carvalho Benitez

Dr. Valmor João Bianchi (suplente)

Semeia um pensamento e colherás um desejo; semeia um desejo e colherás uma ação; semeia uma ação e colherás um hábito; semeia o hábito e colherás um caráter. (Galileu Galilei)

Dedico
À minha família
À minha mãe Malena Fiss Eichholz
Ao meu pai Orocildo Wilson Eichholz
AA minha vó Alida Perleberg Eichholz

AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar e guiar minha trajetória, em todos os momentos de minha vida, sempre me guiando nos momentos de fraqueza.

À Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de participar do programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal para a obtenção do grau de Mestre em Fisiologia Vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sidnei Deuner, pela oportunidade de ser seu orientado.

Aos colegas do PPGFV em especial à Angelita Celente Martins e à Gabriela Gerhardt da Rosa pela amizade e pelos momentos de descontração.

Aos amigos do grupo de Bioquímica Vegetal, Dominique Dellias, Junior Borella, Julio Vinueza e Kassia Cocco pela paciência, pelas ajudas, e também pelos momentos de risos e diversão. Agradeço a todos na realização deste trabalho.

RESUMO

Eichholz, Rodrigo Fernando. **Comportamento fisiológico de *Sapindus saponaria* L. submetida à restrição hídrica.** 2015. 46f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

A ação do homem sobre o meio ambiente traz consequências prejudiciais ao ecossistema; diferentes espécies, como a *Sapindus saponaria* L. são estabelecidas em plantios pioneiros na recuperação de áreas degradadas. Os vegetais, diante desses cenários, experimentam flutuações e estresses ambientais, como é o caso do estresse hídrico, caracterizado como uma das maiores causas de mortalidade e de retardo de crescimento de espécies nativas em áreas degradadas, atuando em diversos processos fisiológicos das plantas. Isto posto, o objetivo deste trabalho foi o de estudar as respostas fisiológicas de plantas de *S. saponaria* cultivadas em estágio inicial de desenvolvimento, sob condições de déficit hídrico. Para tanto, sementes foram semeadas em bandejas contendo substrato comercial e cultivadas em casa de vegetação. Após 60 dias da semeadura, as plantas foram transferidas para vasos plásticos, perfurados (capacidade de 8L), mantendo-se uma planta por vaso. Três meses após o transplante, os vasos foram pesados e a altura e diâmetro do caule das plantas aferidos. Neste momento, foram estabelecidos três regimes hídricos: irrigado, parcialmente irrigado e não irrigado; sob os quais as plantas foram cultivadas durante 75 dias, sendo feitas avaliações e coletas em intervalos de 15 dias. Foram avaliados parâmetros de crescimento, teor relativo de água em folhas, índice de clorofilas, teores de prolina, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, além da atividade de enzimas antioxidantes. Para cada período de avaliação foram coletadas quatro plantas por tratamento, sendo a unidade experimental composta por uma planta em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Com base nos resultados obtidos, plantas de *S. saponaria* parcialmente irrigadas apresentaram redução na taxa de crescimento, índices de clorofila *a* e *b* e atividade da APX somente a partir de 60 dias de estresse, embora observado um aumento significativo na peroxidação de lipídios aos 30 e 45 dias. Por outro lado, quando não irrigadas, não houve um padrão de respostas, mas em termos gerais pode-se inferir que há um nível de tolerância de até 45 dias de estresse, uma vez que após este período a maioria dos parâmetros avaliados apresentaram respostas negativas.

PALAVRAS - CHAVE: Saboneteira, estresse hídrico, crescimento, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Eichholz, Rodrigo Fernando. **Physiological behavior of *Sapindus saponaria* L. submitted to water restriction**. 2015. 46f. Dissertation (Master's) - Post-Graduate Program in Plant Physiology. Federal University of Pelotas, Pelotas-RS.

The man action on the environment carries injurious consequences to the ecosystem. Thus, different species, such as *Sapindus saponaria* L., are being established in pioneer plantations in degraded areas. The plants, on these scenarios, experience fluctuations and environmental stresses, such as water stress, characterized as a major cause of mortality and growth retardation of native species in degraded areas, acting in several physiological processes of plants. Based on this, the aim of the work was to study the physiological responses in *S. saponaria* plants grown in early development stage under drought conditions. For this, seeds were seeded in trays containing commercial substrate and grown in the greenhouse. After 60 days from seeding, the plants were transferred to perforated plastic pots (8L capacity), keeping one plant per pot. Three months after transplantation, the pots were weighed and the heights and the stem diameters of plants were measured. This time were established three irrigation levels: irrigated, partially irrigated and non-irrigated, under which the plants were grown for 75 days; reviews and collections were made every 15 days. Growth parameters, relative water content in leaves, chlorophyll index, proline contents, hydrogen peroxide and lipid peroxidation, as well as activity of antioxidant enzymes were evaluated. For each evaluation period were collected four plants per treatment, and the experimental unit consisting of a plant in a completely randomized design. The results were submitted to analysis of variance, and means were compared by Tukey test at 5% probability. Based on the results, *S. saponaria* plants partially irrigated shown reduced growth rate, chlorophyll index and APX activity only after 60 days of stress, although a it was a significant increase in lipid peroxidation at 30 and 45 days. On the other hand, when non-irrigated, there was no response pattern, but in general terms, the results may indicate a tolerance level within 45 days the stress. After this period, the majority of parameters showed negative responses.

KEYWORDS: Soap, water stress, growth, oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado.

Figura 2. Altura (A), Diâmetro do caule (B) e Teor relativo de água (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Barras hachuradas representam a taxa de crescimento das plantas em cada condição hídrica ao longo do período avaliado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Figura 3. Clorofila *a* (A), Clorofila *b* (B) e Clorofila total (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Figura 4. Teor de Prolina livre (A), Peróxido de hidrogênio (B) e Peroxidação lipídica (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Figura 5. Atividade específica das enzimas antioxidantes, Superóxido dismutase - SOD (A), Catalase - CAT (B) e Ascorbato peroxidase - APX (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Revisão bibliográfica.....	12
2.1. <i>Sapindus saponaria</i>	12
2.2. Déficit hídrico.....	14
2.2.1 Mecanismos de tolerância ao déficit hídrico.....	15
3. Material e métodos.....	17
3.1. Material vegetal e condições de crescimento.....	17
3.2. Análise de crescimento.....	18
3.3. Índice de clorofilas.....	19
3.4. Análises bioquímicas e enzimáticas.....	19
4. Resultados e discussão.....	22
5. Conclusão.....	35
Referências.....	36

1. Introdução

A utilização dos recursos naturais pelo ser humano nunca foi tão questionada como na atualidade. O meio científico tem se esforçado em estudar formas de recuperação de ecossistemas degradados pelo homem para a manutenção de todas as formas de vida existentes no planeta (ALVARENGA; BOTELHO; PEREIRA, 2006).

A falta de planejamento no uso desses recursos tem resultado na degradação dos ecossistemas florestais. A ação do homem sobre o meio ambiente traz consequências prejudiciais ao ecossistema. Diante disso, diferentes espécies são estabelecidas em plantios pioneiros na recuperação de áreas degradadas (SANTOS *et al.*, 2012). Dentre elas, destaca-se a *Sapindus saponaria* L., pertencente à família Sapindaceae, conhecida popularmente como sabão-de-soldado, saboneteira e sabão-de-macaco (SOUZA & LORENZI, 2005).

Aspectos relacionados à fisiologia das árvores tropicais têm recebido grande atenção, uma vez que modificações no cenário florestal (desmatamentos, queimadas e degradação de solos) refletem diretamente no funcionamento das plantas e criam incertezas no planejamento de programas de manejo florestal sustentável ou de produção florestal (GEBREKIRSTOS *et al.*, 2006; REINHARDT *et al.*, 2007). Diante disso, as espécies vegetais experimentam flutuações ambientais e estresses que modificam a sua morfologia e a taxa de desenvolvimento, limitando assim a sua produção e alterando a sua qualidade (BUXTON & FALES, 1994).

O estresse hídrico é uma das maiores causas de mortalidade e de deficiência de crescimento de espécies nativas em áreas degradadas, atuando em diversos processos fisiológicos das plantas. Em condições de baixa disponibilidade de água no solo, vários processos do metabolismo vegetal podem ser influenciados, como o fechamento estomático, a redução da condutância estomática, a redução da fotossíntese e a transpiração, levando ao declínio da taxa de crescimento (SCALON *et al.*, 2011). A deficiência hídrica também causa acentuada senescência foliar e restrição ao surgimento de

novas folhas, e o grau dessas alterações é decorrente da intensidade do estresse hídrico e dependente do genótipo (SMIT & SINGELS, 2006). Desta forma, torna-se importante o estudo do comportamento dos vegetais com relação a esse fator limitante, no que diz respeito ao estabelecimento e ao desenvolvimento inicial da planta e à capacidade desta em resistir a estresses ambientais. Assim, plantas que apresentam maior tolerância ao estresse hídrico podem ser priorizadas em projetos de recuperação de áreas degradadas (OLIVEIRA *et al.*, 2005). O objetivo deste trabalho foi o de estudar o comportamento fisiológico de plantas de *S. saponaria* cultivadas sob condições de déficit hídrico durante o estágio inicial de desenvolvimento.

