

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 05/09/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Ana Beatriz Marques Honório

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica).

BOTUCATU – SP

2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Ana Beatriz Marques Honório

Prof^a Dr^a Gisela Ferreira

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica).

BOTUCATU – SP

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Honório, Ana Beatriz Marques.

Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer / Ana Beatriz Marques Honório. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Gisela Ferreira
Capes: 20303009

1. Açúcares. 2. Alcaloides. 3. Anonacea. 4. Enzimas.
5. Fotossíntese.

Palavras-chave: Açúcares foliares; Alcaloides; Annonaceae;
Enzimas antioxidantes; Fotossíntese.

Toda mulher é forte, basta acreditar! Então menina, engole o choro ergue a cabeça e siga em frente, sempre!

Agradecimentos

À **Deus** pela oportunidade, força, sabedoria e resiliência para conclusão desse trabalho.

À **Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** – pelo auxílio financeiro para a realização do trabalho (código de Financiamento 001).

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, Campus de Botucatu, e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), pela estrutura e oportunidade.

À **Profa. Dra. Gisela Ferreira** pela oportunidade, orientação, auxílio, ensinamentos, confiança, paciência e dedicação durante este período.

À **minha família (em especial minha mãe, Simone Neves)** por todo exemplo de força, determinismo e por sempre me incentivarem a buscar meus objetivos.

Aos amigos do **Laboratório de Germinação e Laboratório de Crescimento e Fisiologia Vegetal - UNESP Botucatu** pelas exaustivas horas de bancada, auxílio nos experimentos, pelos momentos de descontração e parceria.

Aos amigos do viveiro de mudas do **Departamento de Ciência Florestal e Solos**, por toda vivência, aprendizado e apoio técnico na condução dos experimentos.

Aos amigos de Botucatu, que se tornaram uma grande família ao longo dos anos, que muitas vezes presenciaram as agonias, mas também, as pequenas alegrias.

Aos grandes amigos do Tocantins, uma família que levo sempre comigo, crescemos juntos e assim continuaremos.

Aos demais amigos de Goiás, Santa Catarina, muito obrigada por me acompanharem nessa caminhada.

Esse trabalho é fruto do apoio de cada um de vocês.

Muito obrigada!

SUMÁRIO:

Resumo	1
Introdução Geral.....	3
Objetivos	5
Objetivo Geral	5
Objetivos Específicos.....	5
Referências.....	6
CAPÍTULO 1: Revisão - AVANÇOS SOBRE O IMPACTO DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO PRIMÁRIO, PRODUÇÃO DE ALCALOIDES E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO EM ANNONACEAE.....	8
1. Estresse hídrico vegetal.....	8
2. Trocas gasosas.....	10
3. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	13
4. Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e Enzimas Antioxidantes	14
5. Carboidratos Foliare	17
6. Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA).....	19
7. Alcaloides.....	20
8. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (Near-Infrared Spectroscopy – NIRS)	21
8.1. <i>Reflectância Foliar</i>	23
9. Família Annonaceae Juss.....	24
10. Gênero <i>Annona</i> L.	26
11. <i>Annona crassiflora</i> Mart.	26
12. <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H. Rainer.	29
Referências.....	32
CAPÍTULO 2: IMPACTO DA SECA E ALAGAMENTO NA PRODUÇÃO DE ALCALOIDES DE <i>Annona crassiflora</i> Mart.....	51
Resumo	51
1. Introdução.....	52
2. Material e Métodos.....	53
3. Resultados	57
4. Discussão	62
5. Conclusão	67
Referências	68
CAPÍTULO 3. PRODUÇÃO DE ALCALOIDES, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E REFLECTÂNCIA FOLIAR EM PLANTAS DE <i>Annona emarginata</i> (SCHLTDL.) H. RAINER SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO	78

Resumo	78
1. Introdução.....	79
2. Material e Métodos.....	81
3. Resultados	87
4. Discussão	97
5. Conclusão	102
Referências	103
6. Material Suplementar	110
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115

HONÓRIO, A. B. M. **EFEITOS DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E PRODUÇÃO DE ALCALOIDES EM *Annona crassiflora* Mart. E *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer** 2022. 122P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

