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

Fluorometria, conteúdo de açúcares, crescimento e atividade de enzimas antioxidantes em plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom em resposta a subdoses de boro

Janaina Oliveira Cruz

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração Fisiologia e Bioquímica Vegetal.

BOTUCATU – SP
2019

Instituto de Biociências – Seção de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3811-6148 fax (14) 3815-3747 posgraduacao@ibb.unesp.br

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Fluorometria, conteúdo de açúcares, crescimento e atividade de enzimas antioxidantes em plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom em resposta a subdoses de boro

JANAINA OLIVEIRA CRUZ

JOÃO DOMINGOS RODRIGUES
ORIENTADOR

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração Fisiologia e Bioquímica Vegetal.

BOTUCATU – SP
2019

Instituto de Biociências – Seção de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3811-6148 fax (14) 3815-3747 posgraduacao@ibb.unesp.br

C957f

Cruz, Janaina Oliveira

Fluorometria, conteúdo de açúcares, crescimento e atividade de enzimas antioxidantes em plantas de Solanum lycopersicum cv. Micro-Tom em resposta a subdoses de boro / Janaina Oliveira Cruz. -- Botucatu, 2021

73 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: João Domingos Rodrigues

1. Química vegetal. 2. Fotossíntese. 3. Açúcar. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEDICO

Ao meu esposo, pelo apoio e amor em todos os momentos, e aos meus filhos, pela compreensão e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade e discernimento para chegar a esta etapa e por todas as outras que ainda virão.

Agradeço aos meus filhos, Luca e Arthur pelo carinho, apoio, compreensão e companheirismo em todos os momentos. E, em especial, ao Gustavo, meu companheiro e amigo, por todas as vezes que me incentivou e me apoiou. Agradeço também ao meu sogro Martim, minha mãe Joana e meus irmãos, Jane e Jailton, por todas as palavras de carinho, apoio e consolo em todos os momentos.

Agradeço à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Capes, pela bolsa concedida.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. João Domingos Rodrigues por me acolher, orientar e me auxiliar durante todo o doutorado.

Agradeço à Profa. Dra. Elizabeth Orika Ono por ser uma pessoa solícita e me ajudar quando foi necessário.

Agradeço aos professores Dr. Jorge Miguel Luz Marques da Silva e Dra. Anabela Bernardes da Silva da Universidade de Lisboa, Portugal, por me receber, orientar e auxiliar durante o meu estágio no laboratório de vocês.

Agradeço aos amigos que fiz pelo caminho, Carla, Prínscilla, Thaís Arruda e Thayeme pelo ombro amigo no momento de estresse, pela ajuda nas análises e pelas risadas nos momentos livres.

Agradeço aos integrantes do grupo de pesquisa, Thaís Torres, Geane, Zildélia e Rúbia pelo companheirismo no laboratório e fora dele também.

Agradeço aos funcionários do Departamento de Botânica, Zé Du, Seu Auro, Heloisa e Inara pela solicitude e auxílio para a instalação e condução do meu projeto.

Agradeço também a todos que contribuíram direta, ou indiretamente, para meu crescimento pessoal e profissional.

"O pensamento escolhe. A Ação realiza. O homem conduz o barco da vida com os remos do desejo e a vida conduz o homem ao porto que ele aspira a chegar. Eis porque, segundo as Leis que nos regem, a cada um será dado segundo suas próprias obras. "

Emmanuel

Sumário

RESUMO **9**
ABSTRACT **11**
INTRODUÇÃO **13**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 18
CAPÍTILO I **23**
RESUMO 23
ABSTRACT 24
INTRODUÇÃO 24
MATERIAL E MÉTODOS 27
Avaliações bioquímicas 28
Extração do material 28
Peroxidação de Lipídios 29
Análise Protéica 29
Determinação da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) 29
Determinação da atividade da enzima Catalase (CAT) 29
Determinação da atividade da enzima Peroxidase (POD) 30
Determinação do teor de açúcares 30
Parâmetros fisiológicos da análise de crescimento 30
Análise dos dados 31
RESULTADOS 32
Avaliações bioquímicas 32
Teor de B foliar 34
Parâmetros fisiológicos de análise de crescimento 34
DISCUSSÃO 42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 45
CAPÍTULO II **50**
RESUMO 50
ABSTRACT 50
INTRODUÇÃO 51
MATERIAL E MÉTODOS 53
Avaliações bioquímicas 54
Fluorescência da clorofila a (Chl a) 55
Parâmetros fisiológicos da análise de crescimento 55
Análise dos dados 56
RESULTADOS 57
DISCUSSÃO 62

CONSIDERAÇÕES FINAIS 64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 65
ANEXO 68

Lista de Figuras

Figura 1 – Produção das mudas de Solanum lycopersicum cv. Micro-Tom. A) vasos com vermiculita; B) bandejas com solução nutritiva e aeração constante. Botucatu, UNESP, 2019. 27

Figura 2 – Médias de : A- peroxidação lipídica (MDA, nmol g-1 de matéria fresca); B- proteínas (mg.g); C - atividade de enzima superóxido dismutase (SOD, U g^{-1} proteína); D - peroxidase (POD, µmol de H2O2 consumido minuto-1 g-1 proteína); E - catalase (CAT, mKat. μg^{-1} de proteína) aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de tomate cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro. Lê-se: (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019. 33

Figura 3 - Teor de B foliar (mg kg^{-1}) de plantas de Solanum lycopersicum cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro aos 14, 21 e 28 DAT. Botucatu, UNESP, 2019. (*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey de 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamentos e letra minúscula para coletas. Lê-se: (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.....34

Figura 4 - Plantas de tomate Micro-Tom em vasos com perlite. Botucatu, UNESP, 2019. ...53

Figura 5 - Escala de flores consideradas para a contagem. Botucatu, UNESP, 2019. 55

CRUZ, J. O. **FLUOROMETRIA, CONTEÚDO DE AÇÚCARES, CRESCIMENTO E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE *Solanum lycopersicum* cv. MICRO-TOM EM RESPOSTA A SUBDOSES DE BORO**. 2019. 71P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA.

RESUMO

O mineral boro (B) está relacionado a uma série de processos fisiológicos das plantas tais como: estrutura da parede celular; respiração; metabolismo de carboidratos; metabolismo de RNA; transporte de metabólitos, entre outros. O B é absorvido pelas raízes por difusão na forma de ácido bórico, sendo transportado em seguida via xilema pela taxa transpiratória e pode formar complexos estáveis com moléculas do grupo *cis*-hidroxila, formando complexos B-poliol que podem se movimentar no interior vegetal. A deficiência de B ocasiona rápida inibição do crescimento das raízes primárias e laterais, limitando o crescimento e divisão celular. Em vista disso, esta pesquisa tem como objetivo elucidar melhor o papel do mineral boro no metabolismo e transporte de açúcares em plantas de *Solanum lycopericum* cv. Micro-Tom. Para tal, foram realizados dois experimentos, o primeiro instalado em casa de vegetação no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, SP e o outro em câmara de crescimento no Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biociências, Universidade de Lisboa, Portugal. O primeiro experimento foi conduzido com delineamento de blocos ao acaso com três repetições, constituído de diferentes concentrações de boro em hidroponia. O segundo experimento foi conduzido em vasos com perlite em delineamento de blocos ao acaso com três repetições. As concentrações utilizadas em todos os experimentos foram: 0; 15,6; 31,12; 62,25; 124,5; 249 e 498 $\mu g\ L^{-1}$ (controle) de boro na forma de ácido bórico. No primeiro experimento foi avaliado a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT); teor de proteínas totais solúveis; taxa da peroxidação lipídica (MDA); teores de sacarose, açúcares redutores e amido em folhas; produção de biomassa e teor de boro foliar. No segundo experimento foi avaliado a produção de biomassa, os teores de sacarose, açúcares redutores e amido em folhas e a fluorometria. No primeiro experimento foi observado que as baixas concentrações, 0 e 15,6 $\mu g\ L^{-1}$ de B apresentaram os menores valores de produção de fitomassa de raiz, haste, folha, redução do crescimento absoluto e baixo teor de B foliar. Além disso, ainda ocasionou maior atividade das enzimas peroxidase e superóxido dismutase, maior taxa na produção de MDA e variações no conteúdo de amido aos 14 e 21 dias após o início dos tratamentos (DAT), açúcares redutores aos 14 e 28 DAT, e sacarose aos 7 e 21 dias após os tratamentos. No segundo experimento foi observado a não influência das diferentes

concentrações de B na fluorometria; entretanto, a produção de massa (raiz, haste, folha e flor) foi maior no tratamento controle. Já os teores de açúcares, amido e açúcares redutores nos tratamentos com ausência de B e de menor concentração apresentaram maiores valores em relação ao controle. Em geral, a variação da disponibilidade de B interferiu diretamente no metabolismo e crescimento de plantas de tomate cv. Micro-Tom, em ambas as situações avaliadas.

Palavras-chave: nutrição; crescimento; enzimas; fotossíntese; tomate.

RUZ, J. O. **FLUOROMETRY, SUGAR CONTENT, GROWTH AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMS IN PLANTS OF *Solanum lycopersicum* cv. MICRO-TOM IN RESPONSE TO BORO SUBDOSES**. 2019. 71P. TESE (DOCTORATE) – INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA.

ABSTRACT

he mineral boron (B) is related to a series of plant physiological processes such as: cell wall structure; breath; carbohydrate metabolism; RNA metabolism; transport of metabolites, among others. B is absorbed by the roots by boric acid diffusion and is then transported via the transpiratory rate xylem and can form stable complexes with cis-hydroxyl group molecules, forming B-polyol complexes that can move within the plant interior. B deficiency causes rapid inhibition of primary and lateral root growth, limiting cell growth and division. Therefore, this research aims to better elucidate the role of mineral boron in sugar metabolism and transport in Solanum lycopericum cv. Micro-Tom. To this end, two experiments were carried out, the first in a greenhouse in the Botany Department of Botucatu Bioscience Institute, UNESP, SP and the other in a growth chamber in the Department of Plant Biology of the Institute of Biosciences, University of Lisbon. Portugal. The first experiment was conducted with a randomized block design with three replications, consisting of different boron concentrations in hydroponics. The second experiment was conducted in perlite vessels in a randomized block design with three replications. The concentrations used in all experiments were: 0; 15.6; 31.12; 62.25; 124.5; 249 and 498 µg L-1 (control) of boron as boric acid. In the first experiment was evaluated the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT); otal soluble protein content; lipid peroxidation rate (MDA); sucrose, reducing sugars and leaf starch content; biomass production and leaf boron content. In the second experiment, biomass production, sucrose, reducing sugars and starch in leaves and fluorometry were evaluated. In the first experiment it was observed that the low concentrations, 0 and 15.6 µg L-1 of B presented the lowest values of root, stem, leaf phytomass production, reduction of absolute growth and low leaf B content. In addition, it caused higher activity of the peroxidase and superoxide dismutase enzymes, higher MDA production rate and starch content variations at 14 and 21 days after the beginning of treatments (DAT), reducing sugars at 14 and 28 DAT, and sucrose. at 7 and 21 days after the treatments. In the second experiment it was observed no influence of different B concentrations on fluorometry; However, the mass production (root, stem, leaf and flower) was higher in the control treatment. Already the contents of sugars, starch and reducing sugars in the treatments without B and of lower concentration presented higher

values in relation to the control. In general, the variation of B availability directly affected the metabolism and growth of tomato cv. Micro-Tom in both situations evaluated.

Keywords: nutrition; growth; enzymes; photosynthesis; tomato.

INTRODUÇÃO

O elemento boro (B) é o único não metal pertencente ao grupo IIIA da tabela periódica, apresentando 10,811 unidade de massa atômica (u.m.a.) e valência de 3^{+}. Além disso, apresenta também dois isótopos estáveis de forma natural, ^{10}B e ^{11}B (BIÈVRE; BARNES, 1985). É encontrado em nascentes vulcânicas como ácido ortobórico ou complexado a diversos minerais, como o borax ($NA_2B_4O_{7.}10H_2O$), colemanita ($Ca_2B_6O_{11}.5H_2O$), boronatrocalcita ($CaB_4O_7NaBO_2.8H_2O$), boracita ($Mg_7Cl_2B_{16}O_{30}$) e kernita ($Na_2B_4O_6(OH)_2.3H_2O$) (EPA, 1975). Os maiores depósitos deste mineral estão no Tibet, Turquia e Estados Unidos, sendo este último o maior exportador mundial dos compostos ácido bórico e borax ($NA_2B_4O_{7.}$) (EISLER, 1990).

Na solução do solo, o boro encontra-se na forma solúvel de ácido bórico, que pode ser lixiviado durante as chuvas, tornando sua disponibilidade limitante em várias regiões do mundo, como Japão, China e Brasil (SHORROCKS, 1997). Em regiões áridas e semiáridas, como Egito, Jordânia, Chile, Austrália e Turquia ocorre alta concentração do mineral, podendo provocar toxicidade nas plantas (YAU et al., 1995).

O B tem sido usado na indústria e alimentação por séculos, porém somente em 1808 que foi oficialmente descoberto e integrado à tabela periódica (EISLER, 1990). De acordo com Gordon (1987), durante o século 19, o borato era usado como conservante para diversos tipos de alimentos, exceto para leite. Atualmente, é comumente utilizado para a produção de fibras de vidro e vidro; esmaltes; fertilizantes; elemento-traço; produtos farmacêuticos e higiênicos; inseticidas; cerâmicas; emulsionantes e estabilizadores (PARRY; KODAMA, 1980; SCHILLINGER et al., 1982; SIEGEL; WASON, 1986).

Os primeiros estudos verificando os efeitos de B nas plantas datam a partir de 1876 (BERGMAN, 1984; POWER; WOODS, 1997); porém as primeiras publicações sobre esse elemento foram feitas por Warington (1923), afirmando ser o B um elemento essencial ao desenvolvimento das plantas superiores, apesar de sua função primária não ter sido totalmente esclarecida (MATOH, 1997). O mineral boro (B) está relacionado a uma série de processos fisiológicos das plantas, tais como: síntese da parede celular; lignificação; estrutura da parede celular; respiração; metabolismo de carboidratos; metabolismo de RNA; metabolismo de ácido indolilacético; metabolismo de compostos fenólicos; metabolismo de ascorbato; fixação de nitrogênio; redução da toxidez de alumínio (DUGGER, 1983; SHKOLNIK, 1984; SHELP, 1993; POWER; WOODS, 1997; BROWN et al., 2002; DANNEL et al., 2002; MATSUNAGA; ISHII, 2006).

O B é absorvido na forma de ácido bórico, sendo transportado, em seguida, via xilema pela taxa transpiratória, assim como os demais nutrientes (BROWN; SHELP, 1997; MIWA; FUJIVARA, 2010). O ácido bórico é uma molécula não carregada eletricamente e essa característica possibilita o transporte via membrana plasmática de maneira passiva (STANGOULIS et al., 2001; TANAKA et al., 2008). Além disso, esse elemento pode ser transportado contra o gradiente de concentração, como em situações com concentrações limitantes ou excedentes de B, através de transportadores específicos, os BOR e NIP. A família de transportadores BOR está envolvida no transporte ativo do mineral nas células do periciclo para o xilema em situações de déficit (TANAKA et al., 2010; MIWA et al., 2013), enquanto que a família de transportadores NIP atuam como um canal facilitador de transporte nas células da endoderme, córtex e epiderme (WALLACE; ROBERTS, 2005; SOTTA et al., 2017).