2. Revisão bibliográfica

2.1. *Sapindus saponaria*

A família Sapindaceae abrange aproximadamente 150 gêneros e cerca de 2000 espécies. Abundante na Ásia e na América, apresenta hábito muito diversificado, sendo principalmente de clima tropical (GOOD, 1974). *Sapindus* significa “sabão da Índia”, em latim, enquanto *saponaria* refere-se à substância saponificante chamada de saponina, encontrada nos frutos (OKLAHOMA BIOLOGICAL SURVEY, 2003). Os nomes vulgares derivam da substância que espuma em contato com a água, a saponina (BRANDÃO *et al.*, 2002). Segundo Grisi *et al.* (2013), *Sapindus saponaria* L., conhecida popularmente como sabão-de-soldado, saboneteira e sabão-de-macaco, é uma espécie arbórea distribuída regularmente nos estados das regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil. Essa espécie possui distribuição marcante na região amazônica, com grande importância para o reflorestamento de áreas degradadas, bem como, para a exploração econômica de sua madeira empregada na construção civil, confecção de brinquedos e o uso de suas sementes para o artesanato (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

A *S. saponaria* é uma planta pereniforme ou semidecídua, de ocorrência em florestas pluviais e semi-decíduas. A demanda por sementes e mudas desta espécie tem aumentado para o plantio como árvore ornamental devido ao baixo porte (até 8 m), copa densa e globosa e, também, como planta

medicinal, pois suas raízes, frutos e casca apresentam substâncias adstringentes, antiespasmódicas, calmantes e antitussígenas (LORENZI, 2002), que também podem inibir a germinação e o crescimento de outras espécies (OLIVEIRA *et al.*, 2012). As saponinas presentes nos seus frutos possuem propriedades tensoativas e farmacológicas. Esses compostos são classificados como triterpenóides e apresentam atividade antiulcerativa e antineoplásica (ALBIERO *et al.*, 2001). Embora se conheça a composição fitoquímica do fruto dessa espécie e seus efeitos como propriedades farmacêuticas, poucos trabalhos referem-se ao seu potencial alelopático sobre outras espécies de plantas. O interesse na exploração de compostos do metabolismo secundário é visto como uma alternativa estratégica na agricultura, inclusive para o controle de ervas daninhas (ALVES *et al.*, 2003).



Figura 1. Plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado.

Fonte: Rodrigo Eichholz - 2014

A propagação dessa espécie pode ser realizada por sementes ou por estacas (FERRIANI *et al.*, 2010). A *S. saponaria* produz anualmente grande

quantidade de sementes com viabilidade de armazenamento superior a um ano. Na produção de mudas por sementes, os frutos devem ser coletados diretamente da árvore e, quando iniciarem sua queda espontânea, devem ser levados ao sol para secar e facilitar a retirada das sementes, que podem germinar sem tratamento, porém, com taxas geralmente moderadas a baixas (LORENZI, 1992). A dormência das sementes é resultante do tegumento impermeável que as reveste; as condições ideais para o teste de germinação ainda não foram definidas (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

2.2. Déficit hídrico

As plantas, durante o seu ciclo de vida, estão expostas a diversas situações desfavoráveis, como desequilíbrios ou estresses, ao nível do seu desenvolvimento e crescimento, afetando a produtividade. Neste contexto, um estresse representa uma alteração significativa das condições favoráveis ao crescimento e ao desenvolvimento normal de um organismo, o que origina uma resposta, aos diferentes níveis que passam por alterações fisiológicas, bioquímicas, moleculares e ainda na expressão de genes (BUCHANAN *et al.*, 2000).

As respostas são desencadeadas numa tentativa da planta de contornar os efeitos potencialmente prejudiciais causados por ambos os tipos de estresse biótico ou abiótico, incluindo luminosidade, seca, salinidade e variações de temperaturas (REDDY *et al.*, 2004; SHAO & CHU, 2005; JALEEL *et al.*, 2006; SHAO *et al.*, 2008). Alterações nos fatores abióticos afetam a atividade fisiológica das plantas em suas diferentes fases de crescimento. Fatores como alta irradiância e baixa disponibilidade hídrica tornam mais difícil o sucesso no estabelecimento das plantas na fase juvenil (SILVA, 2009).

O déficit hídrico é um dos principais fatores adversos que limitam o crescimento vegetal e a produtividade da planta devido, principalmente, à redução do potencial hídrico foliar, ao fechamento estomático que provoca o declínio da condutância estomática reduzindo a concentração interna de CO₂ e, conseqüentemente, diminuindo a taxa fotossintética, promovendo um aumento na formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e estresse oxidativo,

dentre outras alterações bioquímicas e moleculares (HONG-BO, 2008). O estresse hídrico é produzido tanto por deficiência de água no solo quanto por perda excessiva pela transpiração em relação à absorção feita pelas raízes, sendo esses processos influenciados por fatores ambientais e por características da própria planta (SANT'ANNA, 2009). O conhecimento das respostas de crescimento e desenvolvimento, moleculares e bioquímicas é fundamental para o entendimento dos mecanismos de defesa das plantas superiores submetidas à condição de falta d'água (REDDY *et al.*, 2004; SHAO & CHU, 2005; JALEEL *et al.*, 2006; SHAO *et al.*, 2008).

Segundo LECHINOSKI *et al.* (2007) é necessário conhecer os mecanismos fisiológicos e bioquímicos de resposta de cada espécie a esse tipo de estresse. Os mesmos autores ainda ressaltam que fatores ambientais que interferem no mecanismo de absorção e assimilação de água e nutrientes terão influência negativa sobre o metabolismo das plantas, diminuindo o crescimento e produtividade das culturas.

2.2.1 Mecanismos de tolerância ao déficit hídrico.

As condições de estresse biótico e abiótico impostas às plantas induzem a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo causar danos às estruturas celulares e mesmo acarretar a morte da planta (BARBOSA *et al.*, 2014). Os organismos aeróbicos, quando em condições adversas, aumentam a produção de EROs, tais como radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radicais hidroxila (OH^{\cdot}) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) durante o metabolismo do oxigênio (BOWLER *et al.*, 1992; SCANDALIOS, 1993). Para eliminar esses compostos, as plantas apresentam sistemas enzimáticos antioxidantes que constituem uma importante defesa primária contra os radicais livres (CARNEIRO *et al.*, 2011).

As superóxido dismutases (SODs) desempenham papel chave no sistema de defesa antioxidante através da dismutação de $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 e O_2 . A catalase (CAT) produz água (H_2O) e oxigênio (O_2) a partir do H_2O_2 ; e enzimas do ciclo ascorbato-glutationa, como a ascorbato peroxidase (APX), detoxifica o H_2O_2 produzido pela SOD e as peroxidases (MANIVANNAN *et al.*, 2008; BEN

AHMED *et al.*, 2009; JALEEL *et al.*, 2009). A SOD está presente em todos os compartimentos celulares susceptíveis ao estresse oxidativo (BOWLER *et al.*, 1992). A CAT e a APX localizam-se, predominantemente, em peroxissomas, entretanto, pode ser encontrada também no citosol, em mitocôndrias ou em cloroplastos (CAKMAK *et al.*, 1993; WILLEKENS *et al.*, 1995; NEMOTO *et al.*, 1996; CAVERZAN, 2008; PIRES, 2012).

O H_2O_2 é uma EROs moderadamente reativa com uma meia-vida relativamente longa e cujo pequeno tamanho permite-lhe atravessar membranas celulares e migrar em compartimentos diferentes. Dessa forma, difunde os danos e também atua como um mensageiro nas condições de estresse. O H_2O_2 tem ação deletéria, porque participa da reação formadora de OH^\bullet , o oxidante mais reativo na família das EROs (GADJEV *et al.*, 2008; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

A indução da peroxidação de lipídeos é um dos efeitos mais danosos das EROs e um indicativo de sua produção, devido à sua reação com ácidos graxos insaturados, causando a ruptura de membranas essenciais da plasmalema ou de outras organelas intracelulares, formando compostos como o Malondialdeído (MDA) (PEREIRA & PEREIRA, 2012; LIRA, 2012; COSTA, 2012). Assim, a consequência direta do dano às membranas celulares pela peroxidação lipídica é o extravasamento do conteúdo celular (KRUSE *et al.*, 2006).

A prolina, além de ser um aminoácido essencial, também desempenha um papel fundamental de osmorregulação, osmoproteção, estabilizando as proteínas e removendo as EROs em plantas submetidas a estresse hídrico. MOLINARI *et al.* (2007) observaram que a prolina em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico atuou mais como um agente antioxidante do que como um osmoprotetor, já que não ocorreu ajustamento osmótico nessas plantas em solos secos, havendo, porém, proteção do aparato fotossintético.

Enquanto algumas plantas são mais tolerantes a situações de déficit hídrico e possuem maior capacidade de resposta, outras são incapazes de produzir determinadas proteínas ou metabólitos necessários nas respostas

fisiológicas, bioquímicas e moleculares, tornando-se menos tolerantes ou sensíveis ao estresse (CATTIVELLI *et al.*, 2008).

