

Trocas gasosas e atividade antioxidante de portaenxertos de *Prunus* spp. submetidos ao estresse seca e alagamento

Messchmidt, Aline A.¹; Valmor João Bianchi¹; Ilisandra Zanandrea^{2,4}; Emanuela Garbin Martinazzo¹; Elizete Beatriz Radmann³; Marcos Antonio Bacarin¹

¹Departamento de Botânica, Instituto de Biologia/Universidade Federal de Pelotas; ²Departamento de Biologia, Av. dos Portugueses, 1966, Campus Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA; ³UNIPAMPA, Campus Itaquí, RS, CEP 97650-000; ⁴dandajs@gmail.com

Messchmidt, Aline A.; Valmor João Bianchi; Ilisandra Zanandrea; Emanuela Garbin Martinazzo; Elizete Beatriz Radmann; Marcos Antonio Bacarin (2015) Trocas gasosas e atividade antioxidante de portaenxertos de *Prunus* spp. submetidos ao estresse por seca e alagamento. Rev. Fac. Agron. Vol 114 (1): 71-81.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as trocas gasosas e atividade antioxidante de portaenxertos do gênero *Prunus* submetidos ao estresse por seca e alagamento. Plantas de pessegueiro cv. Flordaguard e Capdeboscq e de ameixeira cv. Mirabolano 29-C, com um ano de idade, foram submetidas a três condições hídricas: tratamento controle (com irrigação diária), alagamento do sistema radicular e seca (ausência de irrigação) por quatro e oito dias, e em seguida, colocadas sob condições de recuperação do estresse, por três dias. Foi avaliada a taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), atividade de enzimas do sistema antioxidante (SOD, CAT e APX), conteúdo de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica. Durante o período de estresse, houve redução de A e gs nas três cultivares estudadas, em relação às plantas controle, porém, no terceiro dia de recuperação esses parâmetros voltaram a ficar com valores próximos ao controle para a cv. Flordaguard sob estresse por seca e para a cv. Mirabolano 29-C sob alagamento. A atividade das enzimas antioxidantes, o conteúdo de peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica não variou de maneira expressiva nas duas cvs de pessegueiro sob déficit hídrico. Porém, sob alagamento, houve aumento da atividade da CAT e APX e da peroxidação lipídica. A cv. Mirabolano 29-C, em ambos estresses, ativou o sistema antioxidante, seguido de uma alta produção de H₂O₂ e uma maior peroxidação lipídica, sugerindo que esta cultivar possui um mecanismo de defesa antioxidante que se expressa mais intensa e rapidamente em ambas condições de estresse. Com estes resultados concluiu-se que Mirabolano 29-C apresenta maior tolerância ao alagamento, porém é mais sensível ao déficit hídrico, em relação as cvs. de pessegueiro avaliadas.

Palavras-chave: portaenxerto, déficit hídrico, alagamento, trocas gasosas, enzimas antioxidantes.

Messchmidt, Aline A.; Valmor João Bianchi; Ilisandra Zanandrea; Emanuela Garbin Martinazzo; Elizete Beatriz Radmann; Marcos Antonio Bacarin (2015) Gas exchange and antioxidant activity of *Prunus* rootstocks spp. submitted to drought and waterlogging. Rev. Fac. Agron. Vol 114 (1): 71-81.

The aim of this paper was to evaluate the gas exchange and antioxidant activity of *Prunus* spp. rootstocks submitted to drought and waterlogging. One year old plants of *P. persica* (L.) Batsch cv. Flordaguard and Capdeboscq and *P. cerasifera* Erhr cv. Mirabolano 29-C were submitted to three hydric conditions: control treatment (daily irrigation), waterlogging of the root system and drought (without irrigation) for four to eight days, and then put under stress recovering conditions, for three days. The net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s), enzymatic antioxidant system activity (SOD, CAT e APX), the content of hydrogen peroxide and lipid peroxidation were evaluated. During the stress period there was a reduction of the A and g_s in all plants of the three cultivars evaluated in relationship to the control plants. However, in the third day of recovery the A and g_s patterns returned to values close to control plants for Flordaguard under drought and for Mirabolano 29-C under waterlogging. The activity of the antioxidant enzymes, the hydrogen peroxide content and the lipid peroxidation did not vary in an expressive way in both peach cultivars under hydric deficit. However, under waterlogging it was observed an increase in CAT and APX activity and lipid peroxidation. The cv. Mirabolano 29-C, in both stress conditions activated the enzymatic antioxidant system, which was followed by an increased of H₂O₂ production and a higher lipid peroxidation, suggesting that this cultivar possesses an antioxidant defense mechanism that expresses itself more intensely and rapidly in both stress conditions. Based in the results we conclude that Mirabolano 29-C presents a higher tolerance to waterlogging, but is more sensibility to drought in relation to the peach cultivars evaluated in this study.

Key words: rootstock, hidric deficit, flooding, gas exchange, antioxidant enzymes.

Recibido: 07/01/2014

Aceptado: 05/05/2015

Disponibile on line: 15/06/2015

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUÇÃO

O pessegueiro [*Prunus persica* (L.) Batsch] é a principal frutífera de caroço cultivada no Brasil. O principal produtor é o estado do Rio Grande do Sul, com aproximadamente 14.679 hectares cultivados e uma produção de aproximadamente 222 mil toneladas, representando 58% da produção nacional (IBGE, 2013). Embora a cultura apresente grande importância no Rio Grande do Sul, a produtividade média dos pomares do Estado ainda é baixa (8,8 ton ha⁻¹) devido a fatores limitantes relacionados às práticas de manejo, incidência de pragas, doenças e o não uso de portaenxertos adaptados às condições edafoclimáticas das diferentes zonas de produção (Shmitz et al., 2012).

A região sul do Rio Grande do Sul, principal zona produtora de pêssegos do estado, é caracterizada por apresentar extensas áreas de solos hidromórficos com horizontes impermeáveis, pouco profundos e com problemas de drenagem (Cunha & Silveira, 1996). Além disso, apresenta alta precipitação pluviométrica média anual, acima de 1500 mm, nem sempre bem distribuídas ao longo do ano, podendo ocasionar estresse hídrico por alagamento em períodos críticos para a cultura, como é o caso da fase de florescimento, devido ao excesso de chuvas (Fachinello et al., 2002). Já na fase que antecede a maturação dos frutos, entre os meses de novembro de janeiro, é comum o déficit hídrico (Martinazzo et al., 2013), afetando a qualidade e a produtividade dos pomares. Com isso, problemas de estresse hídrico são comuns em pomares de pessegueiro no Rio Grande do Sul, pois são poucos os produtores que utilizam sistema de irrigação nos períodos de estiagem, e a ocorrência de pluviosidade intensa em alguns períodos do ano pode dificultar a drenagem do solo causando estresse nas plantas.

Condições de seca e alagamento afetam o metabolismo das plantas de pessegueiro, alterando diversos parâmetros relacionados à fotossíntese (Martinazzo et al., 2013), produção de energia, síntese e transporte de moléculas e íons, diminuindo a produção e a longevidade das plantas, e em situações de estresse prolongado pode levar a morte das mesmas (Masia et al., 1999).

O metabolismo fotossintético é muito sensível à disponibilidade de água, decrescendo em solos secos ou encharcados, devido aos efeitos prejudiciais sobre os componentes bioquímicos, celulares ou mesmo por alterações na taxa de difusão de CO₂ para o sítio de carboxilação (Flexas & Medrano, 2002). A inibição da fotossíntese em plantas sob estresse hídrico, em curto prazo, se dá, principalmente, pela menor taxa de absorção de CO₂, devido ao fechamento dos estômatos, enquanto que em longo prazo, a inibição não estomática da fotossíntese é muito importante e pode envolver diminuição na atividade de enzimas responsáveis pela carboxilação, na capacidade para transferência de elétrons e no teor de clorofila (Hinckley et al., 1991).