O B pode formar complexos estáveis com moléculas do grupo *cis*-hidroxila, formando complexos B-poliol que podem se movimentar no interior vegetal (BROWN et al, 1999). Dentre vários compostos formados, destacam-se os ésteres de borato com resíduos de ramnogalacturona II (RG-II) (KOBAYASHI et al., 1996). A formação deste complexo é essencial para a estrutura da parede celular, pois contribui significativamente para o controle da resistência e porosidade da mesma (FLEISCHER et al., 1999; RYDEN et al., 2003; O'NEILL et al., 2004).

A deficiência de B ocasiona rápida inibição do crescimento das raízes primárias e laterais, limitando o crescimento e divisão celular na zona de crescimento da raiz primária (MARTÍN-REJANO et al., 2011; LIU et al., 2014). Riaz et al. (2018) observaram que em mudas de laranja com deficiência de B, o crescimento primário e lateral das raízes foi rapidamente inibido, como também houve alterações e desorganizações na distribuição de RG (II) nas paredes celulares. Wu et al. (2017) sugerem que a rápida inibição do crescimento e alongamento de raízes de mudas de laranjeiras está diretamente relacionado a alterações na composição das pectinas da parede celular dessas raízes sob condições limitantes de B. As pontes de hidrogênio são as ligações predominantes na estrutura da parede celular, ocorrendo durante a carência de B o enfraquecimento das pontes entre O-H e N-H, ligações entre pectinas e carboidratos presentes na parede celular (BURGERT; DUNLOP, 2011).

Diversas alterações fisiológicas e morfológicas provenientes da deficiência do B podem ser respostas diretas ou indiretas à formação de complexos B-polióis semelhantes à pectina da parede celular, membrana e o-difenóis. Os principais polióis com configuração similar aos complexos estáveis são os ácidos caféico, hidroxiferúlico e açúcares (ribose, apiose, açúcares redutores) (CAKMAK et al., 1995). O B pode formar complexos com ácido 6-fosfoglucônico, inibindo a atividade da enzima 6-fosfogluconato dehidrogenase em condições

de deficiência, aumentando a atividade da rota das pentoses e, consequentemente, a síntese de fenóis. A toxicidade gerada pelo acúmulo de ácidos fenólicos pode ocasionar a quebra dos lipídios da membrana plasmática e, consequentemente, a ruptura da mesma em condições de deficiência de B (DUGGER, 1983; GOMEZ-RODRIGUEZ et al., 1987; CAKMAK et al., 1995).

Kobayashi et al. (2004) propuseram que, após estresse oxidativo ocasionado pela deficiência de B, ocorra rápida sinalização a partir da parede celular para o citoplasma, induzindo a expressão de genes específicos. González-Fontes et al. (2008) também têm sugerido papel importante do B como sinalizador, capaz de interagir com os fatores de transcrição, o que poderia explicar por que a expressão de vários genes envolvidos em processos fisiológicos diferentes são rapidamente afetados quando as plantas estão sujeitas à deficiência de B.

O desarranjo nutricional na planta pode provocar a produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ERO's), devido a alterações de rotas metabólicas (GRATTAN; GRIEVE, 1999). Todo órgão da planta é afetado pelo estresse. A sinalização desse distúrbio ocorre como uma resposta não-específica, que varia de acordo com a concentração do aparato antioxidante (KAHKONEN et al., 1999; MELO et al., 2006) que, além dos fatores genéticos, são influenciados pelas condições do ambiente e pelo balanço interno de nutriente e a disponibilidade do mesmo no meio (HUNT, 2003).

As ERO's são importantes sinalizadoras para as plantas, uma vez que, diante de qualquer alteração em alguma rota metabólica ocorre a síntese dessas espécies, induzindo o reparo e/ou controle desses radicais. Entretanto, a superprodução desses radicais, como o superóxido (O_2^-), radicais hidroxila (OH^-), peróxido de hidrogênio ($H_2O_2^-$) e o oxigênio singleto ($^1O_2$) podem desencadear respostas negativas, prejudicando o desenvolvimento da planta (MITTLER, 2002). As plantas apresentam sistemas de defesa antioxidantes eficientes, enzimáticos e não-enzimáticos, que permitem a eliminação dessas espécies reativas de oxigênio e a proteção contra os danos oxidativos (HERNÁNDEZ et al., 2001). As defesas não enzimáticas incluem as vitaminas C e E, glutationa (GSH), β-caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas. Já o sistema defensivo enzimático envolve ação de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POD), glutationa peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutationa redutase (GR) e glutationa S-transferase (GSTs) (BLOKHINA et al., 2003; SCANDALIOS, 2005). O aparato fotossintético é fortemente afetado quando ocorre algum desequilíbrio nutricional na planta, principalmente, quanto à produção e distribuição de açúcares. Os açúcares e amidos são a forma de armazenamento de carboidratos na planta, sendo a sacarose a forma mais translocada via floema. Após a produção

dos açúcares durante a fotossíntese, os mesmos são direcionados para células de carregamento próximas ao floema, estabelecendo um gradiente osmótico de pressão que irá determinar a translocação dos produtos. Além da fase vegetativa do órgão, outros fatores também interferem na distribuição dos fotoassimilados, pois o sistema vascular vegetal é interconectado, permitindo o fluxo para vários tecidos-drenos. Porém, o volume de fluxo para cada dreno específico varia de acordo com a intensidade do mesmo (ZHU et al., 2007).

A sacarose é um açúcar importante para o desenvolvimento de todo vegetal e está envolvida em diversos processos metabólicos celulares, podendo ser armazenada em diferentes compartimentos celulares, como também participar na síntese de amido, componentes celulares e da parede celular (PARK et al., 2010).

A sacarose é degradada pela invertase e pode ser re-sintetizada pela UDP-glucose pirofosforilase (UGPase), sacarose fosfato sintase (SPS) e sacarose sintase (SuSy) (DAI et al., 2011). No entanto, SuSy também é capaz de catalisar a clivagem da sacarose, que é em grande parte dependente dos requisitos metabólicos (COLEMAN et al., 2010; CHEN et al., 2012). O equilíbrio entre os processos de degradação e síntese determinam a concentração de diversos metabólitos, tais como UDP-glucose, glucose-1P, glucose-6P e fructose-6P. A variação entre esses metabólitos regula a síntese da parede celular, a taxa de respiração, concentração de amido e produção de outros metabólitos (NGUYEN-QUOC; FOYER; 2001).

A capacidade de transporte e acúmulo de carboidratos contribui para o ótimo crescimento e desenvolvimento da planta, além de fatores genéticos intrínsecos de cada espécie. Aproximadamente 90%, em média, da massa seca acumulada pelas plantas ao longo do seu crescimento, resulta da atividade fotossintética, tornando essa variável o componente fisiológico de maior importância neste tipo de estudo. O uso da análise de crescimento permite inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos sobre o desenvolvimento vegetal, pois o crescimento é avaliado através de variações em tamanho de algum aspecto da planta, geralmente morfológico (MAGALHÃES, 1979; BENINCASA, 2003).

Esse método descreve as condições morfofisiológicas da planta em diferentes intervalos de tempo, podendo ser usado para investigar o efeito de fenômenos ecológicos sobre o crescimento e desenvolvimento da planta sob diversas condições, como variação ambiental, adaptabilidade de uma espécie vegetal em ecossistemas diversos, efeitos de competição, diferenças genotípicas, desbalanço nutricional, entre outros (MAGALHÃES, 1979; BENINCASA, 2003). A emissão de fluorescência da clorofila ‘a’, outra medida pontual, é utilizada como um mecanismo eficiente para medições fotossintéticas (GENTY et al., 1989), especialmente em ambientes ou situações que propiciam condições de estresse (ZHANG, et al., 2003). Os métodos mais utilizados nos fornecem informações rápidas, não destrutivas e não

invasivas acerca da conversão, transferência e dissipação da energia luminosa a nível de fotossistemas (ATUALIZAR, BAKER, 2008), sob condições de laboratório, controladas e em campo. A utilização de sistemas de fluxo aberto de trocas gasosas, como o IRGA (*Infra-Red Gas Analyser*) pode complementar a avaliação, tornando as medições pontuais desses processos mais rápidas e precisas (HUNT, 2003). O estudo do metabolismo fisiológico em função da aplicação de nutrientes, através de técnicas pontuais e bioquímicas, possibilita maior compreensão dessa interação e os efeitos que o mesmo provoca ao longo do ciclo do vegetal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, H.G. GAUCH, W.M. Dugger, Effects of boron on the water relations of higher plants, **Plant Physiology,** v. 31, p 89–94, mar., 1956.

BERGMANN, W. The significance of the micronutrient boron in agriculture. In: **Symposium held by the borax group in the international trade centre of the g.d.r.** Berlin: Borax Holdings, p. 1-26, 1984.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**: noções básicas. 2.ed. Jaboticabal: Funep, p. 41, 2003.

BIÈVRE, P.D.; BARNES, I.L. Table of the isotopic composition of the elements as determined by mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes**, Amsterdam, v.65, p.211-230, 1985.

BILGER, W., SCREIBER, U.; BOCK, M. Determination of the quantum efficency of photoSyStem II ando f non-photochemical quenching of chorophyll fluoreScece in the field. **Oecologia**, v. 102, p. 425-432, 1995.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BROWN, P.H.; SHELP, B. J. Boron mobility in plants. **Plant Soil**, v. 193, p. 85–101, 1997.

BURGERT, I., AND DUNLOP, J. W. C. Micromechanics of Cell Walls, **Mechanical Integration of Plant Cells and Plants**. Berlin: Springer, p. 27–52, 2011.

CAKMAK I, KURZ H; MARSCHNER H. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. **Physiology Plantarum**, v. 95, p. 11–18, 1995.

CHEN, A.; HE, S.; LI, F.; LI, Z.; DING, M.; LIU, Q.; RONG, J.Analyses of the sucrose synthase gene family in cotton: structure, phylogeny and expression patterns. **BMC Plant Biology**, v.12, p. 85–102, 2012.

DANNEL F., PFEFFER H., AND RÖMHELD V. Update on boron in higher plants - Uptake, primary translocation and compartmentation. **Plant Biology,** v. 4, p. 193–204, 2002.
.
DUGGER, W. M. Boron in plant metabolism **In** Encyclopedia of Plant Physiology, new series, Vol. 15. Eds. A Lauchli and R L Bieleski. Berlim: Springer-Verlag, p. 626–650, 1983.

EPA - Environmental Protection Agency. **Preliminary investigation of effects on the environment of boron, indium, nickel, selenium, tin, vanadium and their compounds.** V 1 Boron. United State of Environmental Protection Agency Rep. 56/2-75-005A. pp. 111, 1975.

EISLER, R. Boron hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U. S. Fish Wildl. Serv., **Biological Report**, v. 85, p. 1-20, 1990.

FLEISCHER A, O'NEILL MA, EHWALD R. The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. **Plant Physiology,** v. 121, p. 829–838. 1999.

GENTY, B., BRIANTAIS, J.M., BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimistry and Biophysicis Acta,** v. 990, p. 87–92. 1989.

GOMES-RODRIGUEZ M V, LUNA DEL CASTILLO DE D AND ALVAREZ-TINAUTMC. The evolution of glucose-6P-dehydrogenase and 6P-gluconate-dehydrogenase activities and the ortho-diphenolic content of sunflower leaves cultivated under different boron treatments. **Journal of Plant Nutrition,** v. 10, p. 2211–2229. 1987.

GONZÁLEZ-FONTES A, REXACH J, NAVARRO-GOCHICOA MT, HERRERA-RODRÍGUEZ MB, BEATO VM, MALDONADO JM. Is boron involved solely in structural roles in vascular plants. **Plant Signal Behavior**, v. 3, p. 24–26. 2008.

GORDON, V. The case of the toxic life-preserver. **Borax Review**, v. 2, p. 10–12, 1987.

GRATTAN SR, GRIEVE, CM. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 127-157. 1999.

HERNANDEZ, J.A.; FERRER, M.A.; JIMENEZ, A.; BARCELO, A.R.; SEVILLA, F. Antioxidant systems and O2 / H2O2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 127, p. 827-831, 2001.

HUNT, S. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. **Physioogy Plantarum**, v.117, p.314- 325, 2003.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J.P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural Food Chemestry**, v.47, p.3954-3962, 1999.

KOBAYASHI M, MATOH T, AZUMA J . Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. **Plant Physiology**. v. 110, p. 1017–1020. 1996.

KOBAYASHI M, MUTOH T, MATOH T. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. IV. Genes induced under low boron supply. **Journal of Experimental Botany,** v. 55, p. 1441–1443. 2004.

LIU, G., DONG, X., LIU, L., WU, L., JIANG, C. Boron deficiency is correlated with changes in cell wall structure that lead to growth defects in the leaves of navel orange plants. **Scientia Horticulturae,** v. 176, p. 54-62, 2014.

MAGALHÃES, A. C. N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI, M.G. (Coord.). **Fisiologia vegetal 1**. São Paulo: EPU/Ed. da Universidade de São Paulo, p. 331-350, 1979.

MARTÍN-REJANO EM, CAMACHO-CRISTÓBAL JJ, HERRERA-RODRÍGUEZ MB, REXACH J, NAVARRO-GOCHICOA MT, GONZÁLEZ-FONTES A.Auxin and ethylene

are involved in the responses of root system architecture to low boron supply in Arabidopsis seedlings. **Physiologia Plantarum,** v. 142, p. 170–178, 2011.

MATOH T. Boron in plant cell walls. **Plant Soil**, v. 193, p. 59–70. 1997.

MATSUNAGA, T.; ISHII, T. Borate cross-linked/total rhamnogalacturonan ii ratio in cell walls for the biochemical diagnosis of boron deficiency in hydroponically grown pumpkin. **Analytical Sciences the International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry***,* v. 22, p. 1125, 2006.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26, n.3, p.639-644, 2006.

MITTLER, R, Oxidative stress, antiosidants and stress tolerance. **TRENDS in Plant Science**, London, v. 7, n.9, p. 405-410, 2002.

MIWA K, FUJIWARA T. Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1103–1108, 2010.

MIWA K, WAKUTA S, TAKADA S, IDE K, TAKANO J, NAITO S, OMORI H, MATSUNAGA T, FUJIWARA T. Roles of BOR2, a boron exporter, in cross linking of rhamnogalacturonan II and root elongation under boron limitation in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 163, p. 1699–1709, 2013.

NGUYEN-QUOC B.; FOYER, C.H. A role for ‘futile cycles’ involving invertase and sucrose synthase in sucrose metabolism of tomato fruit. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p.881–889, 2001.

O'NEILL M.A.; ISHII, T.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.G. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 109–139, 2004.

PARRY, R. W.; KODAMA, G. Boron chemistry-4. **Pergamon Press**, New York. 161 p., 1980.

POWER, P.P; WOODS, W.G. The chemistry of boron and its speciation in plants. **Plant and Soil,** Dordrecht, v.193, n.1/2, p.1-14, 1997.

RIAZ, M.; YAN, L.; WU, X.; HUSSAIN, S.; AZIZ, O.; JIANG. C. Boron deprivation induced inhibition of root elongation is provoked by oxidative damage, root injuries and changes in cell wall structure, **Environmental and Experimental Botany**, v. 153, p. 107-115, 2018.