3. Material e métodos

3.1. Material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação em condições ideais de temperatura e luminosidade, pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal – UFPel, situada no município do Capão do Leão, RS. Os frutos de *Sapindus saponaria* L. (saboneteira), foram coletados em oito árvores matrizes em Brasília – DF no dia 05 de dezembro de 2011 e as sementes foram beneficiadas manualmente com auxílio de faca/canivete. Após, as sementes foram acondicionadas em sacos de tecido e encaminhadas para a Universidade Federal de Pelotas, em Pelotas- RS. E armazenadas em câmara fria a temperatura de $22 \pm 6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa em torno de 62%, no Laboratório de Análise de Sementes (LAS). Para a superação da dormência das sementes de *S. saponaria*, foi realizada a escarificação química com ácido sulfúrico concentrado, durante 60 minutos. Após, as sementes foram lavadas com água para eliminar o excesso do ácido. Após o processo de escarificação, as sementes foram semeadas em bandejas multicelulares de polipropileno expandido contendo turfa fértil como substrato. Decorridos dois meses, as plantas foram transferidas para vasos plásticos com capacidade para oito litros, utilizando como substrato uma mistura de solo, esterco bovino e areia nas proporções de 3:1:1. Cada vaso continha uma planta e durante o seu estabelecimento, foram diariamente irrigadas para manter o substrato úmido próximo à capacidade de campo.

Três meses após o transplante, os vasos foram pesados (Kg) individualmente e a altura e o diâmetro do caule (cm) das plantas aferidos. Neste momento, foram estabelecidos três regimes hídricos sob os quais as plantas foram cultivadas durante 75 dias, sendo as coletas para as análises descritas abaixo realizadas em intervalos de 15 dias. Os tratamentos foram: Irrigado (I) - com base no peso inicial dos vasos, a cada três dias foram novamente pesados e a perda de peso resposta em volume de água, buscando

manter o substrato próximo à capacidade de campo; Parcialmente irrigado (PI) - os vasos também foram pesados em intervalos de três dias e a redução no peso repostada em volume de água, entretanto, para simular uma suspensão gradual da irrigação, ao final de cada intervalo de 15 dias, o volume de água aplicado foi reduzido em 25%, até o período em que a mesma foi completamente suspensa; Não irrigado (NI) - ao iniciar o período de avaliações, as plantas deste tratamento tiveram sua irrigação completamente suspensa.

Para cada período de avaliação foram coletadas quatro plantas por tratamento, sendo a unidade experimental composta por uma planta em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

3.2. Análise de crescimento

A altura das plantas (cm) foi determinada com o auxílio de uma régua graduada, medindo-se a distância entre o coleto e o ápice caulinar de cada planta. O diâmetro do caule (cm) foi aferido com o auxílio de um paquímetro, sendo as medidas realizadas a uma altura média de 2 cm acima da superfície do solo. As medidas da altura e do diâmetro do caule foram realizadas em todas as plantas no momento da submissão aos regimes hídricos e posteriormente em cada período de coleta das plantas com o objetivo de expressar a taxa de crescimento em cada condição hídrica ao longo do período.

Além dos parâmetros acima citados, foi determinado ainda o teor relativo de água (TRA%) foliar. Para tanto, de cada planta, nos referidos tratamentos, foram retirados oito discos foliares com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, os quais foram pesados para a determinação da massa fresca e em seguida colocados em placas de Petri, imersos em água destilada. Após 24 horas, foram enxugados superficialmente para retirar o excesso de água e novamente pesados para a obtenção da massa túrgida e, logo em seguida, acondicionados em sacos de papel e levados à estufa de circulação forçada de ar a 65°C, durante 72h, para a determinação da massa seca. De posse dos

dados de massa fresca (MF), massa túrgida (MT) e massa seca (MS), foi calculado o teor relativo de água (TRA %), conforme a fórmula:

$$TRA = [(MF - MS) / (MT - MS)] \times 100.$$

3.3. Índice de clorofilas

Avaliado no início da manhã, entre 09 e 10 horas, com o auxílio de um clorofilômetro digital modelo SOIL CONTROL (CFL-1030). As medidas foram realizadas em folhas completamente expandidas do terço médio de cada planta, totalizando 16 leituras por tratamento em cada período de coleta.

3.4. Análises bioquímicas e enzimáticas

Em cada período de coleta, folhas completamente expandidas de quatro plantas por tratamento foram retiradas e acondicionadas em envelopes de papel alumínio diretamente em gelo, seguido do seu armazenamento em ultrafreezer a - 80 °C até o momento da determinação dos teores de prolina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e peroxidação lipídica bem como a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

Prolina: O aminoácido prolina foi quantificado com base na metodologia descrita por BATES *et al.* (1973), modificada por BEZERRA NETO & BARRETO (2011). Amostras de 200 mg de folhas foram maceradas em N₂ líquido, seguido da adição de ácido sulfossalicílico a 3% em homogeneizador. O extrato obtido foi centrifugado por 10 minutos a 1.000 g. Do extrato centrifugado foram retirados 0,5 mL e transferidos para tubo de ensaio, somado a 2,0 mL de ninhidrina ácida, 2,0 mL de ácido acético glacial e 2,5 mL de água destilada; em seguida os tubos foram tampados e colocados em banho-maria por uma hora a 100°C e transferidos, imediatamente, para banho de gelo durante 10 minutos. Após esse procedimento, foram acrescentados 4,0 mL de tolueno e os tubos agitados vigorosamente, por 20 segundos, para a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado da fase aquosa, do qual procederam as leituras em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 520 nm. A

concentração do aminoácido prolina foi determinada usando-se a curva padrão, preparada com concentrações conhecidas de prolina: 0; 0,10; 0,25; 0,50; 1,0; 1,50 e 2 mg L⁻¹.

Peróxido de hidrogênio e Peroxidação lipídica: Para a quantificação destes compostos, os extratos foram obtidos através da maceração de 200 mg de tecido foliar em N₂ líquido, acrescido de 20% de PVPP e homogeneizado em uma solução de 0,1% (p/v) de ácido tricloacético (TCA), seguido de centrifugação a 12.000 g por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para tubos eppendorf e em seguida o extrato utilizado para as respectivas quantificações.

O H₂O₂ foi estimado segundo metodologia descrita por VELIKOVA *et al.* (2000), onde, 0,5 mL do sobrenadante foram adicionados a 0,5 mL de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1 M. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 390 nm e o teor de H₂O₂ calculado através da comparação das leituras com curva padrão obtida a partir de concentrações conhecidas de H₂O₂.

A peroxidação dos lipídios de membrana foi quantificada por meio da medição da concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme CAKMAK; HORTS (1991). Desta forma, 250 µL do sobrenadante obtido acima, foram adicionados a 1 mL da solução contendo 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (p/v) de TCA. O TBA forma complexos de cor avermelhada, com aldeídos de baixo peso molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. O meio de reação foi incubado a 95 °C por 30 minutos mantendo os tubos fechados, e a reação paralisada pelo resfriamento rápido em banho de gelo e água. A absorbância das TBARS formadas foi determinada em espectrofotômetro a 535 nm e 600 nm e a concentração do complexo MDA/TBA calculada pela seguinte equação:

$$[\text{MDA}] = (A_{535} - A_{600})/(\xi \cdot b),$$

onde:

ξ (coeficiente de extinção = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$) e b: (comprimento ótico = 1).

Atividade enzimática antioxidante: Para a quantificação da atividade específica das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), aproximadamente 250 mg de tecido foliar foram macerados em N₂ líquido acrescido de 20% de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) e homogeneizados em 1,5 mL do seguinte tampão de extração: Fosfato de potássio 100 mM pH 7,0, EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 10 min a 4 °C e o sobrenadante coletado para posterior análises enzimáticas.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLIS & RIES, 1977), em um meio de reação composto por fosfato de potássio 100 mM pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM. Os tubos com o meio de reação e a amostra foram iluminados por 7 minutos, com uma lâmpada fluorescente de 20W. Para o controle, o mesmo meio de reação sem a amostra foi iluminado. O branco permaneceu no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da atividade enzimática realizado conforme a equação:

$$\% \text{ DE INIBIÇÃO} = (A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$$

Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

A atividade da CAT foi determinada conforme descrito por AZEVEDO *et al.* (1998), com pequenas modificações onde, a sua atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm durante dois minutos em um meio de reação incubado a 28 °C contendo tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM.

A atividade da APX foi determinada segundo NAKANO; ASADA (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. O meio de reação composto de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,0, ácido ascórbico 0,5 mM e H₂O₂ 0,1 mM foi incubado a 28 °C. O decréscimo na absorbância foi monitorado por um período de dois minutos a partir do início da reação.

4. Resultados e discussão

O crescimento, em termos de altura da planta, é um parâmetro biométrico importante em pesquisas relacionadas à disponibilidade hídrica, produzindo a modificação mais notória do crescimento, especialmente na idade juvenil em que é fácil observar a rapidez da modificação em altura em períodos curtos de tempo (ENCINAS *et al.*, 2005). No presente estudo, as plantas de *S. saponaria* não apresentaram diferença significativa na variável resposta altura da planta entre os regimes hídricos até os 45 dias (Figura 1A). Entretanto, aos 60 e 75 dias após a indução dos tratamentos, o crescimento das plantas parcialmente irrigadas (PI) e não irrigadas (NI) foi afetado, sendo seus valores médios, significativamente inferiores ao observado nas plantas irrigadas (I).

Ao avaliar o diâmetro do caule (Figura 1B), diferença significativa entre os tratamentos foi observada a partir dos 45 dias de avaliação. Neste período, plantas NI apresentaram um diâmetro de caule significativamente menor que plantas I e PI. Já aos 60 dias, houve diferença significativa entre os três tratamentos e aos 75 dias, menores valores para os tratamentos PI e NI, os quais não diferiram entre si.