Resumo - A água juntamente com a temperatura é o recurso determinante para um bom funcionamento e crescimento das plantas, ao mesmo tempo em que é considerada também como um recurso limitante, uma vez que constitui a matriz e o meio onde ocorrem a maioria dos processos bioquímicos essenciais à vida dos vegetais e, para suprir as necessidades intrínsecas ao metabolismo vegetal, as plantas precisam renovar a água que foi transferida para a atmosfera, com o intuito de manter a turgescência das suas folhas e raízes. No entanto, nas últimas décadas o estresse hídrico causado pelas mudanças climáticas, especialmente no regime de chuvas, impactaram a produção vegetal em muitas áreas, afetando a segurança alimentar em ambientes vulneráveis, além disso, o aumento da concentração de CO₂ observada na atmosfera nos últimos 150 anos se tornou uma preocupação recorrente, pois, embora tenha sido acompanhado por uma maior assimilação e armazenamento de CO₂ em ecossistemas terrestres, há evidências de que este aumento provoca altas temperaturas e intensifica os efeitos causados pelo estresse hídrico, principalmente seca, limitando a capacidade de futuros ecossistemas terrestres de se protegerem das emissões atmosféricas. O estresse hídrico que pode ser conceituado na falta ou excesso de água no solo para a demanda, interfere em processos do metabolismo primário como afeta também o metabolismo especializado das plantas, alterando a produção de compostos químicos que apresentam propriedades funcionais diversificadas com inúmeras atividades biológicas envolvidas nas relações entre as plantas e o ambiente auxiliando na adaptação a mudanças climáticas, além de oferecer proteção a ataque de patógenos e herbívoros, alelopatia, assim como atração de polinizadores. Nesse sentido, para as espécies da família Annonaceae que apresentam produção de diversos metabólitos especializados de interesse, como os alcaloides e que pode ser afetada nos diferentes estádios fenológicos e por variações ambientais como radiação solar, temperatura e umidade se torna indispensável obter informações que visem avaliar o desempenho desse grupo de plantas, em especial *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. em condições diversas de disponibilidade hídrica, para que haja entendimento do efeito da seca como do alagamento na produção e adaptação mediante estresse hídrico.

Palavras-chave: Annonaceae; fotossíntese; enzimas antioxidantes; açúcares foliares; alcaloides.

HONÓRIO, A. B. M. **EFFECTS OF WATER STRESS ON PHOTOSYNTHETIC METABOLISM AND ALKALOID PRODUCTION IN *Annona crassiflora* Mart. E *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer** 2022. 123P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

Abstract - Water, together with temperature, is the determining resource for the proper functioning and growth of plants, while it is also considered a limiting resource, as it constitutes the matrix and medium where most of the essential biochemical processes occur. plant life and, to meet the intrinsic needs of plant metabolism, plants need to renew the water that has been transferred to the atmosphere in order to maintain the turgidity of their leaves and roots. However, in recent decades, water restrictions caused by climate change, especially in the rainfall regime, have impacted plant production in several areas, affecting food security in vulnerable environments, in addition to the increase in CO₂ concentration observed in the atmosphere in recent years 150 years has become a recurring concern, as, although it has been accompanied by greater assimilation and storage of CO₂ in terrestrial ecosystems, there is evidence that this increase causes high temperatures and intensifies the effects caused by water stress, especially drought, limiting the ability of future terrestrial ecosystems to protect themselves from atmospheric emissions. Water stress, which can be conceptualized in the lack or excess of water in the soil for the demand, interferes in the processes of primary metabolism, as well as affects the specialized metabolism of plants, altering the production of chemical compounds that have diversified functional properties with numerous properties. biological. activities involved. in the relationships between plants and the environment, helping to adapt to climate change, in addition to offering protection against attack by pathogens and herbivores, allelopathy, in addition to attracting pollinators. In this sense, for species of the Annonaceae family that produce several specialized metabolites of interest, such as alkaloids, which can be affected at different phenological stages and by environmental variations such as solar radiation, temperature and humidity, it is essential to obtain information aimed at evaluating the performance of this species. group of plants, especially *Annona crassiflora* Mart. and *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. under different conditions of water availability, so that there is an understanding of the effect of drought and floods on production and adaptation under water stress.

Key words: Annonaceae, photosynthesis, antioxidant enzymes, leaf sugars, alkaloids.