RYDEN, P.; SUGIMOTO-SHIRASU, K.; SMITH, A. C.; FINDLAY, K.; REITER, W. D.; MCCANN, M. C. Tensile properties of Arabidopsis cell walls depend on both a xyloglucan cross-linked microfibrillar network and rhamnogalacturonan II-borate complexes. **Plant Physiology,** v. 132, p. 1033–1040, 2003.

SCHILLINGER, B. M.; BERSTEIN, M.; GOLDBERG, L.A.; SHALITA, A.R. Boric acid poisoning. **Journal of American Academic Dermatology**, v. 7, p. 667-673, 1982.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SIEGEL, E.; WASON, S. Boric acid toxicity. **Pediatric Clinic North American**, v. 33, p. 363-367, 1986.

SHELP, B. J. Physiology and biochemistry of boron in plants. **In** Boron and Its Role in Crop Protection. Flórida: CRC Press, p. 53–85, 1993.

SHKOLNIK, M.Y. Trace elements in plants. Amsterdam: Elsevier, p. 463, 1984.

SHORROCKS VM. The occurrence and correction of boron deficiency**. Plant Soil**, v. 193, p. 121–148, 1997.

SOTTA, N.; DUNCAN, S; TANAKA, M.; SATO, T.; MARE´E, A.F.M.; FUJIWARA, T.; GRIENEISEN, V.A. Rapid transporter regulation prevents substrate flow traffic jams in boron transport**. eLIFE**, p. 1-27, 2017.

STANGOULIS JC, REID RJ, BROWN PH, GRAHAM RD. Kinetic analysis of boron transport in Chara. **Planta**, v. 213, p. 142– 146, 2001.

TANAKA M, WALLACE IS, TAKANO J, ROBERTS DM, FUJIWARA T. NIP6;1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 20, p. 2860– 2875, 2008.

WARINGTON K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. **Annals of Botany**, v. 37, p. 629–672, 1923.

WU, X., RIAZ, M., YAN, L., DU, C., LIU, Y., & JIANG, C. Boron deficiency in trifoliate orange induces changes in pectin composition and architecture of components in root cell walls. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1882, 2017.

YAU, S.K.; NACHIT, M.M.; HAMBLIN, J.; RYAN, J. Phenotypic variation in boron-toxicity tolerance at seedling stage in durum wheat (Triticum durum). **Euphutica**, v. 83, p. 185–191, 1995.

ZHANG, C.; TANABE, K.; TAMURA, F.; ITAI, A.; WANG, S. Partitioning of 13Cphotosyntate from spur leaves during fruit growth of three pear (*Pyrus pyrifolia*) cultivars differing in maturation date. **Annals of Botany**, Oxford, v.95, n. 4, p. 685-693, 2005.

ZHU, X.G.; STURLER, E.; LONG S.P. Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm. **Plant Physiology**, v. 145, p. 513–526, 2007.

Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de subodoses de boro via solução nutritiva ao longo do ciclo do tomate sobre:

1) a translocação e alocação de açúcares ao longo do ciclo do tomateiro cv. Micro-Tom;
2) a atividade das enzimas antioxidativas, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD);
3) a peroxidação lipídica e o teor de proteínas solúveis totais;
4) a partição de biomassa nos órgãos e estádios vegetativos e reprodutivos do tomateiro cv. Micro-Tom;
5) a fluorescência da clorofila ‘a’.

CAPÍTILO I

SUBDOSES DE BORO NO CRESCIMENTO E NA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE TOMATE

Janaina Oliveira Cruz[1], João Domingos Rodrigues[1], Prínscilla Pâmela Nunes Chaves[2], Elizabeth Orika Ono[1]

[1]Instituto de Biociências, R: Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, 250, Rubião Junior, 18618-689 - Botucatu, Brasil - jnoli.cruz@gmail.com

[2] Faculdade de Ciências Agronômicas. UNESP – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Av. Universitária, 3780 - Altos do Paraíso, 18610-034, Botucatu – SP.

RESUMO

O boro é um micronutriente essencial para o desenvolvimento vegetal, porém ainda existem lacunas quanto à sua função fisiológica. Além de atuar na parede celular e membrana plasmática, outros efeitos podem ser associados à sua função, como divisão celular, metabolismo de carboidratos, transporte de nutrientes, entre outros. Em vista disso, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a ação do boro no crescimento e atividade de enzimas antioxidantes em plantas de tomate cv. Micro-Tom. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento de blocos ao acaso com três repetições, constituído de diferentes concentrações de boro em solução nutritiva. As concentrações utilizadas foram: 0 μg L^{-1}; 15,6 μg L^{-1}; 31,12 μg L^{-1}; 62,25 μg L^{-1}; 124,5 μg L^{-1}; 249 μg L^{-1} e 498 μg L^{-1}. O efeito dos tratamentos foi avaliado através da atividade das enzimas superóxido dismutase, peroxidase e catalase; teor de proteínas solúveis totais; taxa da peroxidação lipídica; teores de sacarose, açúcares redutores e amido em folhas; trocas gasosas; produção de biomassa e teor de boro foliar. Observou-se que as menores concentrações de B diferiram para todas as avaliações em relação ao controle, demonstrando que o B interferiu no crescimento e na atividade antioxidante de plantas de tomate cv. Micro-Tom.

Palavras-chave: fitomassa; estresse; hidroponia; folha; Solanum lycopersicum.

ABSTRACT

Boron is an essential micronutrient for plant development, but there are still gaps in its physiological function. In addition to acting on the cell wall and plasma membrane, other effects may be associated with its function, such as cell division, carbohydrate metabolism, transport of nutrients, and others. In view of this, this research aimed to evaluate the action of boron on the growth and activity of antioxidant enzymes in tomato plants cv. Micro-Tom. The experiment was conducted in a greenhouse, in a randomized block design with three replicates, consisting of different concentrations of boron in nutrient solution. The concentrations used were: 0 μg L^{-1}; 15,6 μg L^{-1}; 31,12 μg L^{-1}; 62,25 μg L^{-1}; 124,5 μg L^{-1}; 249 μg L^{-1} e 498 μg L^{-1}. The effect of the treatments was evaluated through the activity of the enzymes superoxide dismutase, peroxidase and catalase; total soluble protein content; rate of lipid peroxidation; sucrose content, reducing sugars and leaf starch; gas exchange; biomass production and foliar boron content. It was observed that the lower concentrations of B differed for all evaluations in relation to the control, demonstrating that B interfered in the growth and antioxidant activity of tomato plants cv. Micro-Tom.

Keywords: phytomass; stress; hydroponics; leaf.

INTRODUÇÃO

Como os demais micronutrientes, o B é indispensável para as plantas, pois têm efeito direto na formação de novos tecidos, síntese celular e produtividade, sendo importante o conhecimento da redistribuição que ocorre dentro da planta e a variação entre as espécies. O B pode ser absorvido pelo sistema radicular vegetal através de transportadores específicos como também por proteínas intrínsecas que podem ser ativadas de acordo com a disponibilidade do nutriente (STANGOULIS et al., 2001; MIWA; FUJIVARA, 2010).

As espécies vegetais podem ser classificadas em duas categorias quanto à redistribuição do B: espécies com redistribuição restrita e espécies com alta mobilidade de B (BROWN; SHELP, 1997). Plantas que possuem a produção de açúcares específicos, como o sorbitol, manitol e dulcitol (ZIMMERMANN; ZIEGLER 1975) estão diretamente ligadas à redistribuição de B. Esses polióis formam complexos poliol-B-poliol nos tecidos fotossintéticos que são transportados pelo floema por toda planta, principalmente, em situações de concentrações limitantes do mineral (BROWN; HU, 1996; HU et al., 1997).

A formação deste complexo é essencial para a estrutura da parede celular (O'NEILL et al., 2004), pois contribui significativamente para o controle da resistência e porosidade da parede celular (FLEISCHER et al., 1999; RYDEN et al., 2003). Por exemplo, paredes de células

normalmente distendidas e com formação menor de dímeros de RG-II estão correlacionadas à deficiência de B (MATOH, 1997; ISHII et al., 2001). Além disso, a essencialidade do complexo RGII-borato para o crescimento normal de plantas tem sido mostrada através de sua baixa concentração em plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana*, *mur1-1* e *mur1-2* (O'NEILL et al., 2001). Noguchi et al. (2003) também relataram menor grau de reticulação nas paredes celulares de *Arabidopsis* mutante *bor1-1,* em comparação com as plantas do tipo selvagem sob baixa disponibilidade de B.

A sacarose, molécula formada no citoplasma por trioses produzidas nos cloroplastos, é redistribuída através de um gradiente de pressão de turgor nos elementos crivados do floema. Essa molécula é degradada nesses tecidos e novamente sintetizada pelas enzimas UDP-glicose fosforilase (UGP-ase) e sacarose sintase (SuSy), enquanto que a sacarose fosfato sintase (SPS) catalisa a quebra irreversível de UDP-sacarose (BABB; HAIGLER, 2001; PARK et al., 2010; WINTER, HUBER, 2010; CHEN et al., 2012). O boro é essencial para a redistribuição desses produtos, pois o complexo borato influencia na translocação de açúcares ao longo da planta, através da afinidade do borato com compostos OH^-, que possibilitaria a formação desses complexos ionizados que são rapidamente transportados (KHYM; ZILL, 1952). Gauch e Dugger (1952) demonstraram em seu trabalho que ocorre dependência entre o transporte de açúcar e boro. Segundo esses mesmos autores, o açúcar pode ser rapidamente translocado na presença de boro a 10 mg L^{-1} quando comparado ao transporte de açúcar sem boro.

O desarranjo nutricional na planta pode provocar a produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ERO), devido a alterações de rotas metabólicas (GRATTAN; GRIEVE, 1999). Todo órgão da planta é afetado pelo estresse. A sinalização desse distúrbio ocorre como uma resposta não-específica, que varia de acordo com a concentração do aparato antioxidante (KAHKONEN et al., 1999; MELO et al., 2006) que, além dos fatores genéticos, são influenciados pelas condições do ambiente, pelo balanço interno de nutriente e a disponibilidade do mesmo no meio (HUNT, 2003).

Kobayashi et al. (2004) propuseram que, após o estresse oxidativo ocasionado pela deficiência de B, ocorra rápida sinalização a partir da membrana plasmática para o citoplasma, induzindo a expressão de genes específicos. González-Fontes et al. (2008) também têm sugerido papel importante do B como sinalizador, capaz de interagir com os fatores de transcrição, o que poderia explicar porque a expressão de vários genes envolvidos em processos fisiológicos diferentes é rapidamente afetada quando as plantas vasculares estão sujeitas à deficiência de B.

As ERO são importantes sinalizadores para as plantas, uma vez que, diante de qualquer alteração em alguma rota metabólica ocorre a formação das mesmas, induzindo o reparo e/ou controle desses radicais. Entretanto, a superprodução desses radicais, como o superóxido (O_2^-), radicais hidroxila (OH^-), peróxido de hidrogênio ($H_2O_2^-$) e o oxigênio singleto ($^1O_2$) podem desencadear respostas negativas, prejudicando o desenvolvimento da planta (MITTLER, 2002).

As plantas apresentam sistemas de defesa antioxidantes eficientes, enzimáticos e não-enzimáticos, que permitem a eliminação dessas espécies reativas de oxigênio e a proteção contra os danos oxidativos (HERNÁNDEZ et al., 2001). As defesas não enzimáticas incluem as vitaminas C e E, glutationa (GSH), β-caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas. Já o sistema defensivo enzimático envolve a ação de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutationa peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutationa redutase (GR) e glutationa S-transferase (GSTs) (BLOKHINA et al., 2003).

Por isso, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das diferentes concentrações de boro no crescimento e na atividade antioxidante de plantas de *Solanum lycopericum* cv. Micro-Tom em condição de hidroponia.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Botânica, pertencente ao Instituto de Biociências de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Campus de Botucatu-SP durante os meses de julho a setembro de 2017. As coordenadas geográficas do local são 22° 53′ 13″ S de latitude e 48° 29′ 50″ W de longitude. Conforme a classificação climática de Köppen, o clima da região é mesotérmico do tipo Cwa, subtropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco.

A planta modelo usada para o estudo foi *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom, pertente à ordem Tubiflorae da família Solanaceae . Essa variedade possui tamanho e ciclo curto, apresentando todas as características da espécie, sendo utilizado para vários estudos genéticos de desenvolvimento das eudicotiledôneas (PINO et al., 2010; CARVALHO et al., 2011). O tamanho reduzido não afeta as características produtivas, pois o Micro-Tom apresenta todas as fases do tomateiro, produzindo sementes viáveis num ciclo de 70-90 dias.

O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, com sete tratamentos e três repetições, constituídos por nove plantas por repetição, totalizando 189 parcelas. Inicialmente, as sementes foram semeadas em vasos de 250 mL contendo somente vermiculita (Figura 1A). Até o início da germinação e o momento do transplante, os vasos foram irrigados com água deionizada. Aos 21 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas para bandejas de oito litros com solução nutritiva nº 2 de Hoagland e Arnon (1950), sem adição de boro e com aeração constante (Figura 1B).

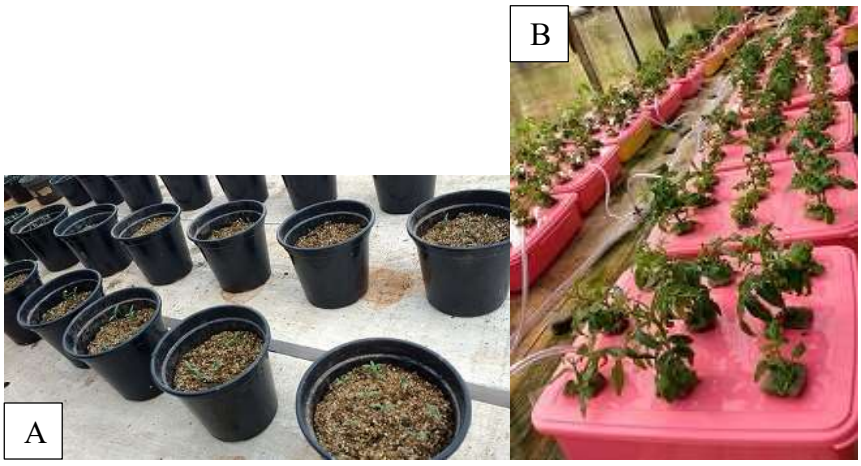

Figura 1 – Produção das mudas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom. A) vasos com vermiculita; B) bandejas com solução nutritiva e aeração constante. Botucatu, UNESP, 2019.

O boro foi adicionado à solução nutritiva em diferentes concentrações, sendo utilizado como referência a solução nº 2 proposta por Hoagland e Arnon (1950), sendo que

100% do mineral corresponde à concentração utilizada pelos autores; desta foi realizada a diluição, de acordo com as porcentagens estabelecidas na Tabela 1. Avaliou-se o pH das soluções diariamente para manutenção das trocas iônicas das soluções.