Para o teor relativo de água avaliado nas folhas de *S. saponaria* (Figura 1C), aos 45 e 60 dias houve redução significativa para as plantas NI. Já aos 75 dias, além das plantas do tratamento NI, as plantas PI também apresentaram teor relativo de água significativamente inferior ao tratamento controle (I). Com base nos resultados apresentados, quanto maior o período de exposição ao déficit hídrico, menor foi o teor de água encontrado nas folhas de *S. saponaria*.

A oscilação no regime hídrico gera modificações no metabolismo das plantas, resultando em variações no padrão de crescimento e desenvolvimento. Sabe-se que o crescimento das plantas é consequência de uma complexa cadeia de eventos relacionados à produção fotossintética, consumo de fotoassimilados e eficiência de utilização de recursos como água e nutrientes (PRADO *et al.*, 2007; RIBEIRO; MACHADO, 2007; BUENO *et al.*, 2012).

Os resultados apresentados neste trabalho estão de acordo com estudos realizados por VILLAGRA; CAVAGNARO (2006), em que foi evidenciado um menor crescimento em altura das plantas de duas espécies do

gênero *Prosopis* (*P. argentina* e *P. alata*) quando submetidas a déficit hídrico a partir de 40 dias de estresse. Em plantas de *Coffea canephora* observou-se redução significativa na altura de plantas submetidas a 35 dias de estresse hídrico, em relação às plantas que foram irrigadas regularmente (PIZETTA *et al.*, 2012). Em estudo com clones de eucalipto submetidos à restrição hídrica total, REIS *et al.* (2006) observaram reduções no diâmetro do caule em todos os clones avaliados em relação a plantas que estavam sendo irrigadas diariamente. Analisando o déficit hídrico em *Coffea canephora*, em estágio inicial de desenvolvimento, Dardengo *et al.* (2009) verificaram que houve redução no diâmetro de caule e Zonta *et al.* (2009), trabalhando com a mesma espécie, relacionaram os menores valores de diâmetro de caule com maiores intervalos de irrigação.

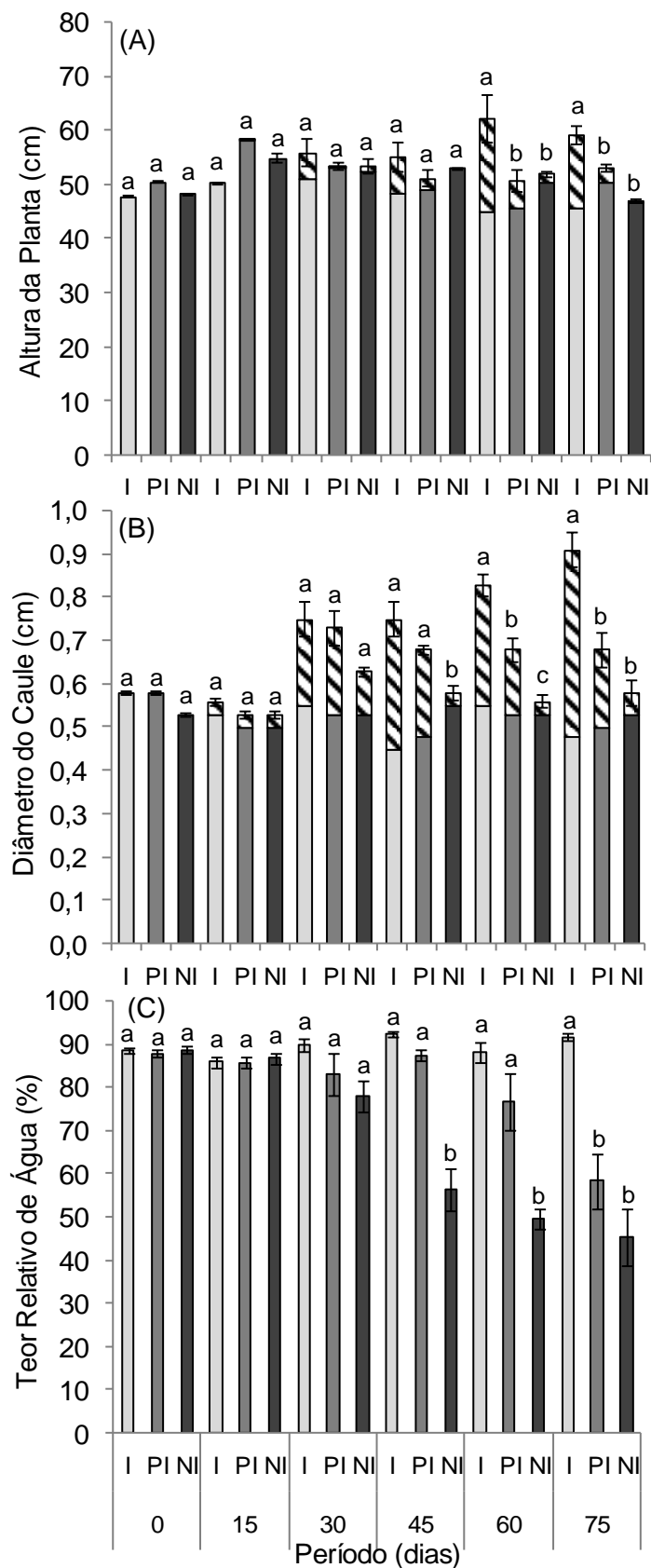


Figura 2. Altura (A), Diâmetro do caule (B) e Teor relativo de água (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Barras hachuradas representam a taxa de crescimento das plantas em cada condição hídrica ao longo do período avaliado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Barras de erro referem-se ao erro padrão das médias de quatro repetições.

De acordo com Sausen (2007) e Pincelli (2010), o processo mais sensível a baixa disponibilidade de água no solo é o crescimento celular, sendo a divisão e expansão celular diretamente inibidas pelo estresse hídrico. Por este motivo a redução do crescimento é considerada a primeira e mais séria consequência da restrição hídrica nos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2013). De acordo com Geronimo (2014), uma forma de expressar a deficiência de água em tecidos vegetais é através do status de energia da água, ou seu potencial total, uma vez que as condições hídricas dos vegetais estão correlacionadas com o teor de água nas folhas. Assim, alguns parâmetros fisiológicos mostram-se muito sensíveis e podem estar correlacionados com a tolerância ao déficit hídrico, tais como o teor relativo de água foliar (SILVA *et al.*, 2007). Desta forma, o conteúdo relativo de água foliar é um indicador-chave do grau de hidratação de células e tecidos e, portanto, um fator crucial para processos de crescimento e funcionamento fisiológico (SILVA *et al.*, 2007).

Segundo PINHEIRO *et al.* (2005), DEUNER *et al.* (2008) e NASCIMENTO *et al.* (2008), o fechamento dos estômatos parece ser uma das primeiras estratégias para minimizar a perda de água decorrente da transpiração em condições de baixo potencial hídrico. Porém, este processo causa redução na assimilação fotossintética de CO₂, e o crescimento e a adaptação das plantas a diferentes condições ambientais estão relacionados à eficiência fotossintética que, por sua vez, está associada aos teores de pigmentos na folha (SCHLEMMER *et al.*, 2005).

Analisando o índice de clorofilas nas plantas de *S. saponaria*, diferença significativa para clorofila *a* foi observada a partir dos 45 dias da indução dos tratamentos. Assim, aos 45 dias, as plantas NI apresentaram a maior redução e, aos 60 e 75 dias, todos os tratamentos diferiram significativamente entre si, sendo os teores deste pigmento negativamente afetados pelo déficit hídrico (Figura 2A).

Quanto ao índice de clorofila *b*, aos 15 dias de estresse, as plantas PI apresentaram valores inferiores, diferindo das demais (Figura 2B). A partir de 30 dias, plantas do tratamento NI expressaram significativa redução em clorofila *b* e para as plantas PI, este comportamento foi observado a partir dos 60 dias, período em que sua irrigação foi completamente suspensa.