Introdução Geral

A água é um recurso de extrema importância para o desenvolvimento vegetal, considerada constituinte fundamental das plantas, pois compreende cerca de 90 a 95 % da biomassa verde, além de ter papel significativo na manutenção funcional de células, tecidos e organismos (CAMPOS et al., 2021; CHAVARRIA & SANTOS, 2012). Juntamente com a temperatura, a água é o recurso determinante para um bom funcionamento e crescimento das plantas, ao mesmo tempo em que pode ser considerada também como um recurso limitante, uma vez que constitui a matriz e o meio onde ocorrem a maioria dos processos bioquímicos essenciais à vida dos vegetais (LEHNINGER, 2006) e, para suprir as necessidades intrínsecas ao metabolismo vegetal, as plantas precisam renovar a água que foi transferida para a atmosfera, com o intuito de manter a turgescência das suas folhas e raízes (JÚNIOR et al., 2019).

No entanto, nas últimas décadas as restrições hídricas causadas pelas mudanças nas condições climáticas, especialmente no regime de chuvas, tendem a impactar a produção vegetal em muitas áreas, afetando a segurança alimentar em ambientes vulneráveis, como regiões áridas e semi-áridas, criando um nível de incerteza para sistemas de produção vegetal (DARYANTO et al., 2017) e mesmo em países com índice elevado de pluviosidade, como o Brasil, o padrão de precipitação vem mudando, indicando tendência de aumento na intensidade de chuvas mas, diminuição na frequência e como consequência podem ocorrer períodos de seca que variam de semanas a alguns meses, causando perda significativa no rendimento das plantas (CHEN & DAI, 2017; OYA et al., 2004).

Deste modo, a instabilidade hídrica é um desafio global que afeta todos os sistemas de produção de plantas em países desenvolvidos e em desenvolvimento estimando-se piora caso as mudanças climáticas persistam (ELLIOTT et al., 2018). Além disso, o aumento da concentração de dióxido de carbono (CO₂) observada na atmosfera nos últimos 150 anos é uma preocupação recorrente, pois, embora tenha sido acompanhado por uma maior assimilação e armazenamento de CO₂ em ecossistemas terrestres, há evidências de que este aumento provoca altas temperaturas e intensifica os efeitos causados pelo estresse hídrico, principalmente seca, limitando a capacidade de futuros ecossistemas terrestres de se protegerem das emissões atmosféricas (AINSWORTH et al., 2020; STUART CHAPIN & DÍAZ, 2020).

O estresse hídrico pode ser caracterizado na falta ou excesso de água no solo para a demanda, levando à redução da absorção de água e alguns nutrientes pelo sistema radicular e causando prejuízos, uma vez que, todas as plantas precisam de água para a germinação das sementes, desenvolvimento e produção, além de interferir em processos do metabolismo primário como a fotossíntese, que por sua vez produz energia necessária ao desenvolvimento vegetal, expansão radicular, como também, influência nos produtos gerados pelo metabolismo especializado pois, altera a produção dos compostos químicos gerados que apresentam propriedades funcionais diversificadas com inúmeras atividades biológicas envolvidas nas relações entre as plantas e o ambiente e, em casos extremos, o estresse hídrico pode levar a morte da planta (MARENCO & LOPES, 2009; LAURSEN; MØLLER; BASSARD, 2015).

Nesse sentido, as espécies da família Annonaceae apresentam produção de diversos metabólitos especializados de interesse, como os alcaloides (SURESH; SHIVAKUMAR; SHIVAKUMAR, 2012) que pode ser afetada nos diferentes estádios fenológicos e por variações ambientais como radiação solar, temperatura e umidade (CARVALHO et al., 2007; YANG et al., 2018), portanto, torna-se indispensável informações que visem avaliar o desempenho desse grupo de plantas em condições diversas de disponibilidade hídrica, para que haja entendimento pleno do efeito da seca como do alagamento na produção e adaptação mediante estresse hídrico e, compreender as respostas fisiológicas se torna fator essencial para avaliar e minimizar os problemas no desenvolvimento de plantas (CAMPOS et al., 2021).