Tabela 1 – Concentrações (µg L^{-1}) do mineral Boro adicionados na solução nutritiva em *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	Concentrações aplicadas
1 - 0%	0 µg L^{-1}
2 - 3%	15,6 µg L^{-1}
3 - 6,25%	31,12 µg L^{-1}
4 - 12,5%	62,25 µg L^{-1}
5 - 25%	124,5 µg L^{-1}
6 - 50%	249,0 µg L^{-1}
7 - 100%	498,0 µg L^{-1}

O efeito dos tratamentos foi avaliado através das observações das seguintes características: atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidase; taxa de peroxidação lipídica; teor de proteínas solúveis; parâmetros fisiológicos da análise de crescimento; teor de sacarose, açúcares redutores e amido em folhas; quantificação de boro foliar e trocas gasosas.

Avaliações bioquímicas

Extração do material

A extração do material vegetal para as análises enzimáticas foi realizada segundo proposto por Kar e Mishra (1976). Foram coletadas folhas totalmente expandidas, acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e embrulhados em papel alumínio e, imediatamente, submergidas em nitrogênio líquido para paralisar as reações metabólicas do tecido vegetal. O tecido vegetal foi triturado em tampão fosfato de potássio 0,1 mol L^{-1} pH 6,7, centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida foi coletado o sobrenadante, identificado e armazenado para posterior determinação da atividade.

Peroxidação de Lipídios

A peroxidação de lipídios foi determinada de acordo com técnica descrita por Heath e Packer (1968). Pesou-se 200 mg de material vegetal e homogeneizou-se a amostra com ácido tiobarbitúrico 0,25% e ácido tricloroacético 10%. Em seguida, o material foi colocado em banho-maria a 90°C por uma hora, depois resfriado e centrifugado a 10.000 rpm por dez minutos. O sobrenadante foi coletado e submetido a leituras de 560 e 600 nm de comprimento de onda em espectrofotômetro MARCA.

Análise Protéica

As proteínas solúveis foram determinadas segundo a metodologia proposta por Bradford (1976). Pipetou-se 50 µL de extrato enzimático juntamente com 2,5 mL de Reativo de Bradford. Após 15 minutos foi REALIZADA a leitura em espectrofotômetro a 595 nm e comparada com curva-padrão de caseína a 1%.

Determinação da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi estabelecida de acordo com metodologia descrita por Giannopolitis e Ries (1977). Utilizou-se 30 µL de extrato enzimático em meio de reação contendo tampão fosfato de sódio 100 mmol L^{-1} pH 7,8; azul de trazólio (NBT) 75 µM; EDTA 0,1 µM; metionina 14 µM e riboflavina 2 µM. Os tubos foram envolvidos em papel alumínio durante o preparo e, posteriormente, retirados para exposição à luz. Foi preparada uma câmera de reação sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15W a 25°C onde os tubos preparados foram acondicionados por cinco minutos e a medida foi realizada pelo método espectrofotométrico a 560 nm. Uma unidade da SOD corresponde a quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

Determinação da atividade da enzima Catalase (CAT)

A atividade da catalase (CAT) foi determinada pela metodologia descrita por Peixoto et al. (1999). O sistema de reação foi composto por 50 µL de extrato enzimático, tampão fosfato de sódio 0,05 mol. L^{-1} pH 7,0 e peróxido de hidrogênio 12,5 mmol L^{-1}. Observou-se a variação da leitura de 20/20 segundos a 240 nm em temperatura ambiente até completar 80 segundos. O melhor intervalo de tempo foi utilizado para o cálculo.

Determinação da atividade da enzima Peroxidase (POD)

A atividade da enzima peroxidase (POD) foi determinada pelo método proposto por Teisseire e Guy (2000). Para tal, foi pipetado 30 µL de extrato enzimático juntamente com tampão fosfato de potássio 50 nmol L^{-1} pH 6,5; pirogalol 20 mmol L^{-1}, peróxido de hidrogênio 5 mmol L^{-1}, aguardou-se cinco minutos em temperatura ambiente para leitura em espectrofotômetro a 430 nm.

Determinação do teor de açúcares

Para os teores de sacarose e açúcares foram pesados 100mg de folhas em tubos de eppendorf de 2 mL para a extração. Adicionou-se 1 mL de etanol 80% levando ao banho-maria por 5 minutos a 80ºC. Em seguida, transferiu-se o sobrenadante para outro tubo. O "pellet" inicial foi utilizado para o doseamento de amido e o sobrenadante, para os teores de sacarose e açúcares redutores.

O teor de sacarose foi determinado pela adição 100 µL de extrato, 250 µL de resorcinol 1% em etanol a 95%, 750 µL de HCl 30% e aquecimento em banho-maria por oito minutos a 80ºC (ROE, 1934). Em seguida, centrifugou-se a 15000g por cinco minutos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 420 nm.

Os teores de açúcares redutores foram avaliados pelo método reativo D.N.S. (MILLER, 1959). Adicionou-se 100 µL de extrato e 1mL de reativo D.N.S, 1% e aquecimento em banho-maria por nove minutos a 90ºC. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm.

Para a extração do amido foi realizada a hidrólise ácida a quente. O "pellet" inicial foi levado à estufa de circulação forçada de ar a 70ºC por 24h para total desidratação do material. As amostras foram trituradas e adicionado 250 µL de HCl a 30%, agitadas e aquecidas a 90ºC por dez minutos. Em seguida, adicionou-se 350 µL de 10M KOH e centrifugou-se a 16000g por dez minutos. O sobrenadante foi utilizado para o doseamento da glucose (resultado da hidrólise) pelo método reativo D.N.S. (MILLER, 1959).

Parâmetros fisiológicos da análise de crescimento

O efeito dos tratamentos no crescimento vegetal foi avaliado através das observações das seguintes características: massa seca de folhas, cales e raízes; área foliar; taxa de crescimento absoluto.

Foram coletas três plantas a cada sete dias após o início dos tratamentos (DAT), totalizando quatro coletas. Após a retirada das plantas da solução nutritiva, estas foram separadas em folhas, caule e raiz e colocadas em sacos de papel devidamente identificados e armazenados em estufa com circulação forçada de ar à 70º C, por 48 horas para secagem e, posterior, pesagem.

A área foliar foi determinada usando o integrador de área foliar LI-3100C Area Meter (LI-COR®- Nebraska, Estados Unidos) em cm^2 e depois convertidos para dm^2.

A taxa de crescimento absoluto (TCA) determina o aumento da matéria em relação ao material pré-existente (RODRIGUES et al., 1993), expressada em $g.planta^{-1}dia^{-1}$ de acordo com a expressão:

$$TCA = \frac{MST1 - MST2}{T1 - T2}$$

Onde:

TCA = taxa crescimento absoluto

MST = massa seca total

T1 = tempo da coleta

Os parâmetros avaliados foram definidos durante três intervalos: (I) entre a primeira e segunda coleta (7 a 14 DAT); (II) entre a segunda e terceira coleta (14 a 21 DAT) e (III) entre a terceira e quarta coleta (21 a 28 DAT).

O teor foliar de B foi quantificado através de amostras secas e previamente moídas de folhas, em espectrofotômetro de absorção atômica após a digestão das mesmas em solução ácida nítrico-perclórica, conforme Malavolta et al. (1997), pelo método da azometina-H em extrato obtido por digestão via seca (TEDESCO et al., 1995).

Análise dos dados

Para a análise estatística, os resultados foram submetidos à análise de dois fatores de variância (*Two Way* ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Para os valores bioquímicos empregou-se a análise de regressão quadrática. Todas as análises foram realizadas no programa Sisvar (FERREIRA, 1998).

RESULTADOS

Avaliações bioquímicas

Entre os 14 e 35 DAT, as plantas do T1 (ausência de B) tiveram maior valor de peroxidação lipídica entre todos os tratamentos (Figura 2 – A; ver Anexo pág.68), seguido das plantas da menor concentração de B (T2 - 15,6 μg L^{-1}). Aos 35 DAT, as plantas do T1 apresentaram aumento de aproximadamente 50% em relação as plantas do tratamento controle (T7 - 498 μg L^{-1}).

Os valores de proteínas solúveis (Figura 2 – B; ver Anexo pág.67) apresentaram efeito significativo em todas as coletas e entre os tratamentos. A partir de 21 DAT as plantas submetidas à ausência de boro apresentaram menor teor de proteínas solúveis totais em todas as etapas analisadas em relação as plantas do tratamento controle (T7 - 498 μg L^{-1}).

Para SOD (Figura 2 – C; ver Anexo pág.69) os resultados foram significativos em todas as coletas e entre os tratamentos. Verificou-se que ao longo das coletas os valores decaem para as plantas dos tratamentos com B; entretanto, o mesmo não acontece nas plantas com déficit do mineral. As plantas do tratamento com déficit (T1) apresentaram menor valor para essa enzima em todos os pontos avaliados.

Para a atividade da enzima POD (Figura 2 – D; ver Anexo pág.70) houve efeito significativo em todas as coletas e entre os tratamentos. Em todos os pontos avaliados (7-35 DAT), as plantas do tratamento com ausência de B (T1) apresentaram os maiores valores quando comparadas com as plantas do controle (T7 - 498 μg L^{-1}).

Para a enzima CAT (Figura 2 – E; ver Anexo pág.70), aos 7 DAT não houve diferença entre os tratamentos e aos 14 DAT as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram o maior valor (2,70 mKat. μg^{-1} de proteína). Entre o período de 21 a 35 DAT, as plantas do tratamento com ausência de B (T1) apresentaram os maiores valores para a enzima em relação ao controle (T7 - 498 μg L^{-1}).

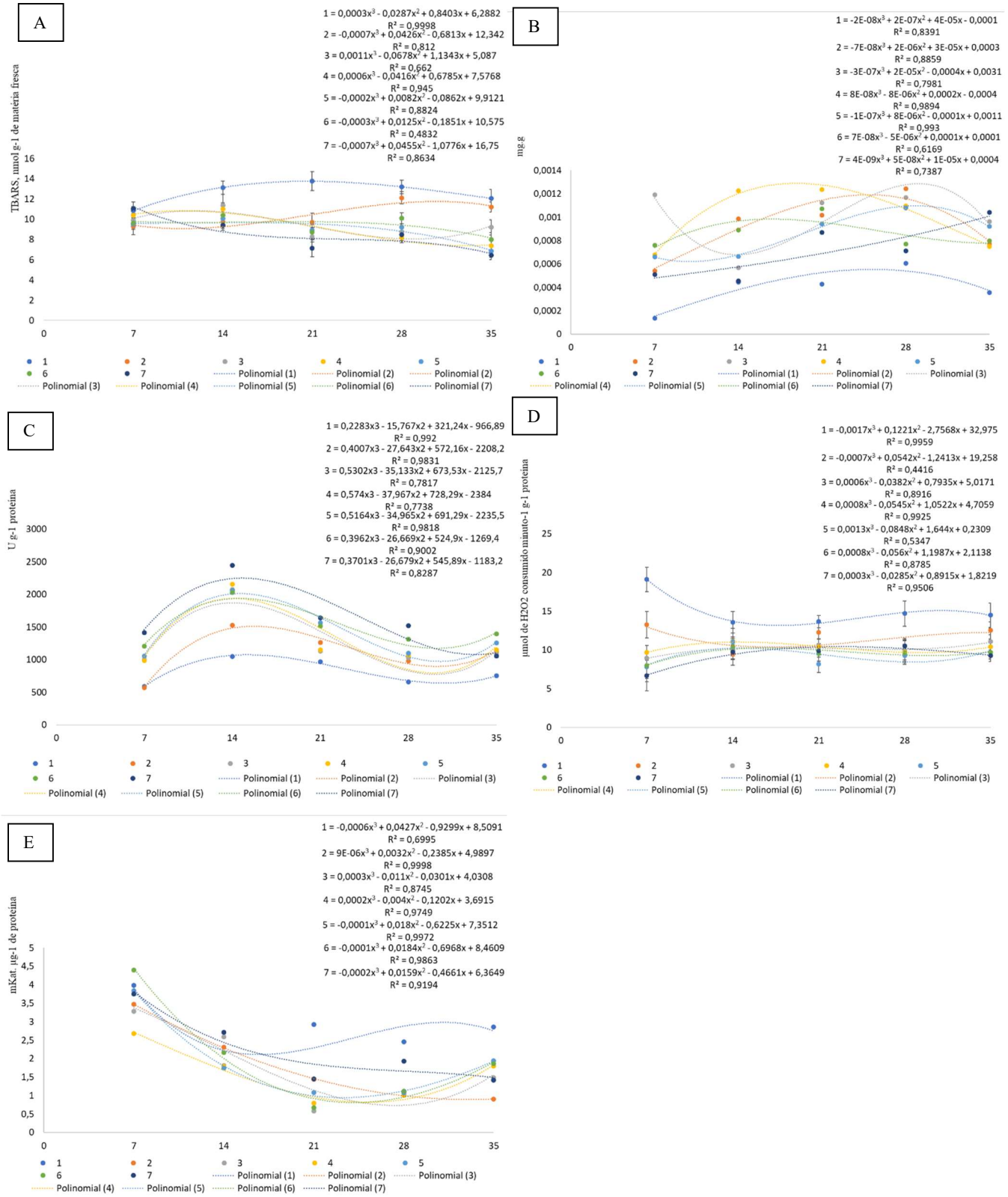

Figura 2 – A- Peroxidação lipídica (MDA, nmol g^{-1} de matéria fresca); B- proteínas (mg.g); C - atividade de enzima superóxido dismutase (SOD, U g^{-1} proteína); D – atividade da peroxidase (POD, µmol de H2O2 consumido minuto-1 g-1 proteína); E – atividade da catalase (CAT, mKat. μg^{-1} de proteína) aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de tomate cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Teor de B foliar

Devido ao tamanho reduzido das folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom, não houve material suficiente para a análise de teor de B aos sete dias, correspondente à primeira coleta (Figura 3; ver Anexo pág.71). Aos 14 DAT foi observado que os teores de B foliar aumentam de acordo com o aumento da disponibilidade do nutriente na solução nutritiva, mantendo essa mesma variação aos 21 e 28 DAT. Os valores encontrados nas demais coletas para essa variável ficaram próximos do esperado para a espécie em geral, com acúmulo do nutriente para todas as concentrações, com exceção para o tratamento com ausência do mineral, onde houve redução do teor ao longo das avaliações, com 46,86 mg kg^{-1} aos 14 DAT e 32,27 mg kg^{-1} aos 28 DAT.