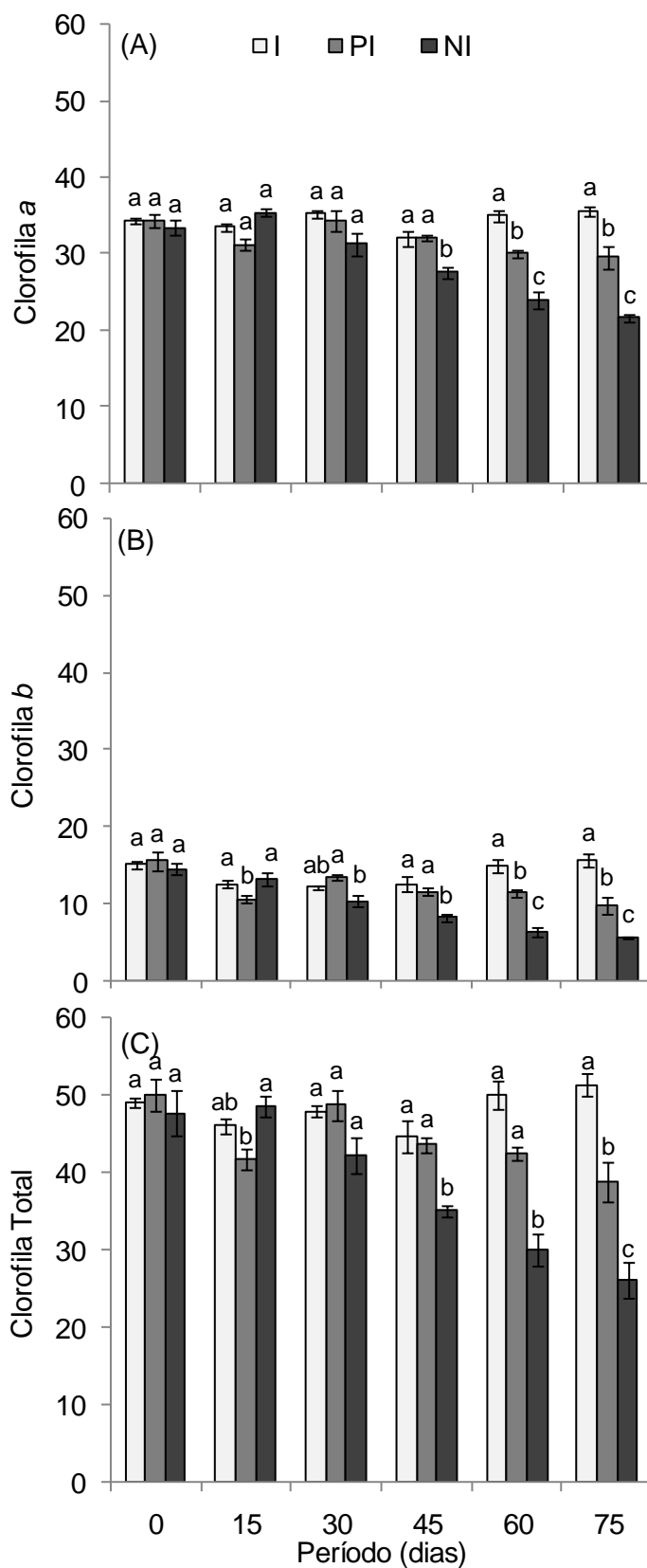


Figura 3. Índice de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e clorofila total (C) de plantas de *S. saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Barras de erro referem-se ao erro padrão das médias de quatro repetições.

Com base nas variações entre os índices de clorofila *a* e *b*, diferenças mais expressivas em clorofila total foram observadas a partir dos 45 dias, com redução significativa nas plantas NI em relação aos demais tratamentos e, aos 75 dias, todos os tratamentos diferiram significativamente (Figura 2C).

Resultados similares foram encontrados em graviola cultivada durante 40 dias sob suspensão hídrica, promovendo decréscimo nos teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides (OLIVEIRA *et al.*, 2013), corroborando com resultados encontrados no presente estudo. Menores valores de clorofila sob deficiência hídrica também tem sido relatado em plantas de girassol (KIANI *et al.*, 2008) e *Catharanthus roseus* (JALEEL *et al.*, 2006).

O conteúdo de clorofila em folhas pode ser considerado uma variável bastante importante e indispensável para a discriminação de algumas espécies quanto à tolerância e suscetibilidade ao estresse hídrico (SILVA *et al.*, 2014). A degradação da clorofila é uma das consequências ao estresse que pode ser resultado da foto-inibição e diminuição da eficiência fotossintética, entre outros processos celulares, como a divisão e expansão celular (ARAÚJO & DEMINICIS, 2009). Portanto, é esperado que plantas que apresentem redução nesses pigmentos sob deficiência hídrica, tenham menor capacidade de tolerar essa condição, devido à estreita relação entre clorofilas, potencial fotossintético e produtividade (O'NEILL *et al.*, 2006).

Entretanto, vários mecanismos de proteção são ativados nas plantas em resposta a condições adversas de crescimento. O ajuste osmótico constitui-se um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes para manutenção da turgescência celular, sob condições de baixo potencial hídrico no solo (MARIJUAN & BOSCH, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2014).

Os resultados da quantificação de prolina em folhas de *S. saponaria* demonstraram um aumento expressivo nos seus teores devido ao estresse hídrico (Figura 3A). Entre 15 e 60 dias, plantas do tratamento NI apresentaram valores crescentes de prolina, diferindo do controle e do tratamento PI. Aos 75 dias, houve um significativo aumento em prolina nas plantas do tratamento PI, atingindo valores semelhantes aos observados nas plantas NI, o que pode ser justificado pela suspensão da irrigação das plantas PI a partir dos 60 dias da

indução dos tratamentos. Estes resultados demonstram que quanto maior o tempo de estresse, maior foi o acúmulo desse aminoácido nas folhas.

Durante situações de seca e alta salinidade, o acúmulo de prolina resulta em aumento na osmolaridade da célula, que leva ao influxo de água ou redução no efluxo, promovendo a manutenção do turgor necessário para a expansão celular (KAVI KISHOR *et al.*, 2005). Essa afirmativa é contrária aos resultados obtidos no presente trabalho, pois mesmo com o acúmulo deste aminoácido, as plantas cultivadas no regime hídrico NI apresentaram redução na altura (Figura 1A), diâmetro caulinar (Figura 1B) e teor relativo de água (Figura 1C) aos 60, 45 e 45 dias após indução de tratamentos, respectivamente. Porém, segundo MONTEIRO *et al.* (2014), o ajuste osmótico confere proteção por curtos períodos de tempo de estresse e é importante quando as condições não tardam a se normalizar.

O acúmulo de prolina tem sido amplamente relatado em diversas espécies de plantas sob condições de déficit hídrico, como em *Vigna* sp. (HAMIDOU *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2010), milho (EFEOĞLU *et al.*, 2009), andiroba (SILVA, 2009), *Swietenia macrophylla* (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013), *Cajanus cajan* MONTEIRO *et al.*, (2014), dentre outras, sendo esse osmólito considerado um marcador bioquímico de estresse, atuando, principalmente, na estabilização de proteínas e na proteção das membranas contra os efeitos deletérios das EROs (SHARMA & DUBEY, 2005).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), uma das EROs mais estáveis, é um componente vital para o desenvolvimento, metabolismo e homeostase de diferentes organismos (BIENERT *et al.*, 2006), pois está envolvido nos processos de aclimatação e defesa (SLESÁK *et al.*, 2007). Em relação aos teores de H_2O_2 em plantas *S. saponaria* (Figura 3B), aos 15 dias de estresse, plantas PI e NI apresentaram valores semelhantes, porém significativamente superiores ao controle. Já dos 30 aos 75 dias de estresse, as plantas NI apresentaram um aumento significativo nos níveis de H_2O_2 , diferindo dos demais tratamentos, sendo esta diferença crescente e mais acentuada nos três últimos períodos de avaliação.

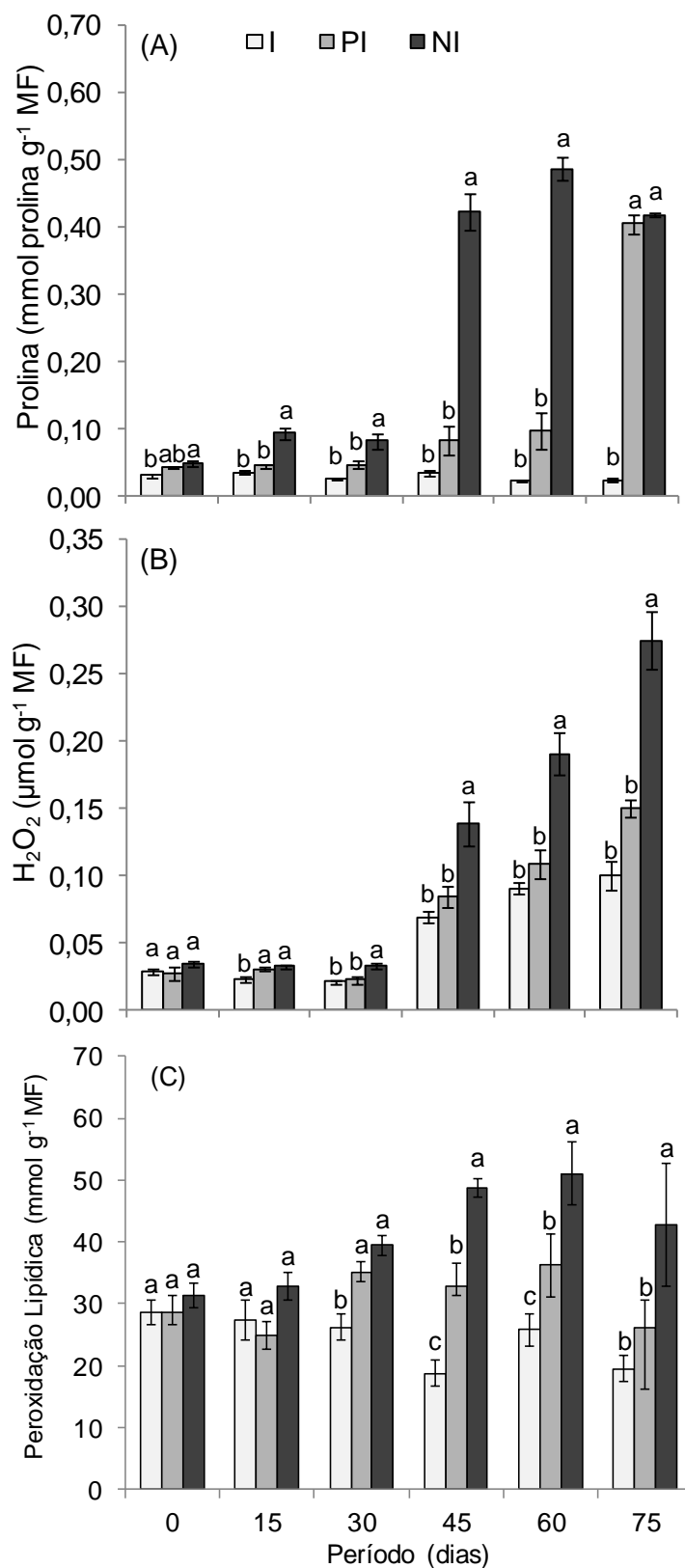


Figura 4. Teor de prolina livre (A), Peróxido de hidrogênio (B) e Peroxidação lipídica (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Barras de erro referem-se ao erro padrão das médias de quatro repetições.