Diante do exposto busca-se nesse estudo compreender como o estresse hídrico, tanto por seca como alagamento, afeta o metabolismo primário como também a produção de alcaloides em duas espécies importantes da família Annonaceae, *Annona crassiflora* MART. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

Objetivos

Objetivo Geral

Avaliar como o estresse hídrico impacta plantas jovens de *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

Objetivos Específicos

Avaliar como o estresse hídrico impacta a produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart.

Avaliar como a seca e o alagamento afetam o metabolismo primário e a produção de alcaloides e se, através da espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) é possível detectar os sinais do estresse hídrico em plantas jovens de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

Referências

- AINSWORTH, E. A.; LEMONNIER, P.; WEDOW, J. M. The influence of rising tropospheric carbon dioxide and ozone on plant productivity. **Plant Biology**, v. 22, n. S1, p. 5–11, 2020.
- CAMPOS, Anna Júlia de Moraes; SANTOS, Sarah Medeiros; NACARATH, Inaia Rhavene Freire Fagundes. Estresse hídrico em plantas : uma revisão. Water stress in plants : a review Estrés hídrico en las plantas : una revisión. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. 1–7, 2021.
- CARVALHO, Ana Paula F. *et al.* Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 1, p. 19–27, 2007.
- CHAVARRIA, Geraldo; DOS SANTOS, Henrique Pessoa. Plant Water Relations: Absorption, Transport and Control Mechanisms. **Advances in Selected Plant Physiology Aspects**, 2012.
- CHEN, Di; DAI, Aiguo. Dependence of estimated precipitation frequency and intensity on data resolution. **Climate Dynamics**, v. 50, n. 9–10, p. 3625–3647, 2017.
- DARYANTO, Stefani; WANG, Lixin; JACINTHE, Pierre André. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. **Agricultural Water Management**, v. 179, n. May, p. 18–33, 2017.
- ELLIOTT, Joshua *et al.* Characterizing agricultural impacts of recent large-scale US droughts and changing technology and management. **Agricultural Systems**, v. 159, n. October 2016, p. 275–281, 2018.
- JÚNIOR, George do Nascimento Araújo *et al.* Estresse hídrico em plantas forrageiras : Uma revisão Water stress in forage plants : A review Estrés hídrico en plantas forrajeras : Una revisión. **Pubvet Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 13, p. 1–10, 2019.
- LAURSEN, Tomas; MØLLER, Birger Lindberg; BASSARD, Jean Etienne. Plasticity of specialized metabolism as mediated by dynamic metabolons. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 1, p. 20–32, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.11.002>>.
- MARENCO, Ricardo A.; LOPES, Nei Fernandes. *Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. [S.l.: s.n.], 2009.
- OYA, Tetsuji *et al.* Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars - Evaluation and characterization of drought tolerance of various Brazilian soybean cultivars in the field. **Plant Production Science**, v. 7, n. 2, p. 129–137, 2004.
- STUART CHAPIN, F.; DÍAZ, Sandra. Interactions between changing climate and biodiversity: Shaping humanity's future. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 12, p. 6295–6296, 2020.
- SURESH, H. M.; SHIVAKUMAR, B; SHIVAKUMAR, S. I. Phytochemical Potential of *Annona reticulata* Roots for Antiproliferative Activity on Human Cancer Cell Lines. **Advances in Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 1–4, 2012.

YANG, Li *et al.* Response of plant secondary metabolites to environmental factors.
Molecules, v. 23, n. 4, p. 1–26, 2018.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo é inovador pois avaliou além da seca, também o alagamento pela primeira vez em ambas as espécies, visando tanto a produção de liriodenina, alcaloide mais abundante da família em mudas de *Annona crassiflora* Mart e *Annona emarginata* (Schltdl.) H., como também testou a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) em plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer a fim de detectar variações no conteúdo de água que conseqüentemente leva a modificações no metabolismo vegetal.

Há também a possibilidade de as plantas desta família desempenharem um importante papel no controle biológico de pragas, levando em consideração que o alcaloide liriodenina apresenta atividade antifúngica, antiprotozoária e antibacteriana, indústrias farmacológicas, como também atuarem no reflorestamento de áreas degradadas.

Além disso, é importante frisar a capacidade dessas duas espécies de tolerar condições ambientais adversas, por isso, conhecer o desempenho das mesmas mediante a diferentes situações de disponibilidade hídrica norteou os objetivos desse trabalho.