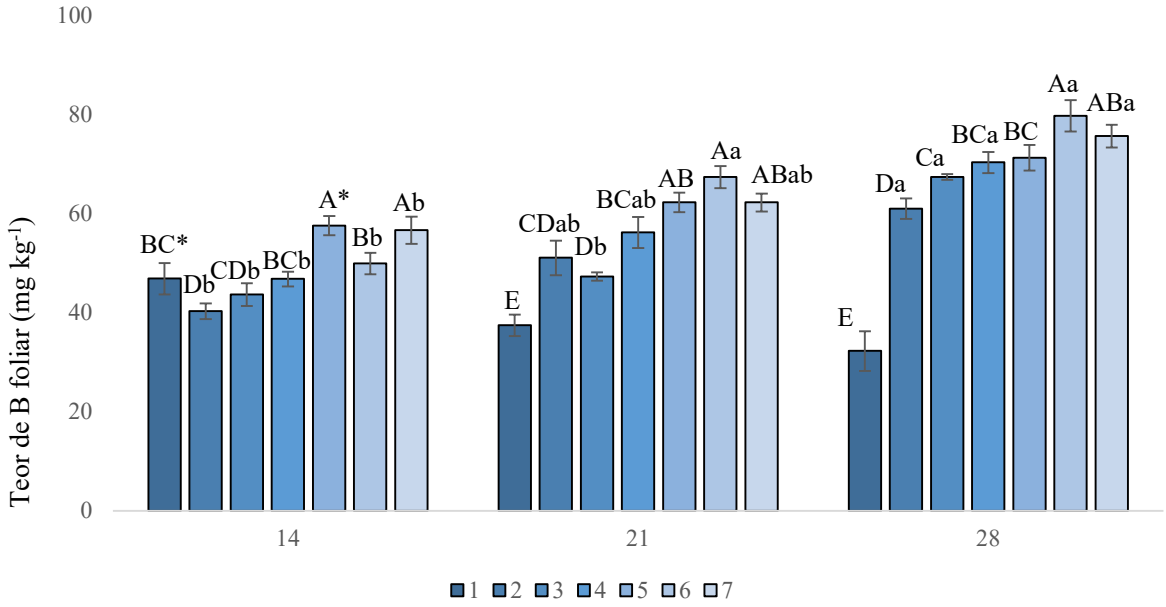

Figura 3 - Teor de B foliar (mg kg^{-1}) em plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro aos 14, 21 e 28 DAT. Botucatu, UNESP, 2019. (*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamentos e letra minúscula para coletas. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Parâmetros fisiológicos de análise de crescimento

A massa seca total de plantas (MST, Tabela 2) não houve diferença significativa entre os tratamentos nas duas primeiras coletas, com diferença significativa somente entre as coletas. Aos 7 DAT, as plantas do T2 (15,6 µg L^{-1}) apresentaram a maior massa, com 0,39

g/planta, enquanto aos 14 DAT, as plantas do tratamento sem B (T1) apresentaram maior massa, com 0,79 g/planta. Nos outros pontos avaliados, aos 21 e 28 DAT, houve incremento da fitomassa para todos os tratamentos, inclusive para as plantas com déficit de boro (T1), entretanto, ainda foram menores em relação as plantas do tratamento controle (T7, 498 µg L^{-1} de B).

Tabela 2 – Valores médios de massa seca total (MST, g^{-1}planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 7, 14, 21 e 28 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 µgL^{-1}; (2) 15,6 µgL^{-1}; (3) 31,12 µgL^{-1}; (4) 62,25 µgL^{-1}; (5) 124,4 µgL^{-1}; (6) 249 µgL^{-1}; (7) 498 µgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,24 ± 0,04*	0,79 ± 0,10*	0,83 ± 0,02 C	0,84 ± 0,02 D
2	0,39 ± 0,05*	0,62 ± 0,11*	0,88 ± 0,47 BC	1,22 ± 0,08 CD
3	0,33 ± 0,12*	0,46 ± 0,06*	1,66 ± 0,39 AB	1,92 ± 0,39 AB
4	0,31 ± 0,04*	0,71 ± 0,19*	1,39 ± 0,57 BC	1,58 ± 0,57 BC
5	0,24 ± 0,02*	0,51 ± 0,10*	1,53 ± 0,11 ABC	1,80 ± 0,40 AB
6	0,23 ± 0,08 b	0,51 ± 0,08ab	1,83 ± 0,41 ABab	2,12 ± 0,41 ABa
7	0,26 ± 0,02 c	0,69 ± 0,13bc	2,12 ± 0,34 Aab	2,48 ± 0,34 Aa

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Para massa seca de folhas (MSF, Tabela 3) foi obsevado que aos 7 DAT as plantas do T2 (15,6 µg L^{-1}) apresentaram maior massa, com 0,14 g^{-1}planta, enquanto que aos 14 DAT, as plantas do tratamento sem B (T1) apresentaram maior massa, com 0,3 g^{-1}planta. Aos 21 e 28 DAT, as plantas do T3 (31,12 µg L^{-1}) apresentaram maiores valores de massa (0,6 e 0,68g^{-1}planta) em relação ao controle (T7, 498 µg L^{-1}). Para as plantas do T1 (ausência de B), em todos os pontos avaliados os valores de massa foram inferiores em relação aos demais tratamentos.

Tabela 3 – Valores médios de massa seca de folhas (MSF, g^{-1}planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 7, 14, 21 e 28 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,06 ± 0,02*	0,30 ± 0,07*	0,22 ± 0,09 C	0,18 ± 0,09 C
2	0,14 ± 0,07*	0,17 ± 0,05	0,29 ± 0,01 BC	0,25 ± 0,01 C
3	0,09 ± 0,05 b	0,15 ± 0,06 b	0,6 ± 0,15 Aa	0,68 ± 0,15 Aa
4	0,08 ± 0,02*	0,23 ± 0,05	0,32 ± 0,15 BC	0,39 ± 0,15 BC
5	0,06 ± 0,01 c	0,13 ± 0,02 bc	0,55 ± 0,05 Aab	0,59 ± 0,11 ABa
6	0,06 ± 0,01 b	0,12 ± 0,02 ab	0,47 ± 0,08 ABab	0,55 ± 0,08 ABa
7	0,05 ± 0,03 b	0,29 ± 0,10 ab	0,48 ± 0,19 ABab	0,56 ± 0,19 ABa

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Os valores médios de massa seca de caule (MSC, Tabela 4) e raízes (MSR, Tabela 5) não diferiram aos 7 e 14 DAT, respectivamente; entretanto, os últimos pontos avaliados apresentaram aumento significativo para todos os tratamentos. As plantas submetidas ao T7 (498 $\mu g\ L^{-1}$), que corresponde a concentração controle de B disponível na solução nutritiva nº2 de Hoagland e Arnon (1950) apresentaram os maiores valores em relação aos demais tratamentos. Houve também aumento da fitomassa de caule para as plantas do tratamento sem boro (T1), porém os valores foram aproximadamente duas vezes menores em relação ao controle (T7, 498 $\mu g\ L^{-1}$).

Tabela 4 – Valores médios de massa seca de caule (MSC, g-1planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 7, 14, 21 e 28 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,14 ± 0,02*	0,31 ± 0,03*	0,49 ± 0,08 B	0,45 ± 0,08 C
2	0,2 ± 0,06*	0,35 ± 0,06	0,56 ± 0,35 B	0,38 ± 0,09 C
3	0,19 ± 0,06*	0,24 ± 0,02	0,64 ± 0,15 B	0,72 ± 0,15 BC
4	0,18 ± 0,05*	0,37 ± 0,12	0,65 ± 0,30 B	0,73 ± 0,30 BC
5	0,1 ± 0,01*	0,29 ± 0,07	0,71 ± 0,13 AB	0,69 ± 0,17 BC
6	0,12 ± 0,06 b	0,31 ± 0,05 ab	0,84 ± 0,27 ABab	0,92 ± 0,27 ABa
7	0,17 ± 0,02 b	0,31 ± 0,15 b	1,06 ± 0,22 Aa	1,14 ± 0,22 Aa

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Tabela 5 – Valores médios de massa seca de raízes (MSR, g-1planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 7, 14, 21 e 28 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,04 ± 0,02*	0,17 ± 0,07*	0,26 ± 0,01 C	0,21 ± 0,01 D
2	0,05 ± 0,02*	0,1 ± 0,02	0,32 ± 0,10 BC	0,31 ± 0,05 CD
3	0,05 ± 0,02*	0,07 ± 0,01	0,42 ± 0,11 ABC	0,49 ± 0,11 ABC
4	0,05 ± 0,001*	0,11 ± 0,02	0,38 0,17 BC	0,46 ± 0,17 CD
5	0,07 ± 0,02*	0,09 ± 0,01	0,29 ± 0,08 BC	0,5 ± 0,17 ABC
6	0,04 ± 0,02 b	0,08 ± 0,03 ab	0,45 ± 0,11 ABab	0,53 ± 0,11 ABa
7	0,04 ± 0,01 b	0,1 ± 0,01 b	0,58 ± 0,07 Aa	0,65 ± 0,07 Aa

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Assim como observado para MSF, os valores médios de área foliar (AF, Tabela 6) não diferiram aos 7 DAT e dos 14 aos 28 DAT diferiram entre si. Houve aumento da área foliar para todas as plantas avaliadas e aquelas submetidas ao tratamento controle (T7) tiveram os maiores valores (3,46; 5,79 e 10.37 cm^2g^{-1}, respectivamente). As plantas pertencentes ao tratamento com ausência de B (T1) apresentaram pequeno aumento de área foliar ao longo das coletas, porém inferiores ao controle (T7, 498 $\mu g\ L^{-1}$).

Tabela 6 – Valores médios de área foliar (AF, cm^2g^{-1}) de folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 7, 14, 21 e 28 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	1,15 ± 0,24*	1,30 ± 0,19 B	2,02 ± 0,28 C	2,23 ± 0,28 D
2	1,51 ± 0,16*	2,55 ± 0,06 AB	3,76 ± 0,48 BC	5,74 ± 0,48 B
3	1,65 ± 0,55 b	2,05 ± 0,12 ABb	4,83 ± 0,14 ABab	10,38 ± 0,07 Aa
4	1,67 ± 0,19*	2,07 ± 0,13 AB	4,18 ± 0,16 ABC	6,93 ± 0,16 BC
5	1,84 ± 0,13 b	2,88 ± 0,13 ABab	6,28 ± 0,25 Aab	9,03 ± 0,25 ABa
6	1,22 ± 0,29 b	2,41 ± 0,02 ABb	3,93 ± 0,24 BCab	9,49 ± 0,20 Aa
7	1,43 ± 0,15 b	3,46 ± 0,06 Ab	5,79 ± 0,23 ABab	10,37 ± 0,09 Aa

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

A taxa de crescimento absoluto (TCA, Tabela 7) diferiu entre os intervalos avaliados e os tratamentos. Observou-se que no Intervalo I, as plantas do tratamento 1 (ausência de boro) apresentaram valor de 0,042 $g.planta^{-1}dia^{-1}$, enquanto o controle (T7, 498 $\mu g\ L^{-1}$) teve 0,06 $g.planta^{-1}dia^{-1}$. No Intervalo II, as plantas com ausência de boro apresentaram valor de 0,042 $g.planta^{-1}dia^{-1}$, enquanto o controle (T7, 498 $\mu g\ L^{-1}$) apresentou 0,205 $g.planta^{-1}dia^{-1}$. No

último Intervalo (III), as plantas com ausência de boro (T1) apresentaram o menor valor em relação ao controle, de 0,019 g.planta^{-1}dia^{-1} e 0,051 g.planta^{-1}dia^{-1} respectivamente. O tratamento 3 (31,12 µg L^{-1}) apresentou maior crescimento, com valor de 0,08 g.planta^{-1}dia^{-1}.

Tabela 7 – Taxa de Crescimento Absoluto (TCA - g.planta^{-1}dia^{-1}) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom o início dos tratamentos com B (DAT). Intervalos: (I) correspondente entre 7 e 14 dias; (II) período entre 14 e 21 dias; (III) período 21 e 28 dias. (1) 0 µgL^{-1}; (2) 15,6 µgL^{-1}; (3) 31,12 µgL^{-1}; (4) 62,25 µgL^{-1}; (5) 124,4 µgL^{-1}; (6) 249 µgL^{-1}; (7) 498 µgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	I	II	III
1	0,042 ± 0,02*	0,042 ± 0,02 B	0,019 ± 0,001*
2	0,032 ± 0,02*	0,037 ± 0,02 B	0,049 ± 0,04
3	0,041 ± 0,02*	0,113 ± 0,02 ABa	0,084 ± 0,05 b
4	0,051 ± 0,02*	0,103 ± 0,07 AB	0,026 ± 0,02
5	0,038 ± 0,01*	0,145 ± 0,03 AB	0,038 ± 0,03
6	0,039 ± 0,02 b	0,189 ± 0,03 Aa	0,041 ± 0,007 b
7	0,06 ± 0,01 b	0,205 ± 0,05 Aa	0,051 ± 0,008 b

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Os valores médios de sacarose em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom diferiram entre as coletas e os tratamentos (Tabela 8). Aos 7 DAT, as plantas do T1 (ausência de boro) apresentaram 1,24 mg.g^{-1}.mf enquanto as plantas do controle (T7) apresentaram 0,71 mg g^{-1}mf. Aos 14 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram o maior valor com 1,4 mg g^{-1}mf, enquanto que as plantas sem B (T1) apresentaram 1,08 mg g^{-1}mf. Ao 21 DAT, as plantas submetidas as menores concentrações de B apresentaram valores entre 1 e 1,5 mg g^{-1}mf, enquanto que as plantas do controle (T7) foi de 0,82 mg g^{-1}mf. Entretanto, aos 28 DAT, as plantas submetidas ao tratamento 7 (controle) apresentaram 0,86 mg g-1 mf, aproximadamente 30% a mais que as demais concentrações, e as plantas sem B (T1) tiveram 0,57 mg g^{-1}mf. Aos 35 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram 0,44 mg g^{-1}mf e as plantas sem B (T1), 0,59 mg g^{-1}mf.

Tabela 8 – Médias dos teores de sacarose (mg g^{-1}mf) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT	35 DAT
1	1,24 ± 0,08*b	1,08 ± 0,14 ABb	1,09 ± 0,12 ABa	0,57 ± 0,06*b	0,59 ± 0,03*b
2	0,81 ± 0,07 ab	0,91 ± 0,07 ABab	1,45 ± 0,14 Aa	0,58 ± 0,02 b	0,57 ± 0,11 b
3	0,53 ± 0,03*	1,1 ± 0,12 AB	1,13 ± 0,11 AB	0,54 ± 0,02	0,56 ± 0,22
4	0,52 ± 0,04 b	1,47 ± 0,14 Aa	0,95 ± 0,18 ABab	0,46 ± 0,08 b	0,53 ± 0,02 b
5	1,13 ± 0,09 bc	1,42 ± 0,17 Aa	0,6 ± 0,02 Cbc	0,38 ± 0,06 c	0,55 ± 0,04 bc
6	0,96 ± 0,12*	0,5 ± 0,007 B	0,57 ± 0,07 C	0,5 ± 0,01	0,52 ± 0,05
7	0,71 ± 0,02 b	1,4 ± 0,16 Aa	0,82 ± 0,02 BCab	0,86 ± 0,02 ab	0,44 ± 0,01 b

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Os valores médios de açúcares redutores em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom diferiram entre as coletas e os tratamentos (Tabela 9). Aos 7 DAT, as plantas do tratamento 6 (249 μgL^{-1}) apresentaram o maior valor, com 0,26 mg g^{-1}mf e, tanto as plantas do controle (T7) quanto as plantas com ausência de B (T1) apresentaram 0,14 mg g^{-1}mf respectivamente. Aos 14 DAT, as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram o maior valor com 0,37 mg g^{-1}mf, seguido das plantas do tratamento sem B (T1), com 0,23 mg g^{-1}mf. Aos 21 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram o maior valor de açúcares redutores em relação aos outros tratamentos, com 0,23 mg g^{-1}mf. Entretanto, aos 28 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram 0,15 mg g^{-1}mf, enquanto que as plantas do tratamento sem B (T1) apresentaram os maiores valores, com 0,24 mg g^{-1}mf. Aos 35 DAT, as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 0,14 mg g^{-1}mf, e as plantas do tratamento 4 (62,25 μgL^{-1}) tiveram o maior valor, com 0,19 mg g^{-1}mf.