De forma semelhante, foram as respostas de CIA (2010) que observou a ocorrência de estresse oxidativo em *Saccharum* spp. através da peroxidação lipídica e concentração de peróxido de hidrogênio, uma vez que o sistema antioxidante variou em função da intensidade do estresse aplicado. Uma maior formação de H_2O_2 pode gerar a síntese de aldeídos derivados da peroxidação de lipídeos, os quais iniciam uma reação em cadeia aumentando a quantidade de lipídeos peroxidados e causando danos à membranas celulares (YIN *et al.*, 2010). De acordo com Campos (2014), danos em membranas plasmáticas a nível foliar podem ser uma das primeiras vias de sinalização ao estresse.

Para a peroxidação lipídica, diferença significativa foi observada somente a partir do 30º dia de estresse, com valores superiores para as plantas de *S. saponaria* PI e NI (Figura 3C). Sendo a maior diferença entre os três regimes hídricos, observada aos 45 e 60 dias após a indução dos tratamentos. Aumentos nos níveis de peroxidação de lipídios também foram observados em milho (DA *et al.*, 2005), girassol (CECHIN *et al.*, 2010), arroz (ZAIN *et al.*, 2014) e feijão-caupi (CARDONA-AYALA *et al.*, 2014) devido ao estresse hídrico.

Decréscimo na atividade de enzimas antioxidantes promovem acúmulo de H_2O_2 , aumentando a peroxidação de lipídios e danos às membranas de plantas sob estresse (CARNEIRO *et al.*, 2011). Juntamente com outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a tolerância de plantas à condições de estresse, devido à diminuição de efeitos nocivos causados pelas EROS (GIANNAKOULA *et al.*, 2010). Para eliminar espécies reativas de oxigênio, as plantas apresentam sistemas enzimáticos antioxidantes que constituem uma importante defesa primária contra os radicais livres gerados sob condições de estresse, como a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em H_2O_2 e O_2 , a catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), que podem converter H_2O_2 em H_2O e O_2 (CARNEIRO *et al.*, 2011).

Em condições de estresse, eventualmente é esperado um aumento na atividade da SOD, entretanto, no presente estudo, este comportamento não foi evidenciado (Figura 4A). Plantas de *S. saponaria*, até o 30º dia avaliação, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Porém, a partir deste

período, a tendência foi de redução na atividade da SOD para as plantas submetidas ao déficit hídrico, onde, no tratamento PI houve redução significativa na atividade desta enzima aos 45 e 60 dias de estresse e, para as plantas NI, no período de 45 a 75 dias em relação ao controle, respectivamente. A baixa atividade da SOD nestas plantas pode indicar uma baixa produção de $O_2^{\cdot-}$ e alta produção das demais EROs. Resultados semelhantes foram encontrados por MESSCHMIDT *et al.* (2014) avaliando o efeito do estresse hídrico em cultivares de pessegueiro Capdeboscq, Flordaguard e Mirabolano 29-C.

A CAT, juntamente com a SOD, é considerada a mais eficiente entre as enzimas antioxidantes, com capacidade de degradar rapidamente o H_2O_2 em H_2O e O_2 e por isso é muito importante no sistema antioxidativo. Em plantas de *S. saponaria*, a atividade da CAT (Figura 4B) apresentou diferença significativa entre os tratamentos somente aos 15 dias após a indução do estresse, sendo maior nas plantas sob déficit hídrico (PI e NI). A partir deste período, embora os tratamentos não tenham diferido, a atividade desta enzima foi crescente.

Em tecidos vegetais, o H_2O_2 produzido nos peroxissomos é removido pela ação da enzima CAT, enquanto que aquele produzido nos cloroplastos é eliminado pela APX (KOTCHONI & GACHOMO, 2006; CARVALHO *et al.*, 2011). A especificidade entre as enzimas e o substrato (H_2O_2) reflete suas diferentes afinidades, sendo que a APX apresenta alta afinidade (μM) e a CAT baixa afinidade (mM) pelo H_2O_2 (CARVALHO *et al.*, 2011), sendo que esta faz a detoxificação quando o substrato encontra-se presente em altas concentrações na célula. Desta forma, de acordo com Carvalho *et al.* (2011), as enzimas APX seriam responsáveis pela modulação fina dessas EROs, enquanto as CAT seriam responsáveis pela remoção do excesso de EROs durante o estresse.

Nos resultados obtidos neste estudo, a APX (Figura 4C) manteve sua atividade crescente ao longo do período avaliado, apresentando diferença significativa entre os tratamentos aos 60 e 75 dias. Aos 60 dias plantas PI e NI apresentaram atividade significativamente superior ao controle e aos 75 dias somente as plantas NI diferiram do controle.

Segundo PANDA & KHAN (2009), a prevenção dos danos oxidativos e o aumento da tolerância a estresses ambientais estão associados com um sistema antioxidante eficiente. Porém, no presente estudo, somente a APX teve aumento significativo em sua atividade sob efeito do estresse hídrico, o que pode justificar os altos valores observados na peroxidação de lipídios que, segundo CECHIN *et al.* (2010), pode estar correlacionado com a atividade inadequada das enzimas antioxidantes SOD e CAT.

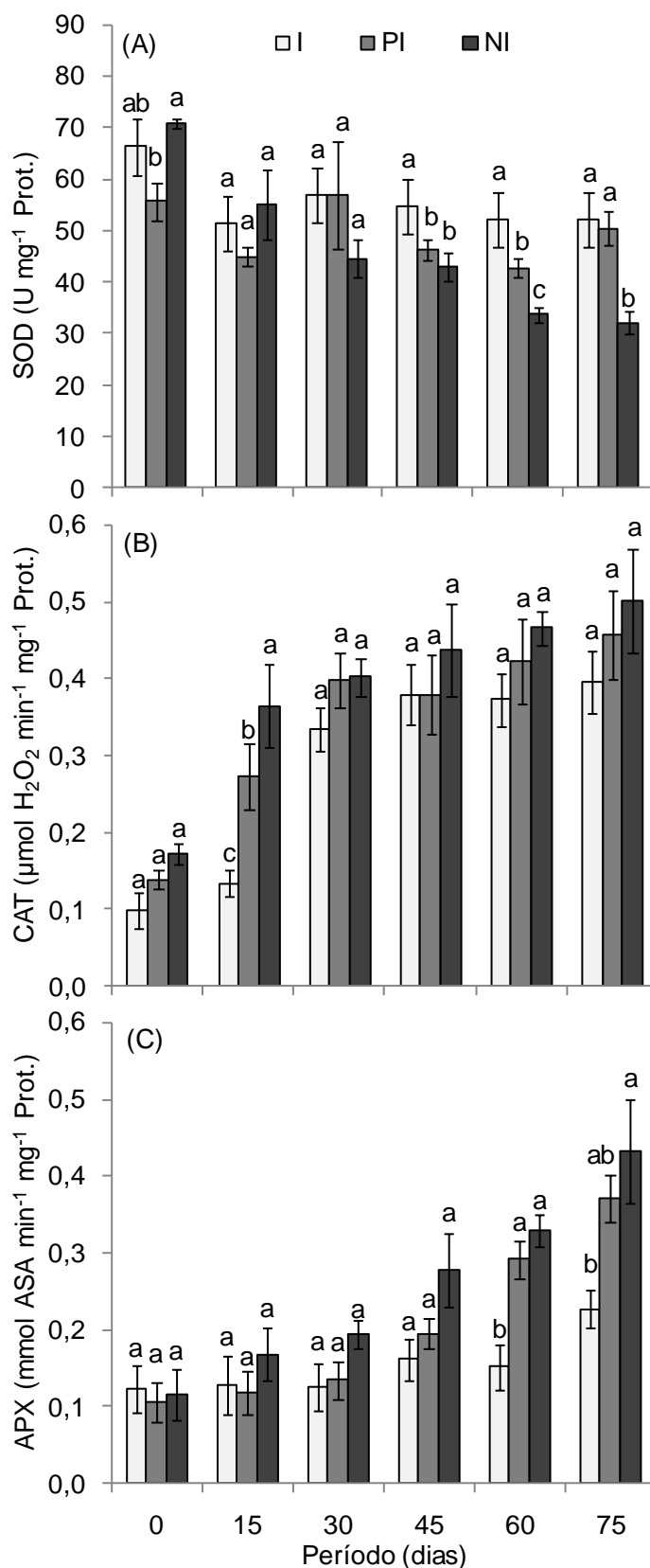


Figura 5. Atividade específica das enzimas antioxidantes, Superóxido dismutase - SOD (A), Catalase - CAT (B) e Ascorbato peroxidase - APX (C) de plantas de *Sapindus saponaria* L. cultivadas sob três regimes hídricos: I – Irrigado; PI – Parcialmente Irrigado e NI – Não Irrigado. Médias seguidas de letras iguais, comparando os tratamentos em cada período de coleta, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Barras de erro referem-se ao erro padrão das médias de quatro repetições.