O déficit hídrico pode causar várias alterações no metabolismo vegetal, dependendo do tempo de estresse que a planta é submetida. Embora a redução na taxa de perda de água possa representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido, também pode restringir a difusão de CO₂ para

dentro da folha causado pelo fechamento estomático, levando a uma redução no metabolismo do carbono. Assim, o monitoramento das trocas gasosas possibilita compreender os mecanismos que regulam a entrada de CO₂ e a perda de água pelas folhas, permitindo a adoção de estratégias de manejo ou uso de genótipos que permitam reduzir os efeitos prejudiciais do estresse (Ennahli & Earl, 2005).

Por sua vez, as raízes obtêm oxigênio para a respiração aeróbica diretamente do espaço gasoso no solo (Voesenek et al., 2006). Entretanto, sob alagamento, forma-se um ambiente hipóxico, que pode provocar distúrbios metabólicos na planta (Bailey-Serres & Voesenek, 2008), como a rápida redução da funcionalidade do sistema transportador de elétrons e do ciclo de Krebs dos tecidos das raízes. Isso inibe a produção de ATP e o consequente suprimento de energia para o crescimento e o desenvolvimento geral da planta (Liau & Lin, 1995).

Condições de estresse hídrico, induzido por déficit ou alagamento do solo, podem induzir o aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e, quando o equilíbrio da sua formação e detoxificação não pode ser mantido, a ocorrência do estresse oxidativo pode interferir na manutenção da homeostase celular, por lesionar seriamente vários componentes celulares, dentre eles, lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (Smirnoff, 2000). Dentre as principais EROs que causam danos celulares, destacam-se o radical superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o O₂ singleto (¹O₂) e o radical hidroxila (OH⁻) (Apel & Hirt, 2004; Neill et al., 2002).

Para sobreviver às condições de estresse a que frequentemente são impostas pelo ambiente, as plantas desenvolveram sistemas de remoção das EROs, realizado por meio do sistema antioxidante enzimático, destacando-se superóxido dismutase (SOD), a ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT), e não enzimático, principalmente pelo ciclo ascorbato-glutationa (Apel & Hirt, 2004). A SOD é considerada peça chave neste processo, pois tem como função não só a conversão do radical O₂⁻, mas também a capacidade de controlar outras EROs, sendo encontrada principalmente nas mitocôndrias e cloroplastos (Maia et al., 2012).

A alteração dos mecanismos antioxidantes está correlacionada com a capacidade de defesa a diferentes estresses. Sob condições de alagamento, foram observadas alterações na capacidade fotossintética e na atividade das enzimas antioxidantes em plantas *Prunus* sp. (Dichio et al., 2004; Amador et al., 2012; Martinazzo et al., 2013), *Sesbania virgata* (Alves et al., 2013). Em condições de déficit hídrico, também foram registradas importantes alterações no metabolismo fotossintético e antioxidante de plantas de *Prunus* (Sofa et al., 2005) e *Coffea arabica* (Deuner et al., 2011).

Considerando que o estresse hídrico é frequente em pomares de pessegueiro na região Sul do RS, onde a produtividade é baixa em relação à média nacional, uma das estratégias para melhorar a produtividade das culturas é a compreensão dos processos fisiológicos, bioquímicos e genéticos que são alterados por esses tipos de estresses (Martinazzo et al., 2013).

A existência de variabilidade genética para tolerância de plantas de *Prunus* a estresses hídricos foi identificada por Xiloyannis et al. (2007), Amador et al. (2012), Pistelli et al. (2012) e Martinazzo et al. (2013). Sendo assim, estudar e conhecer a resposta de diferentes genótipos a estas condições de estresse é importante para auxiliar na caracterização e identificação de plantas mais tolerantes, bem como na seleção de portaenxertos mais tolerantes ao estresse hídrico.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi verificar se a taxa de assimilação de CO₂, condutância estomática e atividade de enzimas do sistema antioxidante em portaenxertos de *Prunus* spp são afetadas diferencialmente sob condições estresse por seca e alagamento do solo em relação às plantas controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de portaenxertos pessegueiro [*Prunus persica* (L.) Batsch] das cultivares Capdeboscq, Flordaguard e de ameixeira (*Prunus cerasifera* Ehrh) cv. Mirabolano 29-C foram obtidas através de propagação vegetativa pelo método de enraizamento de estacas herbáceas. Após completarem oito meses de idade, as plantas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade de 10L, contendo como substrato solo de pomar + substrato comercial Plantmax® na proporção 1:1 (v/v).

As plantas foram mantidas em casa de vegetação com controle da temperatura (22°C e 30°C), e irrigadas diariamente. Dois meses após o transplantio, as plantas com similar volume de copa (≈100 cm³ e com média de 60 cm de altura, a partir do colo) foram submetidas aos seguintes tratamentos: a) alagamento do sistema radicular, por meio da manutenção de uma lâmina d'água de 5 cm acima do nível do solo; b) estresse por seca, que consistiu na suspensão total da irrigação, a partir do início do experimento, e c) plantas do tratamento controle foram irrigadas diariamente, mantendo a capacidade de campo. Plantas dos tratamentos "a" e "b" foram mantidas sob as respectivas condições de estresse por oito dias, após, foram submetidas às condições normais de irrigação, por três dias (caracterizando o período de recuperação). Durante o período de estresse e de recuperação avaliou-se parâmetros relacionados às trocas gasosas, atividade de enzimas do sistema antioxidante, produção de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.

Trocas gasosas

As avaliações das trocas gasosas foram realizadas no 1º, 3º e 8º dia de estresse, e no 1º e 3º dias de recuperação, entre as 9:00 e 11:00hs, utilizando-se um analisador portátil a infravermelho de CO₂ (modelo LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA). As leituras foram realizadas em duas folhas por planta (folhas jovens completamente expandidas). A concentração de CO₂ na câmara foi ajustada para 380 ppm e densidade de fluxo de fótons de 1.200 μmol m⁻² s⁻¹, utilizando-se a fonte luminosa LI-COR 6400-02, acoplada a câmara de medida (modelo LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA LI-COR 6400-11). As variáveis utilizadas foram:

taxa assimilatória líquida de CO₂ (A, μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) e condutância estomática (g_s, mol H₂O m⁻² s⁻¹).

Atividade de enzimas antioxidantes

Para as análises da atividade de enzimas do sistema antioxidante foram coletadas folhas das plantas controle e dos tratamentos de alagamento e déficit hídrico, no 4º e no 8º dias de estresse.

Para a extração das enzimas antioxidantes, 200 mg de tecido foliar foram macerados em N₂ líquido e homogeneizado em tampão de extração, composto por fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. Após centrifugação a 13.000 g por 20 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi coletado e dessalinizado em Coluna Sephadex G-25 (PD-10). O eluato foi utilizado para as análises enzimáticas da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) (Biemelt et al., 1998) e a quantificação das proteínas pelo método de Bradford (1976).

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis & Ries, 1977), em um meio de incubação composto por fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1 μM, NBT 75 μM e riboflavina 2 μM. As amostras e o controle contendo o meio de reação foram iluminados com uma lâmpada de 20W, por sete minutos, enquanto que o branco foi mantido no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da atividade da enzima com a seguinte equação: % de inibição = (A₅₆₀ amostra com extrato enzimático - A₅₆₀ controle sem enzima)/(A₅₆₀ controle sem enzima). Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio, e o resultado expresso em U mg⁻¹ proteína⁻¹.