Tabela 9 – Médias dos teores de açúcares redutores (mg g^{-1}mf) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos. Lê-se: (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT	35 DAT
1	0,14 ± 0,004 BCb	0,23 ± 0,004 Ba	0,13 ± 0,003 Bb	0,24 ± 0,02 Aa	0,12 ± 0,004 Bb
2	0,16 ± 0,007 BCab	0,14 ± 0,01 Cab	0,13 ± 0,003 Bab	0,19 ± 0,008 Aba	0,12 ± 0,004 Bb
3	0,2 ± 0,003 ABa	0,14 ± 0,01 Cab	0,13 ± 0,008 Bb	0,12 ± 0,003 Cb	0,15 ± 0,07 Bb
4	0,12 ± 0,004 Cb	0,17 ± 0,03 ABab	0,12 ± 0,05 Bb	0,13 ± 0,03 BCb	0,19 ± 0,07 Aa
5	0,19 ± 0,012 ABb	0,13 ± 0,004 Cab	0,16 ± 0,05 ABab	0,16 ± 0,02 BCab	0,11 ± 0,0006 Bb
6	0,26 ± 0,012 Aa	0,13 ± 0,002 Cc	0,2 ± 0,09 Aab	0,16 ± 0,01 BCbc	0,12 ± 0,01 Bc
7	0,14 ± 0,009 BCc	0,37 ± 0,01 Aa	0,23 ± 0,02 Ab	0,15 ± 0,01 BCc	0,14 ± 0,01 Bc

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Os valores médios dos teores de amido em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom diferiram entre as coletas e os tratamentos (Tabela 10). Aos 7 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram 1,41 mg g^{-1}mf, seguido das plantas do tratamento T3 (31,12 μgL^{-1}), com 1,39 mg g^{-1}mf, enquanto que as plantas do tratamento 1(ausência de B) apresentaram 0,88 mg g^{-1}mf. Aos 14 DAT, as plantas do controle (T7) e as plantas do T1 (ausência de B) apresentaram os maiores valores, com 1,26 e 1,29 mg g^{-1}mf, respectivamente. Aos 21 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram 0,74 mg g^{-1}mf, enquanto que as plantas do tratamento 3 (31,12 μgL^{-1}) apresentaram os maiores valores, com 1,26 mg g^{-1}mf. Aos 28 DAT, as plantas do controle (T7) e o T1 (ausência de B) apresentaram os mesmos valores, com 0,82 mg g^{-1}mf, enquanto que as plantas do tratamento 6 (249 μgL^{-1}) apresentaram o maior valor, com 1,02 mg g^{-1}mf. Aos 35 DAT, as plantas do controle (T7) apresentaram 0,88 mg g^{-1}mf, entretanto, as plantas do tratamento 4 (62,25 μgL^{-1}) apresentaram os maiores valores, com 0,98 mg g^{-1}mf.

Tabela 10 – Médias dos teores de amido (mg g-1 mf) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos com B (DAT). (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT	35 DAT
1	0,88 ± 0,02 B*	1,29 ± 0,06 A	1,23 ± 0,02 AB	0,82 ± 0,02*	0,79 ± 0,03 B
2	1,01 ± 0,07 Ba	0,68 ± 0,02 BCb	0,89 ± 0,03 Cab	0,92 ± 0,05 ab	0,86 ± 0,11 Bab
3	1,39 ± 0,13 Aa	0,79 ± 0,06 Bb	1,26 ± 0,02 Aa	0,92 ± 0,03 b	0,83 ± 0,05 ABb
4	0,79 ± 0,07 BC*	0,73 ± 0,09 BC	0,85 ± 0,27 C	0,97 ± 0,07	0,98 ± 0,20 AB
5	0,55 ± 0,10 Cb	0,5 ± 0,04 Cb	1,22 ± 0,16 Aba	1,02 ± 0,02 a	0,97 ± 0,16 Aa
6	0,90 ± 0,07 Ba	0,47 ± 0,02 Cb	0,97 ± 0,06 Aba	0,96 ± 0,16 a	0,82 ± 0,05 Ba
7	1,41 ± 0,04 Aa	1,26 ± 0,05 Aa	0,74 ± 0,04 Cb	0,82 ± 0,03 b	0,88 ± 0,03 ABb

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

DISCUSSÃO

O estresse gerado pelo desbalanço nutricional pode acarretar variações na produção diária de radicais livres, sinalizando mecanismos metabólicos intrínsecos para minimizarem ou impedirem o acúmulo desses radicais (KARABAL et al., 2003). A peroxidação lipídica foi maior para o tratamento sem B (T1) em relação ao controle (T7) entre os 14 e 35 DAT (Figura 2 – A; ver Anexo pág. 59). Han et al. (2008) também observaram aumento de MDA e do gradiente elétrico em folhas de citros em condições de deficiência de B. Estudos afirmam que a ausência de B pode interferir na atividade da H^+-ATPase, influenciando diretamente no gradiente eletroquímico da membrana (POLLARD et al., 1977; BLASER-GRILL et al., 1989; SCHON et al., 1990; FERROL; DONAIRE, 1992; CAKMAK et al., 1995; CAMACHO-CRISTÓBAL; GONZÁLEZ-FONTE, 1999), sugerindo relação direta entre esse mineral e o fluxo de íons pela membrana plasmática.

A produção de radicais livres ocorre normalmente durante o ciclo diário em uma planta, mas alterações bióticas ou abióticas podem interferir nesse equilíbrio. Oiwa et al. (2013) observaram que a deficiência de B em *Arabidopsis* aumentou a taxa de ERO, podendo aumentar a atividade das enzimas antioxidantes, assim como foi encontrado nos resultados deste trabalho. O mesmo também foi observado em plantas de tabaco (Koshiba et al., 2009) e raízes de *Arabidopsis* (CAMACHO-CRISTÓBAL et al., 2015).

Neste trabalho observou-se que plantas do tomateiro Micro-Tom que não receberam boro (T1) e aquelas com concentração mínima (T2, 15,6 μgL^{-1}) apresentaram os menores valores para MSR, MSH, MSF e MST (Tabelas 2, 3, 4, e 5), como também para TCA (Tabela 7), corroborando com os trabalhos de Camacho-Cristóbal e González-Fontes (1999), Sutinen et al. (2006); Tewari et al. (2010); Martim-Rejano et al. (2011); Hajiboland et al. (2012) e Wu et al. (2017). Acredita-se que a baixa produção de fitomassa esteja relacionada à desestruturação da parede celular e diminuição da área de contato das raízes, ocasionando redução da absorção e transporte de água e nutrientes.

A variação na disponibilidade de B, tanto o excesso quanto na ausência, podem acarretar alterações no crescimento e desenvolvimento de plantas durante todo o ciclo vegetal. O tomate é uma planta com alta demanda nutricional, sendo sua absorção lenta no início do desenvolvimento e intensa no período de floração e frutificação (ALVARENGA, 2011). Em situações de deficiência, o crescimento radicular é o primeiro a ser afetado, diminuindo consideravelmente o seu desenvolvimento. Isso ocorre porque na ausência do mineral a parede celular torna-se comprometida devido à redução das ligações diésteres de borato com resíduos de ramnogalacturano II (WIMMER et al., 2009). Além disso, o B também está associado ao

alongamento das raízes, e, em baixas concentrações, esse processo é reduzido pelo desbalanço entre auxina e etileno (MARTIM-REJANO et al., 2011; CAMACHO-CRITÓBAL et al., 2015; GONZÁLEZ-FONTES et al., 2016).

Segundo Malavolta (1997), os valores médios do teor de boro em folhas de tomateiro estão entre 50-70 mg kg^{-1}. Aos 14 DAT, observou-se que plantas sem aplicação de B apresentaram 46,89 (± 3,19) mg kg^{-1} de teor foliar de B, enquanto que plantas do tratamento controle (7) apresentaram 56,65 (± 2,75) mg kg^{-1} (Figura 3, Anexo I – pág. 63). Aos 21 DAT, o tratamento 1 apresentou redução de 20% (37,5 ± 2,17 mg kg^{-1}) em relação à coleta anterior, enquanto que o tratamento controle teve incremento de 10% (62,29 ± 1,8 mg kg^{-1}). Aos 28 DAT foi observado que o tratamento sem B reduziu mais 10% (32,27 ± 4,0 mg kg^{-1}) o teor de B aproximadamente, em relação à coleta anterior e o controle teve aumento de 20% (75,69 ± 2,29 mg kg^{-1}). Acredita-se que o teor inicial de B encontrado nessas plantas correspondem às suas reservas do cotilédone e a redução posterior, significaria a mobilização do mineral como forma de equilibrar o balanço interno. Diversos trabalhos têm demonstrado que em condições limitantes de boro ocorre a ativação de proteínas e transportadores específicos que auxiliam na remobilização do mineral (TAKANO et al., 2006; TANAKA et al., 2008; KATO et al., 2009).

O acúmulo de massa durante o desenvolvimento vegetal está diretamente relacionado à capacidade fotossintética do vegetal e, em situações de déficit ou baixa disponibilidade de B, ocorre redução da atividade fotossintética como efeito secundário. Devido à modificação do sistema radicular em resposta ao B, o transporte de solutos é afetado, alterando o teor dos demais nutrientes como também a taxa transpiratória. Como consequência, a permeabilidade da cutícula pode ser modificada e reduzida, ocasionando o fechamento estomático precoce, que, irá interferir na taxa de trocas gasosas na câmara subestomática como também na entrada de CO_2 (BAKER; GAUCH, 1956; MOTTONEN et al., 2001; DIHLLON et al, 2018). Outro fator relevante é o desbalanço osmótico nas células do floema e citosol, devido ao acúmulo de açúcares redutores e variação do teor de sacarose nesses compartimentos (CAMACHO-CRISTÓBAL et al., 2004; HAN et al., 2008).

Além disso, a variação na disponibilidade de B pode ocasionar maior acúmulo de açúcares nas células do floema, como também a formação de moléculas de amido nos órgãos produtores e redução da concentração de açúcares redutores (BROWN; HU, 1996; HU et al., 1997; WILL et al., 2011). Neste trabalho foi observado que a ausência de B aumentou o conteúdo de amido foliar e de açúcares redutores aos 14 DAT, entretanto, aos 21 DAT houve redução dos açúcares redutores, porém o teor de amido se manteve superior aos demais tratamentos com B. É possível deduzir que, tendo em consideração que todas as plantas foram cultivadas desde a semeadura sem a aplicação de boro, a variedade utilizada, cv. Micro-Tom,

deve possuir níveis mais elevados do mineral, pois as plantas do tratamento 1 mantiveram o transporte de açúcares de acordo com a disponibilidade interna do mineral até o período de floração, que ocorreu entre 7 e 14 DAT, o que explicaria o aumento do teor de açúcares redutores nesse período. O mesmo comportamento foi observado aos 28 DAT, que corresponde ao período da emissão de frutos. Resultados semelhantes foram encontrados em fumo (CAMACHO- CRISTÓVAL et al., 2004), folhas de citros (HAN et al., 2008) e laranja (LIU et al., 2014).

O B pode formar complexos estáveis com moléculas que tenham o grupo cis-hidroxila, como os açúcares e compostos fenólicos (SHELP, 1993). Todavia, em situações de deficiência do nutriente ocorre acúmulo desses fenóis e a oxidação desses metabólitos pode levar à produção de ERO, que podem desencadear diversas alterações metabólicas e morfológicas na planta (CAKMAK; RÖMHELD, 1997; NAKAGAWA et al., 2007; KOSHIBA et al., 2009; OIWA et al., 2013). Apesar de não ter sido avaliado o teor de fenóis nesse trabalho, sugere-se que a atividade das enzimas antioxidantes avaliadas seja um efeito secundário às alterações metabólicas que o mesmo pode causar, como a oxidação de prováveis compostos fenólicos oriundos das diferentes concentrações do mineral.

Nas condições que este trabalho foi realizado, conclui-se que a ausência da aplicação de B e baixas concentrações do mineral (15,6 μgL^{-1}) resultaram em baixa produção de fitomassa de raiz, caule, folha, redução do crescimento e baixo teor de B foliar. Além disso, ainda ocasionou maior taxa na produção de MDA, maior atividade das enzimas SOD e POD e variações no conteúdo de amido aos 14 e 21 DAT, açúcares redutores aos 14 e 28 DAT e sacarose aos 7 e 21 DAT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Editor: Marco Antônio Rezende Alvarenga. – Lavras: Editora UFLA, 2011.

BABB, V.M.; HAIGLER, C.H. Sucrose Phosphate Synthase Activity Rises in Correlation with High-Rate Cellulose Synthesis in Three Heterotrophic Systems. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1234–1242, 2001.

BAKER, H.G. GAUCH, W.M. Dugger, Effects of boron on the water relations of higher plants, **Plant Physiology,** v. 31, p. 89–94, 1956.

BLASER-GRILL, J.; KNOPPIK, D.; AMBERGER, A.; GOLDBACH, H. Influence of boron on the membrane potential in Elodea densa andHelianthus annuus roots and H+ extrusion of suspension cultured Daucus carota cells. **Plant Physioly**, v. 90, p. 280–284. 1989.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

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

BROWN PH, HU H. Phloem mobility of boron is species dependent. Evidence for phloem mobility in sorbitol rich species. **Annals of Botany**, v. 77, p. 497–505. 1996.

BROWN, P.H.; SHELP, B.J. Boron mobility in plants. **Plant Soil**, v. 193, p. 85–101. 1997.

CAKMAK I, KURZ H; MARSCHNER H. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. **Physiology Plantarum**, v. 95, p. 11–18, 1995.

CAKMAK, I.; RÖMHELD, V. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. **Plant Soil**, v. 193, p. 71–83, 1997.

CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J.; GONZÁLEZ-FONTES, A. Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. **Planta**, v. 209, p. 528–36, 1999.

CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J., MARTÍN-REJANO, E.M., HERRERA-RODRÍGUEZ, M.B., NAVARRO-GOCHICOA, M.T., REXACH, J., GONZÁLEZ-FONTES, A. Boron deficiency inhibits root cell elongation via an ethylene/auxin/ROSdependent pathway in Arabidopsis seedlings. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 3831–3840. 2015.

CARVALHO, R.F.; CAMPOS, M.L.; PINO, L.E.; CRESTANA, S.V.; ZSÖGÖN, A.; LIMA, J.E.; BENEDITO, V.A.; PERES, Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, v. 7, p. 1-18, 2011.

CHEN A, HE S, LI F, LI Z, DING M, LIU Q, RONG J. Analyses of the sucrose synthase gene family in cotton: structure, phylogeny and expression patterns. **BMC Plant Biology**, v. 12, p. 85–102, 2012.

DHILLON, BS; P. K. SHARMA; DHINGRA, M. Boron and TIBA induced physiological and anatomical changes in relation to dry matter partitioning in spring sunflower (*Helianthus annuus* L.) under delayed sowing. **Indian Journal of Plant Physiology**, abr, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: **UFLA**, 1998. 19 p.

FERROL, N.; DONAIRE, J. P. Effect of boron on plasma membrane proton extrusion and redox activity in sunflower cells. **Plant Science**, v. 86, p. 41–47. 1992.

GAUCH, H.G.; DUGGER, W.M. The role of boron in the translocation of sucrose. **Plant Physiology,** v. 28, p. 457-466, 1953.