O estresse hídrico provoca uma série de alterações bioquímicas, especialmente no sistema de defesa antioxidante, além do acúmulo de solutos compatíveis, mudanças na composição de lipídios nas membranas ou mesmo a peroxidação destes (GRATÃO *et al.*, 2005). Entretanto, é importante destacar que as alterações observadas são respostas que fazem parte de estratégias da planta que visam reduzir os efeitos deletérios da baixa disponibilidade hídrica, constituindo, portanto, mecanismos de tolerância a seca (PINCELLI, 2010).

5. Conclusão

A suspensão gradual da irrigação permite uma melhor manutenção das atividades metabólicas das plantas de *S. saponaria*, conferindo tolerância moderada até 60 dias de estresse.

Sob suspensão total da irrigação, efeitos negativos do estresse hídrico são observados a partir dos 45 dias, onde, mesmo com o aumento do osmólito prolina e alta atividade da APX, há redução no crescimento e aumento na produção de H_2O_2 e peroxidação.

6. Referências

ALBIERO, A. L. M.; BACCHI, E. M.; MOURÃO, K. S. M. 2001 apud GRISI, P.U. et al . Efeito alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas daninhas e de hortaliças. **Planta daninha**, Viçosa , v. 29, n. 2, p. 311-322, June 2011.

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C; SANTOS, R. I. N; CASTRO, G. L. S de; RAMOS E. M. L. S e PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.48, n.1, p.9-16, 2013.

ALVARENGA, A. P.; BOTELHO, S.A.; PEREIRA, I.M. Avaliação da regeneração natural na recomposição de matas ciliares em nascentes na região sul de Minas Gerais. **Revista Cerne**, Lavras, v. 12, n. 4, p. 360-372, 2006.

ALVES, C.C.F.; ALVES, J.M.S.; SILVA, T.M.S.; CARVALHO, M.G.; NETO, J.J. Atividade alelopática de alcaloides glicosilados de *Solanum crinitum*. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 10, n. 1, p. 93-97, 2003.

ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B. Revisão, Fotoinibição da Fotossíntese, **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280- 292, 1998.

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**, Santa Maria, v. 44, p. 453-460, 2014.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v.39, p.205-207, 1973.

BEHERA, R.K.; CHOUDHURY, N.K. High irradiance-induced changes in carotenoid composition and increase in non-photochemical quenching of Chl a fluorescence in primary wheat leaves. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 160, n. 10, p. 1141- 1146, 2003.

BEN AHMED, Ch.; BEN ROUINA, B.; SENSOY, S.; BOUKHRIS, M.; BEN BIAN, S. & JIANG, Y. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. **Science Horticulture**, v. 120, p. 264–270, 2009.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife: UFRPE, 2011. 267 p.

BIENERT, G. P.; SCHJOERRING, J. K.; JAHN, T. P.; Membrana transport of hydrogen peroxide. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1758, p. 994-1003, 2006.

BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 83-116, 1992.

BRANDÃO, M; LACA-BUENDIA, J. P.; MACEDO, J. F. 2002 apud RIBEIRO, B. D. **Estratégias de Processamento Verde de Saponinas da Biodiversidade Brasileira**. Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W., JONES, RUSSEL, R. L. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. **American Society of Plant Physiologist**. Rockville. 1407 p.

BUENO, A.C.R.; PRUDENTE, D.A.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Daily temperature amplitude affects the vegetative growth and carbon metabolism of orange trees in a rootstock- dependent manner. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 31, n. 3, p. 309-319, 2012.

BUXTON, D. R.; FALES, S. L.. Plant environment and quality. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: **American Society of Agronomy**. 1994.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 3, p. 463-468, 1991.

CAKMAK, I.; STRBAC, D.; MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxidescavenging enzymes in germination wheat seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 44, n. 260, p. 127-132, 1993.

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; CAMILA PINHO SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, n. 4 p. 752 - 761, 2011.

CARDONA-AYALA, C.; JARMA-OROZCO, A.; ARAMÉNDIZ-TATIS, H.; PEÑA-AGRESOTT, M.; VERGARA-CÓRDOBA, C. Respuestas fisiológicas y bioquímicas del frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) bajo déficit hídrico. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 8, n. 2, p. 250-261, 2014.

CARVALHO, F. E.L.; LOBO, A. K. M.; BONIFACIO, A.; MARTINS, M. O.; NETO, M. C. L.; SILVEIRA, J. A.G. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. **Revista Brasileira Eng. Agríc. Ambiental**, v.15, n.4, p.416–423, 2011.

CATTIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECH, F.W.; MAZZUCOTELLI, E.; CAVERZAN, A. **Caracterização funcional de genes de ascorbato peroxidase de arroz (*Oryza sativa* L.) nas interações entre estresse oxidativo e estresse abióticos**. Dissertação (Título de Mestre), UFRGS, Porto Alegre–RS, 2008.

CAVERZAN, A.; PASSAIA, G.; ROSA, S. B.; RIBEIRO, C. W.; FERNANDA LAZZAROTTO, F.; PINHEIRO, M. M. **Genetics and Molecular Biology**, 35, 4 (suppl), 1011-1019, 2012.

CECHIN, I.; CORNIANI, N.; FUMIS, T. F.; CATANEO, A.C.; Differential responses between mature and young leaves of sunflower plants to oxidative stress caused by water deficit. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, p.1290-1294, 2010.

CIA, M.C. **Resposta antioxidativa em variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) sob déficit hídrico**. 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

COSTA, G. L. de A. **Avaliação do Potencial Mutagênico, Antimutagênico e Antioxidante do Óleo da Polpa de *Acrocomia aculeata* (Arecaceae)**. Dissertação (Biotecnologia Aplicada à saúde), Universidade Católica Dom Bosco. Campo Grande – Mato Grosso do Sul. 52 p. 2012.

DARDENGO, M. C. J. D.; REIS, E. F. dos; PASSOS, R. R. Influência da disponibilidade hídrica no crescimento inicial do cafeeiro conilon. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 6, p.1-14, 2009.

DEUNER, S., ALVES, J.D. FRIES, D.D. ZANANDREA, I. LIMA, A.A. HENRIQUE P.C.; GOULART, P.F.P. Hydrogen peroxide and ascorbic acid effects on antioxidant enzyme activity in coffee seedlings. **Revista Ceres**, v. 55, p. 134-140, 2008.

EFEOĞLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇIÇEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**, v.75, p.34-42, 2009.

ENCINAS, J. I.; SILVA, G.F.; PINTO, J.R.R. Idade e crescimento das árvores. **Comunicações Técnicas Florestais**. Brasília: UNB, 47 p. v.7, n.1, 2005.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 4, n. 2, p. 102-109, jul-dez, 2010 Revisão Temática Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR www.agroambiente.ufr.br

GADJEV, I.; STONE, J.M.; GECHEV, T.S. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v.270, p.87-144, 2008.

GEBREKIRSTOS, A.; TEKETAY, D.; FETENE, M.; MITLOHNER, R. Adaptation of five co-occurring tree and shrub species to water stress and its implication in restoration of degraded lands. **Forest Ecology and Management**, v. 229, p. 259-267, 2006.

GERONIMO, G. Z. **Características morfofisiológicas e agrupamento genético de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica**. 2014. 81f Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2014.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; SYRUS, T.; YUPSANIS, T. Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line. **Environ Exp Bot** 67:487-494, 2010.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 4, p. 635-644, 2009.

GRATÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metalstressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 32, p.481-494, 2005.

GRISI, P.U.; GUALTIERI, S.C.J.; RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. Influência alelopática do extrato aquoso de raiz de *Sapindus saponaria* L. sobre capim-arroz e corda-de-viola. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 760-766, 2013.

HAMIDOU, F.; ZOMBRE, G.; DOIUF, O.; DIOP, N.N.; GUINKO, S.; BRACONNIER, S. Physiological, biochemical and agromorphological responses of five cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to water deficit under glasshouse conditions. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v.11, p.225- 234, 2007.

HONG-BO; S.; CHU, L.Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C.X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p 215–225. 2008.

JALEEL, C. A.; GOPI, R.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; PANNEERSELVAM, R. Paclobutrazol influences vegetative growth

and floral characteristics of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Indian Journal of Applied and Pure Biology**. v. 21, p. 369-372, 2006.

JALEEL, C.A.; RIADH, K.; GOPI, R.; MANIVANNAN, P.; INES, 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 Physiologiae Plantarum**, v. 31, p. 427-436, 2009.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424 - 438, 2005.

KIANI, S.P., MAURY, P., SARRAFI, A.; GRIEU, P. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. **Plant Science**, v.175, p. 565–573. 2008.

KOTCHONI, S. O.; GACHOMO, E. W. The reactive oxygen species network pathways: an essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants. **Journal of Bioscience**, v.31, p.389-404, 2006

KRUSE, N.D.; VIDAL, R.A.; DALMAZ, C.; TREZZI, M.M.; SIQUEIRA, I. Estresse oxidativo em girassol (*Helianthus annuus*) indica sinergismo para as misturas dos herbicidas metribuzin e clomazone. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 379-390, 2006.

LECHINOSKI, A.; FREITAS, J.M.N.; CASTRO, D.S.; LOBATO, A.K.S.; NETO, C.F.O.; CUNHA, R.L.M. Influência do estresse hídrico nos teores de proteínas e aminoácidos solúveis totais em folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre. v. 5, p.927-929, jul. 2007.