A atividade da CAT foi quantificada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, em um tampão de incubação contendo fosfato de potássio 200 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM, incubado a 28°C, em que foi monitorado o consumo do peróxido de hidrogênio (Havir & Mchale, 1987), sendo o resultado expresso em μmol H₂O₂ min⁻¹ mg proteína⁻¹. A atividade da APX foi realizada segundo Nakano & Asada (1981), utilizando-se tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5 mM e H₂O₂ 0,1 mM, monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm e o resultado expresso em μmol ASA min⁻¹ mg proteína⁻¹. Neste trabalho se determinou a atividade total de ascorbato peroxidases, sem a utilização de inibidor específico p-hidroximercuribenzoato, conforme preconizado por (Amako et al., 1994).

Avaliações bioquímicas

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Buege & Aust (1978). Duzentos miligramas de tecido foliar foram macerados em N₂ líquido acrescido de 20% de PVP (m/v), homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v), e centrifugado a 10.000 g, por 10 minutos. Aliquotas do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação (0,5% (m/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (m/v) de TCA), incubando-se, em seguida, a 95°C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por

resfriamento rápido em gelo e as leituras foram determinadas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada, com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação: $[MDA] = (A_{535} - A_{600})/(\xi \cdot b)$, em que: ξ (coeficiente de extinção = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$); b (comprimento ótico = 1). A peroxidação foi expressa em nmol de MDA g^{-1} de massa seca.

Para a quantificação de peróxido de hidrogênio, 200mg de tecido foliar foram macerados em N_2 líquido, homogêneos em 5 mL de TCA e centrifugados a 12.000 g por 15 min, a 4°C. O H_2O_2 foi determinado medindo-se a absorbância a 390 nm em um meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, 500 μL do extrato e 1 mL de iodeto de potássio (Velikova et al., 2000). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa seca⁻¹. Para comparar a peroxidação lipídica e o conteúdo de peróxido de hidrogênio das amostras desidratadas com as amostras de material fresco, foi aplicado um fator de conversão de massa fresca (MF) em massa seca (MS), com base na expressão MS/ MF. Os valores utilizados para o cálculo do fator de conversão representam a média de 10 amostras de 1 g de massa fresca, submetidas à

secagem (Diniz et al., 2007). As concentrações obtidas nas amostras de material fresco foram divididas pelo fator de conversão obtido (0,255) para comparação com os tratamentos de secagem.

Delineamento experimental e análise estatística

Para as avaliações de trocas gasosas, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3×5 , sendo três condições hídricas (controle, alagamento e déficit hídrico) e cinco avaliações (1º, 3º, 8º, 9º e 11º dias). Para atividade antioxidante, utilizou-se esquema fatorial 3×2 , com 3 condições hídricas e duas avaliações (4º e 8º dias). Foi realizada análise de variância, e as médias comparadas pelo Teste Tukey ($p < 0,05$). Cada tratamento foi composto por três repetições, cada uma representada por uma planta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trocas gasosas

Na figura 1, são apresentados os parâmetros de trocas gasosas para plantas de portaenxerto de *Prunus* spp., em ambas condições de estresse e posterior recuperação. Os valores da taxa assimilatória líquida de CO_2 ou taxa fotossintética (A) e da condutância

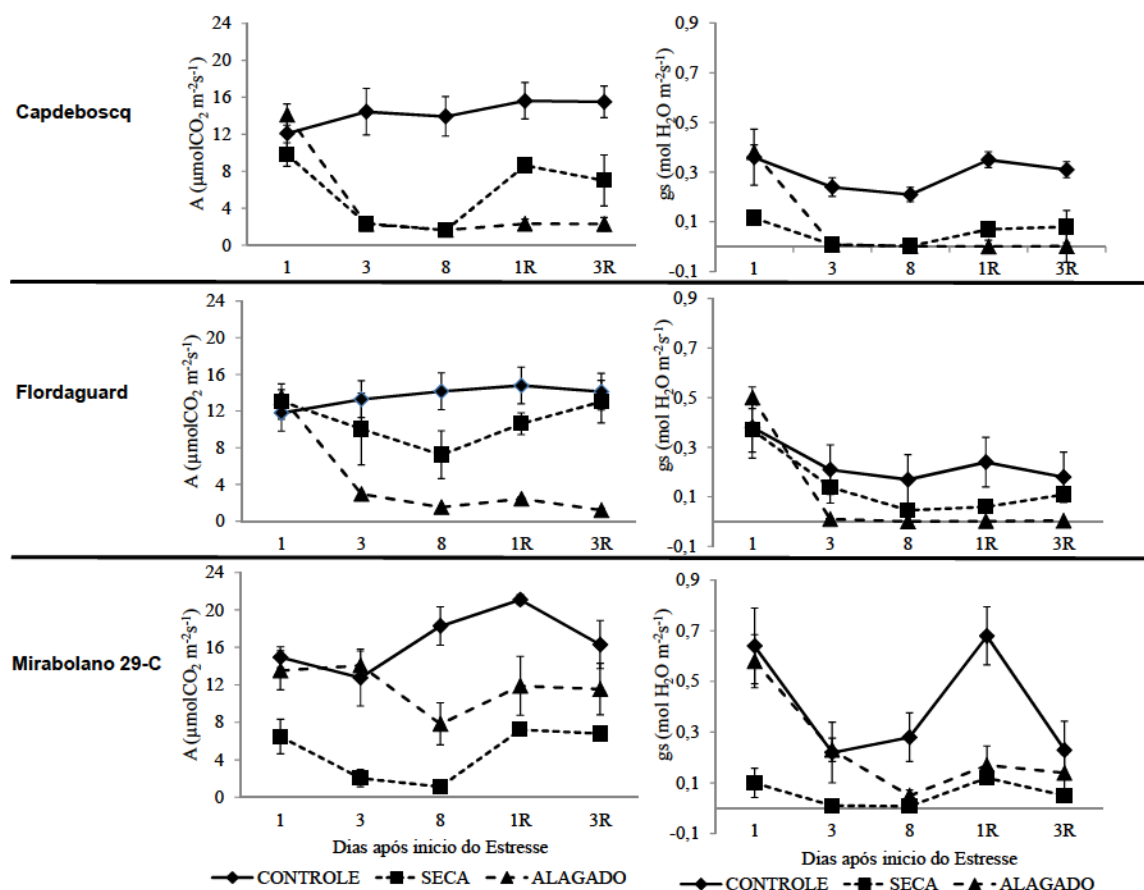


Figura 1: Taxa fotossintética líquida (A) e condutância estomática (g_s) de plantas de portaenxerto de pessegueiro cv. Capdeboscq e Flordaguard e de ameixeira cv. Mirabolano 29-C cultivadas sob diferentes condições hídricas, durante oito dias, e recuperadas por três dias. As barras indicam o erro padrão da média de três repetições.

estomática (g_s) do início do experimento (tempo zero) não são apresentados na figura 1, devido não se ter observado diferenças significativas entre plantas das mesmas cultivares em relação aos valores observados nas plantas do tratamento controle, avaliados após 24 horas.

Verificou-se que plantas de 'Capdeboscq' sob estresse por seca apresentaram redução de aproximadamente 67% de g_s , em relação ao controle, 24 horas após o início do experimento, enquanto que valor de A apresentou um leve aumento, porém não diferiu em relação ao controle (Figura 1). Entretanto, a redução mais drástica nos valores de A e g_s foram registrados após 48 horas, para ambas condições de estresse, permanecendo com valores próximos a zero até o final do período de oito dias (Figura 1). Após três dias verificou-se o fechamento dos estômatos em ambos os estresses, observando-se o murchamento das folhas a partir do sexto dia de alagamento. Nos dias referentes à recuperação, os valores de A e g_s , foram menores quando comparados ao controle. Contudo, a taxa assimilatória líquida de plantas mantidas sob déficit hídrico apresentou valores 34% maiores em relação às plantas sob alagamento.