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

GRATTAN SR, GRIEVE, CM. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 127-157, 1999.

GONZÁLEZ-FONTES A.; HERRERA-RODRÍGUEZ MB, MARTÍN-REJANO EM, NAVARRO-GOCHICOA MT, REXACH J.; CAMACHO-CRISTÓBAL J.J. Root Responses to Boron Deficiency Mediated by Ethylene. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1103, 2016.

HAJIBOLAND, F. FARHANGHI, M. ALIASGHARPOUR, Morphological and anatomical modifications in leaf, stem and roots of four plants species under boron deficiency conditions, **Annals of Biology**, v. 34, p. 13–27, 2012.

HAN, S., CHEN, L.S., JIANG, H.X., SMITH, B.R., YANG, L.T., XIE, C.Y. Boron deficiency decreases growth and photosynthesis, and increases starch and hexoses in leaves of citros seedlings. **Journal of Plant Physiology,** v. 165, p. 1331–1341, 2008.

HEATH, R.L., PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.125, p.189-98, 1968.

HERNANDEZ, J.A.; FERRER, M.A.; JIMENEZ, A.; BARCELO, A.R.; SEVILLA, F. Antioxidant systems and O2 / H2O2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiology**, v. 127, p. 827-831, 2001.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils.** Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.

HU, H.; PENN, S.G.; LEBRILLA, C.B.; BROWN, P.H. Isolation and characterisation of soluble B-complexes in higher plants. The mechanism of phloem mobility of boron. **Plant Physiology**, v. 113, p. 649–655. 1997.

HUNT, S. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. **Physioogy Plantarum**, v.117, p.314- 325, 2003.

ISHII T, MATSUNAGA T, HAYASHI N. Formation of rhamnogalacturonan II-borate dimer in pectin determines cell wall thickness of pumpkin tissue. **Plant Physiology**, v. 126, p. 1698–1705. 2001.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J.P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural Food Chemestry**, v.47, p.3954-3962,1999.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.

KARABAL, E., YÜCEL, M., ÖKTEM, H.A. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. **Plant Science**, v. 164, p. 925–933, 2003.

KOBAYASHI M, MUTOH T, MATOH T. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. IV. Genes induced under low boron supply. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1441–1443, 2004.

KOSHIBA, T., KOBAYASHI, M., & MATOH, T. Boron deficiency: how does the defect in cell wall damage the cells? **Plant signaling & behavior**, v. 4, p. 557-558, 2009.

LIU, G., DONG, X., LIU, L., WU, L., & JIANG, C. Boron deficiency is correlated with changes in cell wall structure that lead to growth defects in the leaves of navel orange plants. **Scientia Horticulturae**, v. 176, p. 54-62, 2014.

KARABAL, E., YÜCEL, M., ÖKTEM, H.A. Antioxidant response soft tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. **Plant Science**, v. 164, p. 925-933, 2003.

KATO Y, MIWA K, TAKANO J, WADA M, FUJIWARA T. Highly boron deficiency-tolerant plants generated by enhanced expression of NIP5;1, a boric acid channel**. Plant and Cell Physiology** v. 50, p. 58– 66, 2009.

LIU P, YANG Y-A. Effects of molybdenum and boron on membrane lipid peroxidation and endogenous protective systems of soybean leaves. **Acta Botanica**, v. 42, p. 461–6, 2000.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C. e OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas – princípios e aplicações. 2ed. Piracicaba: **POTAFOS**, 319p., 1997.

MARTÍN-REJANO, E.M.; CAMACHO-CRISTÓBAL JJ, HERRERA-RODRÍGUEZ MB, REXACH J, NAVARRO-GOCHICOA MT, GONZÁLEZ-FONTES A.Auxin and ethylene are involved in the responses of root system architecture to low boron supply in Arabidopsis seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 142, p. 170–178, 2011.

MATOH T. Boron in plant cell walls. **Plant Soil**, v. 193, p. 59–70. 1997.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26, n.3, p.639-644, 2006.

MITTLER, R, Oxidative stress, antiosidants and stress tolerance. **TRENDS in Plant Science**, London, v. 7, n.9, p. 405-410, 2002.

MIWA K, FUJIWARA T. Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1103–1108, 2010.

MOTTONEN, M.; APHALO P.J.; LEHTO, T. Role of boron in drought resistance in Norway spruce (Picea abies) seedlings, **Tree Physiology**, v. 21, p. 673–681, 2001.

NAKAGAWA, Y., KATAGIRI, T., SHINOZAKI, K., QI, Z., TATSUMI, H., FURUICHI, T., KATO, T. *Arabidopsis* plasma membrane protein crucial for Ca2+ influx and touch sensing in roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences,** v. 104, p. 3639-3644, 2007.

NOGUCHI K, ISHII T, MATSUNAGA T, KAKEGAWA K, HAYASHI H, FUJIWARA T. Biochemical properties of the cell wall in the Arabidopsis mutant bor1-1 in relation to boron nutrition. **Journal of Plant Nutrition Soil Science**, v. 166, p. 175–178. 2003.

O'NEILL MA, EBERHARD S, ALBERSHEIM P, DARVILL AG. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II forArabidopsis growth. **Science**, v. 294, p. 846–849, 2001.

O'NEILL, M.A.; ISHII, T.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.G. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. **Annual Review of Plant Biology**, v**.** 55, p. 109–139, 2004,

OIWA, Y., KITAYAMA, K., KOBAYASHI, M.; MATOH, T. Boron deprivation immediately causes cell death in growing roots of Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. **Soil Science and plant nutrition,** v. 59, p. 621-627, 2014.

PARK JI, ISHIMIZU T, SUWABE K, SUDO K, MASUKO H, HAKOZAKI H, NOU IS, SUZUKI G, WATANABE M. UDP-glucose pyrophosphorylase is rate limiting in vegetative and reproductive phases in Arabidopsis thaliana. **Plant Cell Physiology,** v. 51, p. 981–996, 2010.

PEIXOTO, H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A.M.; Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

PINO L.E., LOMBARDI-CRESTANA S., AZEVEDO M.S., SCOTTON D.C., BORGO L., QUECINI V, FIGUEIRA A, PERES. LEP: The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato Micro-Tom model system. **Plant Methods**, v. 6, n.23, 2010.

RYDEN, P.; SUGIMOTO-SHIRASU, K.; SMITH, A. C.; FINDLAY, K.; REITER, W. D.; MCCANN, M. C. Tensile properties of Arabidopsis cell walls depend on both a xyloglucan cross-linked microfibrillar network and rhamnogalacturonan II-borate complexes. **Plant Physiology,** v. 132, p. 1033–1040, 2003.

SCHON, M.K.; NOVACKY, A.; BLEVINS, D.G. Boron induces hyperpolarization of sunflower root cell membranes and increases membrane permeability to K'. **Plant Physiology,** v. 93, p. 566-571, 1990.

SUTINEN, M. VUORINEN, R. RIKALA, Developmental disorders in buds and needles of mature Norway spruce, Picea abies (L.) Karst., in relation to needle boron concentrations, **Trees Structure and Funcion,** v. 20, p. 559–570, 2006.

STANGOULIS JC, REID RJ, BROWN PH, GRAHAM RD. Kinetic analysis of boron transport in Chara. **Planta**, v. 213, p. 142– 146, 2001.

TANAKA M.; TAKANO J, CHIBA Y, LOMBARDO F, OGASAWARA Y, ONOUCHI H, NAITO S, FUJIWARA T. Boron dependent degradation of NIP5;1 mRNA for acclimation to excess boron conditions in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 23, p. 3547–3559, 2011.

TAKANO J.; WADA M, LUDEWIG U, SCHAAF G, VON WIRE´N N, FUJIWARA T. The Arabidopsis major intrinsic protein NIP5;1 is essential for eficient boron uptake and plant development under boron limitation. **The Plant Cell**, v. 18, p. 1498–1509, 2006.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHEN, H.; VOLKWEISS, S. **Análise de solo, planta e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solo. Faculdade de Agronomia. Universidade do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (Lemna minor), **Plant Science**, v. 153, p. 65–72, 2000.

WILL, S. et al. Absorption and mobility of foliar-applied boron in soybean as affected by plant boron status and application as a polyol complex, **Plant Soil, v.** 344, p. 283–293. 2011.

WIMMER, M.A ; LOCHNIT, G.; E. BASSIL, K.H. MUHLING, H.E. GOLDBACH, Membrane associated, boron-interacting proteins isolated by boronate affinity chromatography, **Plant Cell Physioly**. v. 50, p. 1292–1304, 2009.

WINTER; S. C. HUBER. Regulation of Sucrose Metabolism in Higher Plants: Localization and regulation of Activity of Key Enzymes, **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 19, p. 31-67, 2000.

WOODS WG. An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. **Environmental Health Perspectives**, v.102, p. 5-11, 1994.

WU, X., RIAZ, M., YAN, L., DU, C., LIU, Y., & JIANG, C. Boron deficiency in trifoliate orange induces changes in pectin composition and architecture of components in root cell walls. **Frontiers in Plant Science**, 8, 2017.

YAU, S.K., NACHIT, M.M., HAMBLIN, J., RYAN, J. Phenotypic variation in boron-toxicity tolerance at seedling stage in durum wheat (Triticum durum). **Euphutica**, v. 83, p. 185–191, 1995.

ZIMMERMANN, M. H.; ZIEGLER, H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. In: ZIMMERMANN, M. H.; MILBURN, J.A., eds. Encyclopedia of plant physiology. Volume 1. **Transport in plants**. I. Phloem transport. New York: Springer-Verlag, p.480-503, 1975.

CAPÍTULO II

BORO NA FLUOROMETRIA E CONTEÚDO DE AÇÚCAR FOLIAR EM PLANTAS DE *Solanum lycopersicum* cv. MICRO TOM

RESUMO

O B é absorvido pelas raízes na forma de ácido bórico, sendo transportado em seguida via xilema pela taxa transpiratória e pode formar complexos B-poliol que podem se movimentar no interior vegetal. A deficiência de B pode ocasionar limitações no crescimento e desenvolvimento do vegetal. Em vista disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o papel do boro na fenologia e metabolismo de açúcares em plantas de *Solanum lycopericum* cv. Micro-Tom. O experimento foi realizado em câmara de crescimento em vasos com perlite em delineamento de blocos ao acaso com três repetições. As concentrações de B utilizadas foram: 0; 15,6; 31,12; 62,25; 124,5; 249 e 498 µg L^{-1} na forma de ácido bórico, sendo o último considerado o tratamento controle. Avaliou-se a produção de biomassa e fenologia; teor de sacarose, açúcares redutores e amido em folhas e fluorometria em uma única coleta, aos 35 DAT. Não houve diferença entre as concentrações de B para fluorometria, entretanto a produção de massa (raiz, caule, folha e flor) foi maior no tratamento controle. Para os teores de açúcares, amido e açúcares redutores as plantas no tratamento com deficiência e na menor concentração de B apresentaram os maiores valores em relação ao controle.

Palavras-chave: amido; flor; solução nutritiva; clorofila.

ABSTRACT

B is absorbed by the roots in the form of boric acid, then transported via xylem by the transpiratory rate, and can form B-polyol complexes that can move in the plant interior. B deficiency may cause limitations in plant growth and development. The objective of this research was to evaluate the role of boron mineral in the phenology and metabolism of sugars in plants of *Solanum lycopericum* cv. Micro-Tom. The experiment was carried out in a potted growth chamber with perlite, with a randomized block design with three replicates. The concentrations used in all the experiments were: 0; 15.6; 31.12; 62.25; 124.5; 249 and 498 µg L-1 of boron in the form of boric acid, the latter being considered the control treatment. Biomass production and phenology were evaluated; sucrose content, reducing sugars and starch in leaves

and fluorometry in a single collection at 35 DAT. It was observed that there was no difference between the concentrations for fluorometry, however for the mass production (root, stem, leaf and flower), it was higher for the control treatment. For sugar, starch and reducing sugar contents, the treatment with deficit and the lowest concentration had higher values in relation to the control.

Keywords: starch; flower; nutritive solution; chlorophyll.

INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos verificando os efeitos de B nas plantas datam de 1876 (BERGMAN, 1984; POWER; WOODS, 1997), porém as primeiras publicações sobre esse elemento foram feitas por Warington (1923). Logo, há muito já se estabeleceu que o B é um elemento essencial ao desenvolvimento das plantas superiores, apesar de sua função primária não ter sido totalmente esclarecida (MATOH, 1997).

O movimento do B nas plantas ocorre pelo xilema, sendo absorvido pelas plantas como ácido bórico e, predominantemente, transportado via fluxo de transpiração, envolvendo processos passivos (GUPTA, 1979; HU et al., 1997) e ativos que regulam o movimento do boro pelas membranas (SHELP, 1993). Uma das principais funções do elemento B em plantas se constitui na sua capacidade para formar ésteres de borato com resíduos de ramnogalaturonano II (RG-II) (KOBAYASHI et al., 1996).

A formação deste complexo é essencial para a estrutura da parede celular (O'NEILL et al., 2004), uma vez que, contribui significativamente para o controle da resistência e porosidade da parede celular (FLEISCHER et al., 1999). Por exemplo, paredes de células normalmente inchadas e com formação menor de dímeros RG-II estão correlacionadas à deficiência de B (ISHII et al., 2001). Além disso, a essencialidade do complexo RGII-borato para o crescimento normal de plantas tem sido mostrada através de sua baixa concentração em plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana*, *mur1-1* e *mur1-2* (O'NEILL et al., 2001). Noguchi et al. (2003) também relataram menor grau de reticulação nas paredes celulares de *Arabidopsis* mutante *bor1-1,* em comparação com as plantas do tipo selvagem sob baixa disponibilidade de B.

Kobayashi et al. (2004) propuseram que, após o estresse oxidativo ocasionado pela deficiência de B, ocorra rápida sinalização a partir da parede celular para o citoplasma, induzindo a expressão de genes específicos. González-Fontes et al. (2008) também tem sugerido papel importante do B como sinalizador, capaz de interagir com os fatores de

transcrição, o que poderia explicar por que a expressão de vários genes envolvidos em processos fisiológicos diferentes são rapidamente afetados, quando as plantas vasculares estão sujeitas à deficiência de B (BOLAÑOS et al., 2002).

Como os demais micronutrientes, o B é indispensável para as plantas, pois teqm efeito direto na formação de novos tecidos e na produtividade, sendo importante o conhecimento da redistribuição que ocorre dentro da planta e a variação entre as espécies. Plantas que possuem produção de açúcares específicos, como o sorbitol, manitol e dulcitol (ZIMMERMANN; ZIEGLER 1975), estão diretamente ligadas à redistribuição de B.

Esses polióis formam complexos poliol-B-poliol nos tecidos fotossintéticos que são transportados pelo floema até os drenos ativos, como meristemas vegetativos e reprodutivos (BROWN; HU, 1996; HU et al., 1997). As espécies vegetais podem ser classificadas em duas categorias quanto à redistribuição do B: espécies com redistribuição restrita e espécies com alta mobilidade de B (BROWN; SHELP, 1997). O conhecimento sobre a fisiologia da absorção, mobilidade e redistribuição deste nutriente durante o ciclo da planta, possibilita elucidar ainda mais a essencialidade desse mineral.