LIRA, J. M. S. **Tolerância cruzada em sementes osmocondicionadas de Melão (*Cucumis melon* L.) e Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. Dissertação (Título de Mestre). Universidade Federal de Lavras- MG, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1992. 352p.

MANIVANNAN, P.; JALEEL, C.A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 418-425, 2008.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p.660-666, 2013.

MARTINS, C. C.; ZUCARELI, C.; COIMBRA, R. A.; Procedimentos de colheita dos frutos na qualidade fisiológica de sementes de *Sapindus saponaria*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1825-1830, 2011.

MESSCHMIDT, A.; BIANCHI, V. J.; ZANANDREA, I.; MARTINAZZO, E.G.; RADMANN, E.B.; BACARIN, A. M.; Trocas gasosas e atividade de portaenxerto de *Prunus* SSP. Submetidos ao estresse seca e alagamento. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata (2015) Vol 114 (1): 71-81 vol.114, n. 11. (2015)

MOLINARI, H. B. C.; MARUR, C. J.; DAROS, E.; CAMPOS, M. K. F.; CARVALHO, J. F. P. R.; BESPALHOK FILHO, J. C.; PEREIRA, L. F. P.; VIEIRA, L. G. E. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum spp.*): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum**, v. 130, n. 2, p. 218 – 229, 2007.

MONTEIRO, J.G.; CRUZ, F.J.R.; NARDIN, M.B.; SANTOS, D.M.M.S. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 1, p.18-25, 2014

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, n.5, p.867-880, 1981.

NASCIMENTO, M.N.; ALVES, J.D.; SOARES, A.M.; CASTRO, E.M.; MAGALHÃES, M.M.; ALVARENGA, A.A.; SILVA, G.H. Biochemical alterations of plants and bud morphology of coffee tree associated to events on flowering in response to meteorological elements. **Ciência Rural**, v. 38, p. 1300-1307, 2008.

NEMOTO, S.; OTSUKA, M.; ARAKAWA, N. A positive correlation between catalase activity and ascorbate uptake in the tissues of guinea pigs and cultured cells of mammals. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v.42, n.5, p.387-395, 1996.

NETO, G. G.; SANTOS, J.U.M.; CORREA, A.L.; PASA, M.C. O Gênero *Porocystis* Radlk. (*Sapindaceae*) no Brasil. **Flovet**, n.11, 2011.

OKLAHOMA BIOLOGICAL SURVEY. *Sapindus saponaria*. Disponível em: <http://www.biosurvey.ou.edu>. Acesso em: 20/02/2014.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. **Engenharia Agrícola**, v.25, p.86-95, 2005.

OLIVEIRA, L. M.; BRUNO, R.L.A.; SILVA, K.R.G.; SILVA, V.D.M.; FERARRI, C.S.; SILVA, G.Z. Germinação e vigor de sementes de *Sapindus saponaria* L. submetidas a tratamentos pré-germinativos, temperaturas e substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p.155-199, 2012 .

OLIVEIRA, L.M.; SILVA, J.N.; COELHO, C.C.R.; NEVES, M.G.; SILVA, R.T.L.; NETO, C.F.O. Pigmentos fotossintetizantes, aminoácidos e proteínas em plantas jovens de graviola submetida ao déficit hídrico. **Agroecossistemas**, v. 5, n. 1, p. 39-44, 2013.

O'NEILL, P.M.; SHANAHAN, J.F.; SCHEPERS, J.S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 2, p. 681-687, 2006.

PANDA, S. K.; KHAN, M. H. Growth, oxidative damage and antioxidant responses in greengram (*Vigna radiata* L.) under short-term salinity stress and its recovery. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.195, p. 442–454, 2009.

PEREIRA, B. C.; PEREIRA, A. K. T. Radicais Livres: Uma nova abordagem. **Revista Saúde Quântica**, v.1, n.1, 2012.

PINCELI, R.S.; **Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-deaçúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas**. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2010.

PINHEIRO, H.A.; DAMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; LOUREIRO, M.E.; DUCATTI, C. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, v. 96, p. 101-108, 2005.

PIRES, M. F. **Comportamento fisiológico, anatômico e citométrico de *Panicum aquaticum* Poir. expostos a diferentes metais pesados**. Dissertação (Título de Mestre), Universidades Federal de Lavras, Lavras – MG, 2012.

PIZETA, S. C.; OLIVEIRA, A. C. de; REIS, E. F. dos; RODRIGUES, R. R.; OLMO, B. T.; influência do déficit hídrico no desenvolvimento inicial do cafeeiro conilon. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p. 1090, 2012.

PRADO, A.K.S.; MACHADO, E.C.; MEDINA, C.L.; MACHADO, D.F.S.P.; MAZZAFERA, P. Florescimento e frutificação em laranjeiras 'Valência' com diferentes cargas de frutos e submetidas ou não à irrigação. **Bragantia**, Campinas, v. 66, p. 173-182, 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.

REINHARDT, G.; RETTENMAIER, N.; GÄRTNER, S.; PASTOWSKI, A. **Rain forest for biodiesel? Ecological effects of using palm oil as a source of energy**. Frankfurt: WWF Germany, 2007. 50p.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C. Some aspects of citrus ecophysiology in subtropical climates: re-visiting photosynthesis under natural conditions. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.19, p. 393-411, 2007.

REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; FONTAN, I. C. I.; MONTE, M. A.; GOMES, A. N.; OLIVEIRA, C. H. R. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus* spp submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006.

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: UNESP, 1995. 100 p.

SAUSEN, T. L. **Respostas fisiológicas de *Ricinus communis* à redução na disponibilidade de água no solo**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SANTOS, P.L.; FERREIRA, R.A.; ARAGÃO, A.G.; AMARAL, L.A.; OLIVEIRA, A.S. Estabelecimento de espécies florestais nativas por meio de semeadura direta para recuperação de áreas degradadas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 2, 2012.

SANTOS, C. F.; LIMA, G. P. P.; MORGADO, L. B. Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. **Naturalia**, Rio Claro, SP, v.33, p.34-44, 2010.

SANT' ANNA, H. L. S. **Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidas à deficiência hídrica progressiva**. 2009. 84p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2009.

SILVA, M de A.; JIFON, JOHN L.; SILVA, JORGE A.G. da and SHARMA, VIVEK. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Braz. J. Plant Physiol.** 2007, vol.19, n.3, pp. 193-201. ISSN 1677-9452.

SILVA, J. R. R. **Comportamento ecofisiológico de plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) sob dois regimes hídricos.** 2009. 40f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

SILVA, M.A.; SANTOS, C. M. dos; VITORINO, H. S dos; RHEIN, A. F. de L.; Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v.30, n.1,p.173-181, 2014a.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática.** São Paulo: Nova Odessa, p. 640. 2005.

SCALON, S.P.Q.; TEODÓSIO, T.K.C; NOVELINO, J.O.; KISSMANN, C.; MOTA, L.H.C. Germinação e crescimento de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. em diferentes substratos. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.3, p.633-639, 2011.

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

SCHLEMMER, M.R.; FRANCIS D.D.; SHANAHAN J.F.; SHEPERS, J.S. Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. **Agronomy Journal**, v. 97, p. 106-112, 2005.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y. Plant molecular biology in China: Opportunities and challenges, **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 23, p. 345-358, 2005.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; LU, Z. H.; KANG, C. M. Main antioxidants and redox signaling in higher plant cells, **International Journal of Biological Sciences**. v. 44, p. 12-18, 2008.

SLESIAK, I.; LIBKI, M.; KARPINSKA, B.; KARPINSKA, S.; MISZALSKI, Z. The role of hydrogen in regulation of plants metabolism and cellular signaling in response to environmental stresses. **Acta Biochimica Polonica**, Warszawa, v. 54, p.39-50, 2007.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, n. 8, p. 854-862, 2005.

SMIT, M. A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, v.98, p.91-97, 2006.

TAIZ L.; ZEIGER, E., **Plant Physiology**, Fifth Edition , Sinauer Associates. Sunderland, MA, 2013.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. **Plant Science**, v.151, p.59-66, 2000.

VILLAGRA, P. E.; CAVAGNARO, J.B. Water stress effects on the seedling growth of *Prosopis argentina* and *Prosopis alpataco*. **Journal of Arid environments**. V. 64, p. 390 – 400, 2006.

YIN, L.; MANO, J.; WANG, S.; TSUJI, W.; TANAKA, K. The involvement of lipid peroxide-derived aldehydes in aluminum toxicity of tobacco roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 152, n. 3, p. 1406-1417, 2010.

ZAIN, N.A.M.; ISMAIL, M.R.; PUTEH, A.; MAHMOOD, M.; ISLAM, M.R. Impact of cyclic water stress on growth, physiological responses and yield of rice (*Oryza sativa* L.) grown in tropical environment. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.12, p.2136-2141, 2014.

ZONTA, J. H. BRAUN, H.; REIS E. F.; SILVA, D. P.; ZONTA, J. B. Influência de diferentes turnos de rega e doses de hidroabsorvente no desenvolvimento inicial da cultura do café conillon (*Coffea canephora* Pierre). **IDESIA**, v. 27, n. 3, p. 29-34, 2009.

WILLEKENS, H.; INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN CAMP, W. Catalases in plants. **Moleculr Breeding**, v. 1, n. 3, p. 207-228, 1995.