A redução na taxa assimilatória líquida também foi observada para plantas da cv. Flordaguard, sendo esta redução de 70% e 85% em relação ao controle, respectivamente aos três e oito dias após início do estresse por alagamento (Figura 1). O déficit hídrico causou redução de 43% aos oito dias de estresse, quando comparado aos valores das plantas controle. Quando submetidas à recuperação, a taxa assimilatória líquida das plantas anteriormente expostas ao déficit hídrico alcançou valores similares ao controle três dias após a reposição da água no solo, resposta não observada nas plantas submetidas ao alagamento.

No dia 1 de estresse por alagamento da cv. Flordaguard, embora se tenha registrado valor ligeiramente superior de g_s em relação aos demais tratamentos, essa diferença não foi significativa (Figura 1). A g_s da cv. Flordaguard diminuiu em ambos os tratamentos após 48 horas, porém esta redução foi mais drástica no tratamento por alagamento, enquanto que o valor de g_s das plantas estressadas por seca foi inferior a tratamento controle, mas sem diferença significativa (Figura 1). A partir de 48 horas verificou-se o completo fechamento dos estômatos nas plantas alagadas, inclusive no período de recuperação. Além disso, a partir do segundo dia de estresse foi observado início do murchamento das folhas, tornando-se mais intenso com o avanço do estresse. Por outro lado, nas plantas submetidas ao déficit hídrico registrou-se diminuição em g_s até o oitavo dia, onde o valor de g_s foi aproximadamente 70% inferior a testemunha. Porém no terceiro dia de recuperação a g_s voltou a ficar com valores próximos e não diferindo significativamente em relação ao tratamento controle, mas sendo superior ao valor médio das plantas alagadas (Figura 1).

Plantas da cv. Mirabolano 29-C sob condições de déficit hídrico apresentaram valores de A e g_s , 47% e 84% respectivamente, menores do que as plantas controle, no primeiro dia de avaliação, atingindo valores próximos a zero no oitavo dia (Figura 1). Quando submetidas ao alagamento, as plantas desta cultivar apresentaram taxas de A e g_s similares ao controle até

o terceiro dia, porém diminuindo a partir deste período, atingindo valores próximos a zero somente no oitavo. Assim, mesmo sob alagamento, as plantas de esta cultivar mantiveram valores de condutância estomática semelhantes ao controle, até o terceiro dia de tratamento.

Durante o período de recuperação do déficit hídrico da cv. Mirabolano 29-C a A e g_s aumentaram, chegando a valores semelhantes aos registrados no início do experimento, porém menores que as plantas controle e alagadas, sendo que nestas últimas houve um pequeno incremento de A e g_s , cujos valores não diferiram aos das plantas controle.

Com base nos resultados obtidos, verifica-se que os efeitos do estresse hídrico sobre as plantas são variados e depende principalmente da intensidade e da tolerância do genótipo. De acordo com Brunini & Cardoso (1998), a redução na condutância estomática determinada pelo estresse hídrico, afeta uma série de interações planta-ambiente, uma vez que os estômatos controlam o fluxo de vapor d'água e, indiretamente, o balanço de energia entre o vegetal e o ambiente. Embora a redução na perda de água possa representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido, esta, no entanto, pode afetar diretamente o balanço de calor sensível sobre o vegetal e a absorção de CO_2 .

A condutância estomática é um dos principais fatores que regulam o processo fotossintético nas plantas e é controlada pela turgidez das células-guarda, que regulam a abertura ou fechamento dos estômatos (Rodrigues et al., 2011). Com isso, a redução do status hídrico da planta sob estresse hídrico promove diminuições significativas na taxa fotossintética líquida e na produção de energia para a planta (Sofa et al., 2005, Amador et al., 2012).

Para as plantas da cv. Mirabolano 29-C, sob as condições de alagamento do presente trabalho, verificou-se que a redução de A ocorreu somente no oitavo dia, porém as plantas apresentaram valores de g_s muito similares aos registrados por Martinazzo et al. (2013), também aos oito dias de estresse. Por outro lado, nas plantas mantidas sob déficit hídrico, a queda ocorreu já no primeiro dia de avaliação, tanto para a A quanto para g_s .

Redução na taxa fotossintética em dois portaenxertos de ameixeira (P.2175 e P.2980) sob alagamento também foi observada por Dichio et al. (2004), porém, aos 24 dias de estresse, sendo que ambos voltaram a mostrar valores semelhantes ao controle no período de recuperação. Os mesmos autores citam que todas as plantas híbridas de cruzamentos de pessegueiro x damasqueiro morreram quando alagadas pelo mesmo período.

Amador et al. (2012) estudaram a influência do alagamento em plantas de ameixeira *P. cerasifera* (P.2175 e P.2980) e híbridos de pessegueiro x damasqueiro, e observaram o mesmo comportamento de Mirabolano 29-C registrados no presente experimento. Os autores indicam que os genótipos P.2175 e P.2980, registraram uma redução linear de g_s até sete dias de alagamento, voltando a ficar com valores semelhantes ao controle após sete e 16 dias de recuperação, respectivamente. Nos híbridos de pessegueiro x damasqueiro, a queda de g_s foi bem

mais acentuada, atingindo valores muito próximos a zero, no entanto, após 23 dias de recuperação os valores de g_s voltaram a ficar semelhantes ao controle. Esse aumento nos valores de g_s durante a recuperação também foram observados no presente ensaio. Sofo et al. (2005) verificaram redução na taxa fotossintética líquida aos dois dias após o início de déficit hídrico, atingindo valores 70% e 85% menores que o controle, aos 23 e 70 dias após o início do estresse, respectivamente, em todos os genótipos híbridos de *Prunus* testados. A partir desse período, até o 70º dia, os valores de A mantiveram-se praticamente inalterados. No período de recuperação, os valores da taxa fotossintética aumentaram, ficando semelhantes ao controle após 14 dias. Cabe ressaltar que há uma grande diferença no tempo de avaliação pelo fato das plantas utilizadas nos trabalhos citados acima estarem no campo, enquanto que em nossa pesquisa as plantas encontravam-se em vasos, onde as condições são diferenciadas, e a disponibilidade de espaço e solo é muito menor.

Pistelli et al. (2012), em trabalho realizado com alagamento de plantas de portaenxerto de *Prunus* Mr.S.2/5 e seus clones (S.1 e S.4), que divergem quanto à tolerância ao alagamento, verificaram que após seis dias de exposição ao encharcamento, as plantas do clone S.1 foram severamente danificadas, mostrando murcha e forte epinastia das folhas, fato também observado neste trabalho.

Em dias quentes com radiação solar intensa, mesmo havendo água disponível no solo, a quantidade de água transpirada pelas folhas é superior à quantidade absorvida pelas raízes e transportada pelo xilema, causando assim um estresse hídrico temporário, fechando os estômatos, reduzindo a entrada de CO_2 na folha e conseqüentemente, a fotossíntese (Marengo & Lopes, 2007). Esse efeito possivelmente está associado à resposta observada nas plantas controle da cv. Mirabolano 29-C, que no último dia de recuperação apresentaram uma queda brusca nos valores de g_s das plantas controle, atingindo valores 67% menores que na avaliação anterior. Essa queda deve-se ao fechamento dos estômatos, e provavelmente tenha sido influenciada pela alta temperatura, que no dia da última avaliação chegou a 37°C, enquanto que na anterior foi 25°C. Além disso, segundo Flexas & Medrano (2002), em plantas submetidas ao déficit hídrico, pode ocorrer redução da taxa fotossintética devido à limitação estomática ao influxo de CO_2 , danos ao aparato fotoquímico da fotossíntese, redução na síntese de ATP, e diminuição na atividade da Rubisco ou em sua taxa de regeneração.

Vários estudos mostram que sob estresse leve, um ligeiro declínio na condutância estomática pode ter efeito protetor, permitindo à planta melhorar a eficiência do uso da água (Chaves, 2009). Neste trabalho, houve decréscimo significativo na condutância estomática em todos os genótipos avaliados, em ambos estresses, fato também observado por Almeida & Soares (2003), em eucalipto, durante a estação seca, resultando em um controle estomático eficiente sobre a transpiração.

Atividade antioxidante e Avaliações bioquímicas

A variação na atividade das enzimas antioxidantes faz parte das respostas das plantas ao estresse biótico e abiótico, estando envolvidas nos processos que permitem aumentar a sobrevivência durante o crescimento inicial, frente às mudanças ambientais (Delias, 2013). Entre as várias enzimas envolvidas na eliminação das EROs, a SOD pode ser considerada uma enzima chave, sendo, geralmente, a primeira linha de defesa ao estresse oxidativo (Asada, 1999, Zanandrea et al., 2010; Amador et al., 2012).

Neste trabalho, verificou-se que houve interação significativa entre os fatores tempo e estresse hídrico (alagamento e déficit hídrico) para todas as enzimas avaliadas em todas as cultivares, com exceção da SOD na cv. Flordaguard, onde não houve diferença entre os fatores.

Para a cv. Capdeboscq, não houve diferença na atividade da SOD nas plantas submetidas ao déficit hídrico por oito dias, quando comparadas ao controle (Figura 2). Entretanto, a atividade dessa enzima diminuiu nas plantas alagadas pelo mesmo período. A atividade da CAT não alterou nessa cultivar, nas plantas sob déficit hídrico, enquanto que nas alagadas a atividade foi 2,5 e 2,2 vezes maior que no controle, aos quatro e oito dias, respectivamente. A atividade da APX foi 35% e 6,7% maior que o controle aos quatro e oito dias de restrição hídrica, respectivamente, e nas plantas sob alagamento a atividade desta enzima foi 93% e 29% maior, no mesmo período de avaliação (Figura 2).

Em relação à cv. Flordaguard, não houve diferenças entre os tratamentos controle e déficit hídrico para a atividade das enzimas SOD, CAT e APX (Figura 2). A atividade da SOD nas plantas alagadas também não sofreu alteração, quando comparada ao controle, no entanto, a atividade da CAT foi 67% maior que o controle, aos oito dias de alagamento, e a atividade da APX foi 8,6 % e 63% maior nas plantas alagadas por quatro e oito dias, respectivamente.

Ao analisar os resultados da cv. Mirabolano 29-C, observou-se, de maneira geral, um aumento na atividade das três enzimas estudadas, em ambos tratamentos, quando comparadas ao controle. Para as plantas submetidas ao déficit hídrico, verificou-se que a atividade da SOD não alterou, enquanto que a da CAT foi 69% e 29% maior que o controle, aos quatro e oito dias, respectivamente. O alagamento também induziu um aumento na atividade dessa enzima, com índices 84% maiores aos quatro dias e 109%, aos oito dias.

A baixa atividade da SOD nas cv. Capdeboscq e Flordaguard, em ambos estresses, e em Mirabolano 29-C sob déficit hídrico pode indicar uma baixa produção de $O_2^{\bullet-}$ e alta produção das demais EROs, justificando a alta atividade da CAT e APX, enzimas responsáveis pelo catabolismo do H_2O_2 . Por outro lado, a cv. Mirabolano 29-C submetida ao alagamento provavelmente apresentou aumento significativo na produção de $O_2^{\bullet-}$, o que justificaria o aumento observado na atividade da SOD.

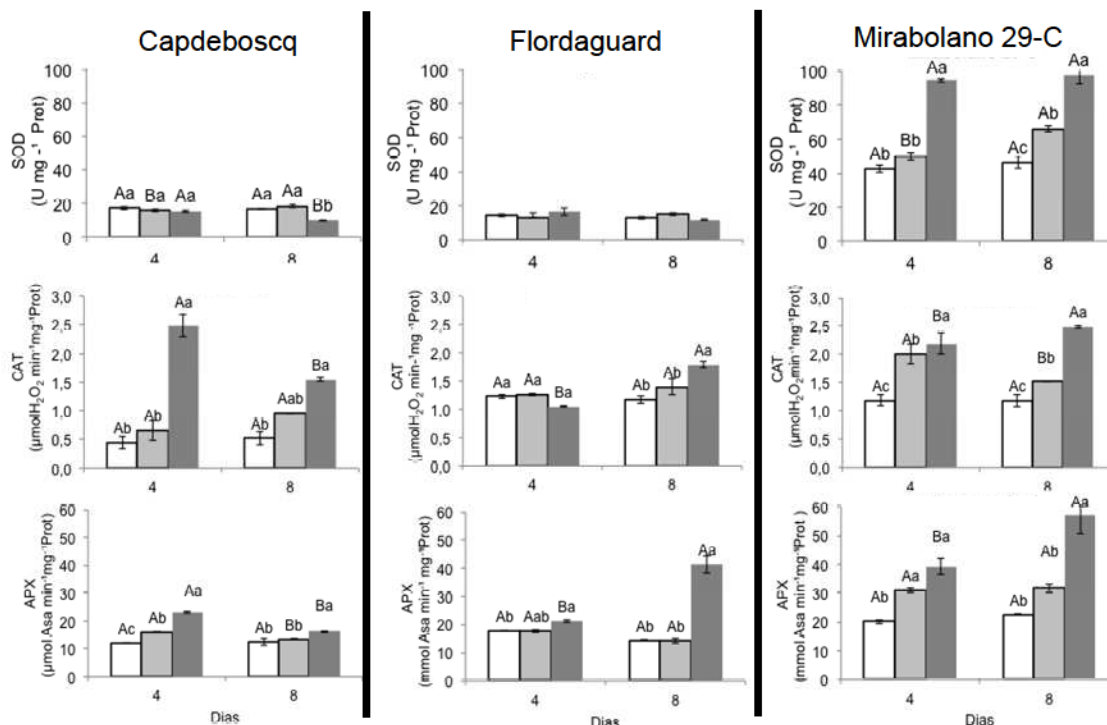


Figura 2: Atividade das enzimas antioxidantes em plantas de portaenxertos de pessegueiro cv. Capdeboscq e Flordaguard e de ameixeira cv. Mirabolano 29-C cultivadas sob diferentes condições hídricas, durante oito dias. SOD: Superóxido dismutase, CAT: Catalase, APX: Ascorbato peroxidase. Letras minúsculas diferentes no gráfico indicam diferenças significativas entre as condições hídricas, e letras maiúsculas, entre os tempos, pelo teste de Tukey ($\alpha=0.05$). As barras indicam o erro padrão da média de três repetições.

Há muitos estudos mostrando que sob condições de alagamento as plantas podem desencadear a produção e acúmulo de espécies reativas de O_2 , as quais causam muitos danos às membranas e estimulam processos peroxidativos de lipídios (Alonso et al., 1997; Boamfa et al., 2005). Aumentos nas concentrações de H_2O_2 e MDA como indicador de peroxidação de lipídios são indicativos de estresse oxidativo (Mittler, 2002; Alves et al., 2013).

No presente estudo, verificou-se que para a peroxidação lipídica houve apenas diferença significativa em relação à condição hídrica (Figura 3). Para as cv. Capdeboscq e Flordaguard ocorreu um aumento da peroxidação lipídica nas plantas submetidas ao alagamento ($266 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}^{-1}$ e $320 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}^{-1}$, respectivamente), enquanto que sob déficit hídrico os valores mantiveram-se semelhantes ao controle ($178 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}^{-1}$ e $236 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}^{-1}$, respectivamente). Na cv. Mirabolano 29-C os valores de peroxidação lipídica foram 23% e 13% maiores no alagamento e na seca, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

Houve aumento significativo no teor de H_2O_2 nas folhas das cv. Capdeboscq e Mirabolano 29-C, em ambos estresses hídricos, quando comparados ao controle (Figura 4A e 4C). Plantas de Capdeboscq submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento apresentaram valores 104% e 92% maiores que o controle, respectivamente, enquanto que em Mirabolano 29-C essa diferença foi de 73% e 91%, respectivamente. A

cv. Flordaguard não apresentou diferenças entre os tratamentos (Figura 4B).

Sofo et al. (2005) observaram que em híbridos interessantes de *Prunus* a atividade da APX foi maior que o controle aos 23 dias de déficit hídrico, diminuindo gradativamente até 70 dias, quando atingiu valores semelhantes ao controle. Por outro lado, os níveis de H_2O_2 apresentaram aumento contínuo durante todo o período de estresse. Esses dados são similares aos obtidos para as cultivares Capdeboscq e Mirabolano 29-C, que apresentaram aumento da atividade da APX, aos quatro dias sob déficit hídrico, com concomitante aumento na produção de H_2O_2 . Amador et al. (2012) também verificaram alterações na atividade de enzimas antioxidantes, em plantas de *Prunus* sob alagamento por 24h, no entanto, diferentemente do observado nesta pesquisa, a atividade das enzimas foi maior no genótipo sensível (Felinem) em relação ao tolerante ao alagamento (P.2175).

Reações formadoras de EROs estão envolvidas no metabolismo normal das plantas, como fotossíntese, respiração e fotorrespiração, assim como processos induzidos durante estresses abióticos. Em condições normais de crescimento, a produção de EROs é baixa ($240 \mu\text{M s}^{-1} O_2^-$ e $0,5 \mu\text{M H}_2O_2$ em cloroplastos). Entretanto, diante de diversos tipos de estresse, quando a homeostase celular é rompida, ocorre aumento da produção ($240-720 \mu\text{M s}^{-1} O_2^-$ e $5-15 \mu\text{M H}_2O_2$ em cloroplastos) (Polle, 2004; Mittler, 2002).

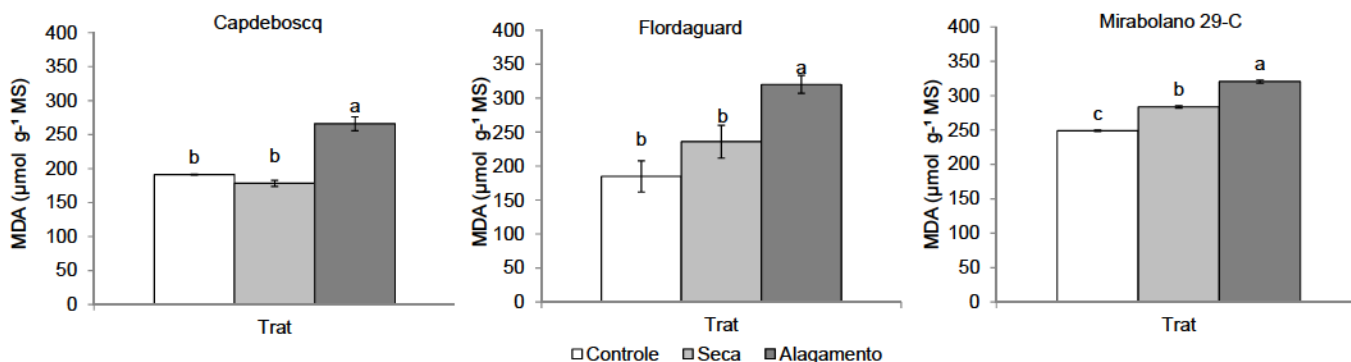


Figura 3: Peroxidação lipídica em plantas de portaenxertos de pessegueiro cv. Capdeboscq e Flordaguard, e de ameixeira cv. Mirabolano 29 C submetidas a diferentes condições hídricas, durante oito dias. A quantidade determinada nas amostras de material fresco foram transformadas para massa seca, utilizando-se o fator de conversão 0,255. Letras minúsculas diferentes no gráfico indicam diferenças significativas entre as condições hídricas pelo teste de Tukey ($\alpha=0.05$). As barras indicam o erro padrão da média de três repetições.

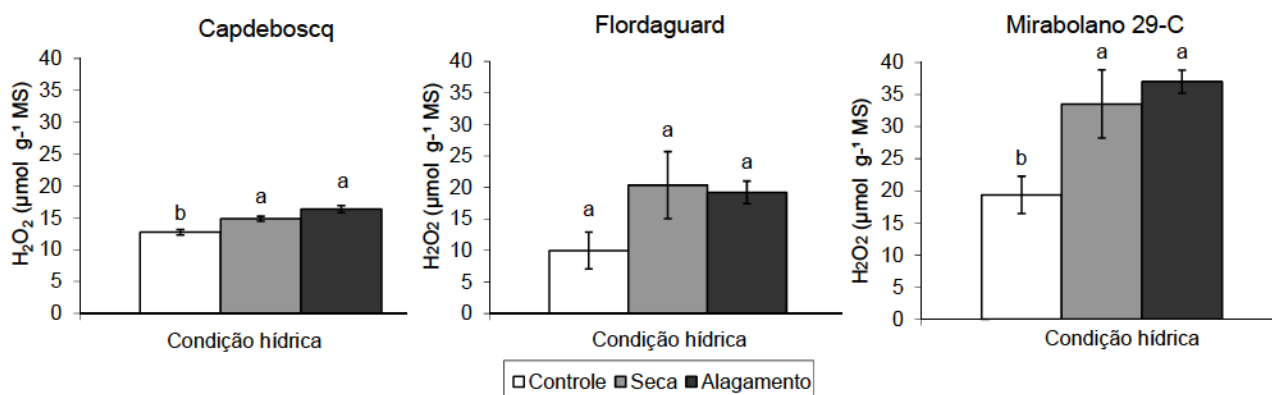


Figura 4: Peróxido de hidrogênio em plantas de portaenxertos de pessegueiro cv. Capdeboscq e Flordaguard, e de ameixeira cv. Mirabolano 29 C submetidas a diferentes condições hídricas, durante oito dias. As concentrações determinadas nas amostras de material fresco foram transformadas para massa seca, utilizando-se o fator de conversão 0,255. Letras minúsculas diferentes no gráfico indicam diferenças significativas entre as condições hídricas pelo teste de Tukey ($\alpha=0.05$). As barras indicam o erro padrão da média de três repetições.

Uma sutil alteração na homeostase leva a uma alteração na expressão de genes codificantes de proteínas antioxidantes e de proteínas envolvidas na cascata de fosforilação, através da ativação de MAPK (proteínas quinases ativadas por mitógenos) (Neill et al., 2002). Estresses que induzem a formação de 1O_2 afetam aproximadamente 5% do total do genoma de *Arabidopsis*, no entanto, a expressão destes genes não é afetada da mesma forma quando ocorre elevação dos níveis de O_2^-/H_2O_2 . Segundo Laloi et al. (2007), não se conhece exatamente se essas vias operam separadamente ou interagem entre si, mas parece haver antagonismo entre H_2O_2 e 1O_2 no que se refere às respostas a estresses abióticos, e uma interação cruzada entre as EROs parece ser essencial no controle dos ajustes antioxidantes, quando em situação de estresse.

Um declínio na atividade da SOD durante o final do período de alagamento, verificado nos portaenxertos de pessegueiro Flordaguard e Capdeboscq, também foi descrito em raízes de plantas de citros (Arbona et al., 2009, Hossain et al., 2009) e de *Sesbania virgata* (Alves et al., 2013), evidenciando que o padrão de expressão para SOD foi similar para o mesmo tipo de estresse, embora o tipo de tecido estudado tenha sido diferente.

De acordo com Zhang & Kirkham (1996), a capacidade de manutenção da atividade da SOD, da CAT e da APX, em níveis elevados, sob condições de estresse ambiental, é essencial para a o equilíbrio entre a formação e a remoção do H_2O_2 do ambiente intracelular. Mittler (2002) sugeriu que altos níveis de H_2O_2 podem causar danos às membranas, pois ele pode acelerar a reação de Haber-Weis, resultando na formação do radical hidroxila e em peroxidação lipídica.

A localização subcelular e as propriedades bioquímicas distintas das enzimas antioxidantes, suas induções diferenciais, associado a presença de mecanismos não-enzimáticos resultam em um sistema antioxidante versátil e flexível, capaz de controlar o acúmulo de EROs (Vranová et al., 2002). O Km das enzimas envolvidas no sistema de defesa é outro fator que pode influenciar na capacidade de controle do metabolismo de EROS durante condições de estresse.

O Km da CAT varia de 2,4 a 225 mM, enquanto que o da APX é de 60 a 1000 μ M. O baixo Km na reação da APX reflete uma maior afinidade desta enzima ao H₂O₂ (Singh et al., 2008). Isso foi observado na cv. Capdeboscq submetida ao déficit hídrico, mostrando que há uma maior afinidade da enzima APX pelo H₂O₂, pois um pequeno aumento na quantidade de H₂O₂ produzido pelas células das plantas sob estresse foi suficiente para ativar esta enzima, o que não ocorreu com a CAT.

O H₂O₂, em baixas concentrações, atua como uma molécula sinalizadora, desencadeando vários processos relacionados a estresses, enquanto que em concentrações elevadas pode levar à morte celular programada (Gill & Tuteja, 2010). Por isso o acúmulo de H₂O₂ pode causar a peroxidação de membranas celulares, prejudicando a sua função e integridade, com danos, frequentemente irreversíveis, para o funcionamento da célula (Deuner et al., 2011).

Para espécies do gênero *Prunus* e outras árvores frutíferas, embora tenham sido encontradas diferenças no desempenho fisiológico (Arbona et al., 2009), não há adaptações anatômicas como ocorre em plantas de locais com alagamento intermitente (Zanandrea et al., 2010). Logo após a transferência para um ambiente com baixa disponibilidade de O₂, as células limitam processos que são altamente energéticos e alteram o metabolismo de aeróbico para anaeróbico para geração de ATP. De acordo com alguns pesquisadores, as plantas somente conseguem sobreviver à hipoxia/anoxia caso consigam manter a produção de ATP e a reciclagem do poder redutor, fazendo associação dessa adaptação metabólica a aumentos na taxa de fermentação (Drew, 1997; Atkinson et al., 2008). Os resultados apresentados neste trabalho indicam uma ativação do sistema antioxidante por diferentes graus de estresses, seja por alagamento ou por déficit hídrico. No entanto, sabe-se que, em muitas espécies, o principal dano causado por estresse hipóxico ocorre durante a re-oxigenação dos tecidos (Blokhina et al., 2003), porém, em nossa pesquisa, não foi possível fazer as análises enzimáticas no período de recuperação.

Neste trabalho, observou-se que, de maneira geral, plantas de pessegueiro submetidas ao déficit hídrico não apresentaram um aumento expressivo na atividade das enzimas do sistema antioxidante, e apesar de haver um maior acúmulo de H₂O₂ nas células, este não foi tão expressivo a ponto de causar um aumento na peroxidação dos lipídios das membranas celulares. Entretanto, nas plantas de pessegueiro submetidas ao alagamento, houve um aumento da atividade dessas enzimas, porém, esse aumento não foi suficiente para eliminar o excesso de H₂O₂ formado, o que provavelmente foi o responsável pelo incremento na peroxidação lipídica. Esses resultados foram

semelhantes aos registrados na cv. Mirabolano 29-C, que submetida ao déficit hídrico e ao alagamento, conseguiu ativar o sistema antioxidante, aumentando a atividade das enzimas analisadas, porém, houve uma alta produção de H₂O₂, o que ocasionou o aumento na peroxidação lipídica observada em ambos tratamentos. Na análise conjunta dos dados bioquímicos, enzimáticos e dos parâmetros associados à fotossíntese (A e g_s), é possível verificar que os genótipos de pessegueiro, avaliados no presente trabalho, apresentam uma resposta mais tardia ao déficit hídrico, ou seja, são mais tolerantes a este estresse, em relação à ameixeira cv. Mirabolano 29-C, enquanto que sob condição de hipoxia ocorre uma resposta inversa. Tais resultados demonstram a existência de variabilidade entre genótipos de *Prunus* spp. para tais condições de estresse, que podem ser utilizadas para auxiliar no manejo dos pomares e no melhoramento genético de portaenxertos mais tolerantes ao déficit hídrico.

CONCLUSÃO

Nas cultivares Flordaguard e Capdeboscq ocorrem maiores danos quando estes encontram-se sob condições de estresse por alagamento, verificado por meio da menor taxa assimilatória de CO₂ e condutância estomática, e maior peroxidação lipídica.

O portaenxerto cv. Mirabolano 29-C tolera o alagamento do sistema radicular por curtos períodos, evidenciado pelo aumento da taxa fotossintética no período de recuperação e pela maior ativação das enzimas do sistema antioxidante;

REFERÊNCIAS

- Almeida, A.C. & J.V. Soares. 2003. Comparação entre uso de água em plantações de *Eucalyptus grandis* e floresta ombrófila densa (Mata Atlântica) na costa leste do Brasil. *Revista Árvore* 27, pp. 159-170.
- Alonso, A., C.S. Queiroz & A.C. Magalhães. 1997. Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA. Biomenbranes* 1323 (1), pp. 75-84.
- Alves, J.D., I. Zanandrea, S. Deuner, P.F.P. Goulart, K.R.D. Souza & M.S. Santos. 2013. Antioxidative responses and morpho-anatomical adaptations to waterlogging in *Sesbania virgata*. *Trees* 27, pp. 717-728.
- Amador, M.L., S. Sancho, B. Bielsa, J. Gomes-Aparisi & M.J. Rubio-Cubetas. 2012. Physiological and biochemical parameters controlling waterlogging stress tolerance in *Prunus* before and after drainage. *Physiologia Plantarum*, 144, pp. 357-368.
- Amako, K., G. Chen & K. Asada. 1994. Separate assay specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. *Plant and Cell Physiology*, 35, pp. 497-504.
- Apel, K. & H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction.

- Annual Review of Plant Biology, Oxford, 55, pp. 373–399.
- Arbona, V., Z. Hossain, M.F.L. Climent & A.G. Cadenas.** 2009. Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus. *Physiologia Plantarum* 132, pp. 452-466.
- Asada, K.** 1999. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, pp. 601-639.
- Atkinson, C.J., R.S. Harrison-Murray & J.M. Taylor.** 2008. Rapid flood-induced stomatal closure accompanies xylem sap transportation of root-derived acetaldehyde and ethanol in *Forsythia*. *Environmental and Experimental Botany* 64 (3), pp. 196-205.
- Bailey-Serres, J. & L.A.C.J. Voesenek.** 2008. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annual Review of Plant Biology* 59, pp. 313–339.
- Biemelt, S., U. Keetman & G. Albrecht.** 1998. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. *Plant Physiology* 116 (2), pp. 651-658.
- Blokhina, O., E. Virolainen & K.V. Fagerstedt.** 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91, pp. 179-194.
- Boamfa, E.I., A.H. Eres, P.C. Ram, M.B. Jackson, J. Reuss & J.M. Harren.** 2005. Kinetics of ethanol and acetaldehyde release suggest a role for acetaldehyde production in tolerance of rice seedlings to micro-aerobic conditions. *Annals of Botany* 96 (4), pp. 727-736.
- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochemistry* 72 (1/2), pp. 248-254.
- Brunini, O. & M. Cardoso.** 1998. Efeito do déficit hídrico no solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33 (7), pp.1053-1060.
- Buege, J.A. & S.D. Aust.** 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 52, pp. 302-310.
- Chaves, M.M.** 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103, pp. 551-560.
- Cunha, N.G. & R.J.C. Silveira.** 1996. Estudo dos solos do município de Pelotas/ - Pelotas : EMBRAPA/CPACT, Ed. UFPel, 1996. 50 p. : il.(Documentos CPACT; 12/96).
- Delias, D.S.** 2013. Características biométricas, trocas gasosas e atividade do sistema antioxidante de plantas de Eucalipto durante o crescimento inicial. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 73 pp.
- Deuner, S., J.D. Alves, I. Zanandrea, A.A. Lima, P.F. P. Goulart, N.M. Silveira, P.C. Henrique & A.C. Mesquita.** 2011. Stomatal behavior and components of the antioxidative system in coffee plants under water stress. *Scientia Agricola* 55 (1), pp.77-85.
- Dichio, B., C. Xiloyannis, G. Celano, & L. Vicinanza.** 2004. Performance of new selections of *Prunus* rootstocks, resistant to root knot nematodes, in waterlogging conditions. *Acta Horticulturae*, 658, pp. 403-406.
- Diniz, A.C.B., L.V. Astarita & E.R. Santarém.** 2007. Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento *Acta Botanica Brasilica*, 21(2): 443-450.
- Drew, M.C.** 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48, p. 223-250.
- Ennahli, S. & H.J. Earl.** 2005. Physiological Limitations to Photosynthetic Carbon Assimilation in Cotton under Water Stress. *Crop Science* 45, pp. 2374-2382.
- Fachinello, J.C., C.S. Tibola, M. Vicenzi, E. Parisotto, L. Picolotto, J. Flexas & H. Medrano.** 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* 89, pp.183-189.
- Flexas, J. & H. Medrano.** 2002. Drought inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*, 89, pp.183-189.
- Giannopolitis, C.N. & S.K. Ries.** 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59 (2), pp. 309-314.
- Gill, S.S. & N. Tuteja** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, pp. 909-930.
- Havir, E.A. & N.A. Mchale.** 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* 84 (2), pp. 450-455.
- Hinckley, T.M., H. Richter & P.J. Shulte.** 1991. Water relations. In: *Physiology of Trees*. A.S. Raghacendra, Wiley: New York. pp. 137-162.
- Hossain, Z., M. L’opez-Climent, V. Arbona, R. P’erez-Clement & A. G’omez-Cadenas.** 2009. Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage. *Journal of Plant Physiology* 166, pp. 1391–1404.
- Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística (IBGE).** 2013. Disponível em www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rs&tema=1 avourapermanente2009. Último acesso: 10 de dezembro de 2013.
- Laloi, C., M. Stachowik, E. Pers-Kamczyc, E. Warzych, I. Murgia & K. Apel.** 2007. Cross-talk between singlet oxygen- and hydrogen peroxide-dependent signaling of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Proceeding of the National Academy of Science. U.S.A.* 104, pp. 672–677.
- Liao, C.T. & C.H. Lin.** 1995. Effect of flood stress on morphology and anaerobic metabolism of *Momordia charantia*. *Environmental and Experimental Botany* 35 (1), pp. 105-113.
- Maia, J.M., S.L.F. Sergio Luiz Ferreira-Silva, E.L. Voigt, C.E.C. Macedo, L.F.A. Ponte & J.A.G. Silveira.** 2012. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. *Acta Botanica Brasilica* 26(2): 342-349.
- Marengo, R.A. & N.F. Lopes.** 2007. *Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. 2 ed. Editora UFV, Viçosa, MG. 469 pp.
- Martinazzo, E.G., A.T. Perboni, P.V. Oliveira, V.J. Bianchi & M.A. Bacarin.** 2013. Atividade fotossintética em plantas de ameixeira submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. *Ciência Rural* 43 (1), pp. 35-41.

- Masia, A., B. Marangoni & S. Sansavini.** 1999. Il deperimento dei peschi da asfissia radicale: basi fisiologiche ed effetti metabolici. *Frutticoltura* 9, pp. 71-75.
- Mittler, R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7 (9), pp. 405-410.
- Nakano, Y. & K. Asada.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22 (5), pp. 867-880.
- Neill, S., R. Desikan & J. Hancock.** 2002. Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 5, pp. 388-395.
- Pistelli, L., C. Lacona, D. Miano, M. Cirilli, M.C. Colao, A. Mensuali-Sodi & R. Muleo.** 2012. Novel *Prunus* rootstock somaclonal variants with divergent ability to tolerate waterlogging. *Tree Physiology*, 32, pp. 355-368.
- Polle, A.** 2004. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate peroxidase- glutathione pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. *Plant Physiology*, 126, pp. 445-462.
- Rodrigues, H.J.B., R.F. Costa, J.B.M. Ribeiro, J.D.C. S. Filho, M.L.P. Ruivo & J.A. Júnior.** 2011. Variabilidade sazonal da condutância estomática em um ecossistema de manguezal amazônico e suas relações com variáveis meteorológicas. *Revista Brasileira de Meteorologia* 26 (2), pp. 189 - 196.
- Shmitz, J.D., V.J. Bianchi, M.S. Pasa, A.L.K. Souza & J.C. Fachinello.** 2012. Vigor e produtividade do pessegueiro 'Chimarrita' sobre diferentes porta-enxertos. *Revista Brasileira de Agrociência* 18 (1-4), pp.1-10.
- Singh, A.K., M. Bhattacharyya-Pakrasi & H.B. Pakrasi.** 2008. Identification of an atypical membrane protein involved in the formation of protein disulfide bonds in oxygenic photosynthetic organisms. *The Journal of Biological Chemistry*, 283, pp.15762-15770.
- Smirnoff, N.** 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 229-235.
- Sofo, A., A.C. Tuzio, B. Dichio & C. Xiloyannis.** 2005. Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate-glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. *Plant Science* 169, pp. 403-412.
- Velikova, V., I. Yordanov & A. Edreva.** 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151 (1), pp. 59-66.
- Voesenek, L.A.C.J., T.D. Colmer, R. Pierik, F.F. Millenaar & A.J.M. Peeters.** 2006. How plants cope with complete submergence. *New Phytologist* 170 (2), pp. 213-226.
- Vranová, E., D. Inzé & F.V. Breusegem.** 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53 (372), pp. 1227-1236.
- Xiloyannis, C., B. Dichio, A.C. Tuzio, M. Kleinhenz, G. Salesses, J.G. Aparisi, M.J.R. Cabetas & D. Esmenjaud.** 2007. Characterization and Selection of *Prunus* Rootstocks Resistant to Abiotic Stresses: Waterlogging, Drought and Iron Chlorosis. *Acta Horticulturae* 732, pp. 247-251.
- Zanandrea, I., J.D. Alves, S. Deuner, P.F.P. Goulart, P.C. Henrique & N.M. Silveira.** 2010. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. *Australian Journal of Botany*, 57, pp. 661-669.
- Zhang, F. & M.B. Kirkham.** 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytologist*, 132, pp. 361-373.