Portanto, este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito de diferentes concentrações de boro no crescimento, conteúdo de açúcar foliar e fluorescência da clorofila ‘a’ em plantas de tomate cv. Micro-Tom.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado durante os meses de julho a setembro de 2018 no Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências, pertencente à Universidade de Lisboa, Lisboa/Portugal.

A planta usada para o estudo foi *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom selvagem. Essa planta possui tamanho e ciclo curto, apresentando todas as características da espécie, sendo utilizada para vários estudos genéticos do desenvolvimento das eudicotiledôneas (PINO et al., 2010; CARVALHO et al., 2011). O tamanho reduzido não afeta as características produtivas, pois o Micro-Tom apresenta todas as fases do tomateiro, produzindo sementes viáveis num ciclo de 70-90 dias.

As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento (Phytotron EDPA 700, Aralab, Rio de Mouro, Portugal) com fotoperíodo de 16 h, irradiância de 400 μmol m^{-2} s^{-1} (lâmpada fluorescente branca fria), temperatura dia / noite de 24/27ºC e umidade relativa de 50/60% (Figura 4). Para melhor desenvolvimento das mesmas, foi realizado um ajuste de altura em relação à luminosidade.

Figura 4 - Plantas de tomate Micro-Tom em vasos com perlite na câmara climática. Lisboa, UNESP, 2019.

O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, com sete tratamentos e seis repetições, constituídos por uma planta por parcela. Inicialmente, as sementes foram semeadas aleatoriamente em bandejas contendo perlite. Até o início da germinação e o momento do transplante, as bandejas foram irrigadas com água deionizada. Aos 28 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas para vasos de cinco litros contendo perlite e irrigada durante sete dias com solução nutritiva sem adição de boro para aclimatação.

O boro foi adicionado à solução nutritiva em diferentes concentrações, sendo utilizado como concentração padrão a solução tipo 2 proposta por Hoagland e Arnon (1950),

onde a concentração sugerida pelos autores foi usada como controle e, desta, foi feita a diluição de acordo com as porcentagens estabelecidas na Tabela 1.

Tabela 1 – Tratamentos com B via solução nutritiva em *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	Concentrações aplicadas
1 - 0%	0 μg L^{-1}
2 - 3%	15,6 μg L^{-1}
3 - 6,25%	31,12 μg L^{-1}
4 - 12,5%	62,25 μg L^{-1}
5 - 25%	124,5 μg L^{-1}
6 - 50%	249,0 μg L^{-1}
7 - 100%	498,0 μg L^{-1}

O efeito dos tratamentos foi avaliado aos 40 dias após os tratamentos (DAT) através das seguintes características: produção de biomassa e fenologia; teor de sacarose, açúcares redutores e amido em folhas e fluorometria.

Avaliações bioquímicas

Para os teores de sacarose e açúcares, 100mg de folhas foram pesados em tubos de eppendorf de 2mL para a extração. Adicionou-se 1 mL de etanol 80% e levou-se ao banho-maria por 5 minutos a 80ºC. Em seguida, transferiu-se o sobrenadante para outro tubo. O "pellet" inicial foi utilizado para o doseamento de amido e o sobrenadante, para os teores de sacarose e açúcares redutores.

O teor de sacarose foi determinado pela adição de 100 μL de extrato, 250 μL de resorcinol 1% em etanol a 95%, 750 μL de HCl 30% e aqueceu em banho-maria por oito minutos a 80ºC (ROE, 1934). Em seguida, agitou-se a 15000g por cinco minutos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 420 nm.

Os teores de açúcares redutores foram estabelecidos pelo método reativo D.N.S. (MILLER, 1959). Adicionou-se 100 μL de extrato e 1mL de reativo D.N.S, 1% e aqueceu-se em banho-maria por nove minutos a 90ºC. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm.

Para a extração do amido foi realizada a hidrólise ácida a quente. O "pellet" inicial foi levado à estufa de circulação forçada de ar a 70ºC por 24h para total desidratação do material. As amostras foram trituradas e adicionado 250 μL de HCl a 30%, agitadas e aquecidas a 90ºC por dez minutos. Em seguida, adicionou-se 350 μL de 10M KOH e centrifugou-se a

16000g por dez minutos. O sobrenadante foi utilizado para o doseamento da glucose (resultado da hidrólise) pelo método reativo D.N.S. (MILLER, 1959).

Fluorescência da clorofila a (Chl a)

A fluorescência da clorofila a (Chl a) foi avaliada com medidor modulado de fluorescência portátil HAndyPAM Plus (Hansatech Instruments /Inglaterra – Reino Unido). Com o uso deste aparelho foram obtidas as seguintes características fotoquímicas da fotossíntese nas folhas dos diferentes tratamentos: rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Phi PSII = \Delta F/FM'$) (GENTY et al.,1989), taxa de transporte de elétrons (ETR = $\Delta F/FM' \times DFFF \times 0.5 \times 0.84$), dissipação fotoquímica [qP = $(FM'-FS)/(FM'-F0')$] e dissipação não-fotoquímica [NPQ = $(FMFM')/FM'$] (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Para estimar o ETR foi utilizado o valor de 0.5 como fração de energia de excitação distribuída entre os fotossistemas, e 0.84 como fração de absorção de luz (BAKER, 2008). Os tecidos foram previamente aclimatados no escuro por 30 minutos antes de dar início às medições.

Parâmetros fisiológicos da análise de crescimento

O efeito dos tratamentos sobre os tratamentos foi avaliado através das observações das seguintes características: massa seca de folhas, caule, raízes e flores. Inicialmente, foi realizada a separação e pesagem dos órgãos vegetais. Também foram contados flores, folhas e folíolos. Foram considerados para contagem os folíolos totalmente expandidos e para as flores, considerou-se desde a emissão do botão floral até os tamanhos de acordo com a Figura 5.

Figura 5 - Escala de flores consideradas para a contagem. Lisboa, UNESP, 2019.

As plantas foram coletas aos 40 DAT, sendo estas separadas em folhas, caule, raiz e flores, pesadas e colocadas em sacos de papel alumínio devidamente identificadas e armazenadas em estufa com circulação forçada de ar à 70º C por 48 horas para secagem e, posterior, pesagem.

Análise dos dados

Para a análise estatística, inicialmente os resultados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk. P <0,05), análise de dois fatores de variância (*Two Way* ANOVA) para fluorometria e de um fator (*One Way* ANOVA) para os demais dados, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas no programa Sisvar (FERREIRA, 1998).

RESULTADOS

Para todos os parâmetros avaliados, tanto de crescimento quanto de fluorescência da clorofila 'a', não houve interação entre as coletas, somente entre os tratamentos. Os valores para o rendimento quântico efetivo do Fotossistema II foram constantes entre todas as concentrações aplicadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios do rendimento quântico efetivo do *PSII* (*ϕPSII*) aos 7, 14, 21 e 28 DAT em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,81 ± 0,002*	0,82 ± 0,005*	0,82 ± 0,005*	0,81 ± 0,009*
2	0,81 ± 0,003*	0,82 ± 0,006	0,82 ± 0,001	0,81 ± 0,009
3	0,81 ± 0,005*	0,81 ± 0,003	0,82 ± 0,003	0,80 ± 0,001
4	0,8 ± 0,003*	0,82 ± 0,003	0,82 ± 0,008	0,81 ± 0,002
5	0,8 ± 0,005*	0,82 ± 0,005	0,82 ± 0,002	0,81 ± 0,005
6	0,81 ± 0,001*	0,81 ± 0,003	0,82 ± 0,005	0,81 ± 0,008
7	0,81 ± 0,004*	0,82 ± 0,006	0,82 ± 0,007	0,80 ± 0,007

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O fluxo de transferência de elétrons (*ETR*, Tabela 2) não variou entre os tratamentos, apenas entre as coletas. Aos 7 DAT verificou-se que plantas sem B (T1) apresentaram 0,92 e as plantas do controle (T7) 0,96, entretanto, as plantas do T2 (15,6 μgL^{-1}) apresentaram maiores valores com 1,06. Aos 14 DAT, as plantas sem B (T1) apresentaram 1,04 enquanto que as plantas do controle foi de 1,03, porém as plantas do tratamento 3 (31,12 μgL^{-1}) apresentaram 0,99, o menor valor deste ponto avaliado. Aos 21 DAT, as plantas submetidas a ausência de B tiveram o menor valor, com 0,97, enquanto que as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 1,04. Na última coleta, aos 28 DAT, as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 1,09 e as plantas submetidas à ausência de B, 1,08.

Tabela 2 –Valores médios do fluxo de transferência de elétrons (*ETR*) aos 7, 14, 21 e 28 DAT em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,92 ± 0,05*b	1,04 ± 0,02*ab	0,97 ± 0,07*ab	1,08 ± 0,04*a
2	1,06 ± 0,07*	1,03 ± 0,06	1,03 ± 0,05	1,05 ± 0,02
3	0,92 ± 0,07*	0,99 ± 0,1	0,99 ± 0,11	1,06 ± 0,07
4	0,91 ± 0,08 b	1,06 ± 0,03 ab	0,98 ± 0,06 ab	1,07 ± 0,03 a
5	0,98 ± 0,06*	1,06 ± 0,03	0,98 ± 0,05	1,08 ± 0,03
6	0,96 ± 0,05*	1,03 ± 0,05	0,96 ± 0,11	1,07 ± 0,05
7	0,96 ± 0,05*	1,03 ± 0,02	1,04 ± 0,06	1,09 ± 0,02

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 1% de probabilidade. Lê-se letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.

Na Tabela 3 observa-se que para a dissipação não fotoquímica (*NPQ*), não houve diferença entre os tratamentos, apenas entre as coletas. Aos 7 DAT, verificou-se que plantas em ausência de boro (T1) apresentaram 1,55 e as plantas do controle (T7) 1,57, entretanto, as plantas do T2 (15,6 μgL^{-1}) apresentaram os maiores valores com 1,62. Aos 14 DAT, as plantas sem B (T1) apresentaram 1,54, enquanto, que as plantas do controle foi de 1,57, porém as plantas do tratamento 4 (62,25 μgL^{-1}) apresentaram 1,61, superando o valor das plantas do controle. Aos 21 DAT, as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 1,59 e as plantas submetidas a ausência de B tiveram 1,48. Na última coleta, aos 28 DAT, as plantas do tratamento 3 (31,12 μgL^{-1}) apresentaram maior valor, com 1,68, enquanto, que as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 1,6 e as plantas submetidas a ausência de B tiveram 1,62.

Tabela 3 – Valores médios da capacidade de dissipação não fotoquímica (*NPQ*) aos 7, 14, 21 e 28 DAT em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	1,55 ± 0,02*ab	1,54 ± 0,03*ab	1,48 ± 0,06*b	1,62 ± 0,04*a
2	1,62 ± 0,04*	1,56 ± 0,08	1,53 ± 0,06	1,64 ± 0,04
3	1,56 ± 0,05 ab	1,54 ± 0,09 b	1,58 ± 0,09 ab	1,68 ± 0,03 a
4	1,57 ± 0,04*	1,61 ± 0,06	1,5 ± 0,07	1,59 ± 0,04
5	1,58 ± 0,03*	1,6 ± 0,05	1,5 ± 0,06	1,62 ± 0,04
6	1,56 ± 0,04*	1,56 ± 0,06	1,51 ± 0,1	1,62 ± 0,01
7	1,57 ± 0,04*	1,57 ± 0,04	1,59 ± 0,07	1,6 ± 0,03

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

Para a capacidade de dissipação fotoquímica (*qP*, Tabela 4) as coletas não diferiram entre si. Aos 7 DAT verificou-se que plantas em ausência de boro (T1) apresentaram 0,35 e as plantas do controle (T7) 0,36. Aos 14 DAT, as plantas sem B (T1) apresentaram 0,35, enquanto que as plantas do controle foi de 0,34. Aos 21 DAT, as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 0,34 e as plantas submetidas a ausência de B tiveram 0,3. Na última coleta, aos 28 DAT, as plantas do tratamento 3 (31,12 μgL^{-1}) apresentaram maior valor, com 0,39, enquanto que as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram 0,37 e as plantas submetidas a ausência de B tiveram 0,36.

Tabela 4 – Médias da capacidade de dissipação fotoquímica (*qP*) aos 7, 14, 21 e 28 DAT em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro. Lê-se: (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT
1	0,35 ± 0,005*	0,35 ± 0,008*	0,3 ± 0,02*	0,36 ± 0,03*
2	0,37 ± 0,01*	0,34 ± 0,03	0,31 ± 0,01	0,36 ± 0,02
3	0,36 ± 0,01 ab	0,35 ± 0,02 ab	0,33 ± 0,02 b	0,39 ± 0,03 a
4	0,37 ± 0,008*	0,34 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,36 ± 0,01
5	0,37 ± 0,02 a	0,35 ± 0,01 ab	0,31 ± 0,01 b	0,37 ± 0,02 a
6	0,35 ± 0,01*	0,34 ± 0,09	0,31 ± 0,03	0,36 ± 0,02
7	0,36 ± 0,01*	0,34 ± 0,02	0,34 ± 0,03	0,37 ± 0,02

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula aponta diferença estatística entre tratamento e letra minúscula para coleta.

As Tabelas 5 e 6 demonstram os valores médios de massa fresca e seca, respectivamente, de raiz, caule, folha e flor aos 40 dias após a semeadura. Para massa fresca, apenas a variável da raiz apresentou diferença entre os tratamentos e as plantas submetidas ao tratamento 7 (controle) apresentaram maiores massas em relação as outras plantas avaliadas.

Tabela 5 – Valores médios de massa fresca de raiz, caule, folha e flor (g^{-1}planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 40 dias após a semeadura. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	Raiz	Haste	Folha	Flor
1	2,22 ± 0,4 D	3,2 ±0,1*	3,12 ±0,1*	0,8 ±0,1*
2	2,65 ± 0,4 CD	3,2 ±0,6	2,87 ±0,9	0,7 ±0,001
3	3,12 ± 0,4 BCD	2,9 ±0,1	2,5 ±1,3	0,7 ±0,55
4	2,9 ± 0,1 BCD	3,8 ±1,5	2,35 ±0,7	1,0 ±0,4
5	4,47 ± 0,05 AB	3,5 ±1,05	3,65 ±0,5	0,8 ±0,1
6	4,02 ± 0,03 ABC	4,5 ±0,4	3,92 ±0,5	1,0 ±0,2
7	5,2 ± 0,3 A	4,6 ±0,7	3,35 ±0,5	1,5 ±0,4

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para massa seca (Tabela 6), somente a massa de flor não diferiu entre si. Para raiz, as plantas do tratamento controle (7) apresentaram 2,02 g^{-1}planta enquanto que as plantas sem B (T1) apresentaram 0,82 g^{-1}planta. Para haste e folha, as plantas do tratamento 3 (31,12 μgL^{-1}) apresentaram os menores valores, com 0, 54 e 0,63 g^{-1}planta respectivamente. As plantas do tratamento controle (7) apresentaram 1,05 g^{-1}planta para caule e 1,21 g^{-1}planta para folha.

Tabela 6 – Valores médios de massa seca de raiz, haste, folha e flor (g-1planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 40 DAT. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	Raiz	Haste	Folha	Flor
1	0,82 ± 0,1 D	0,65 ± 0,04 AB	0,76 ± 0,04 AB	0,28 ± 0,04*
2	0,85 ± 0,1 CD	0,68 ± 0,1 AB	0,72 ± 0,1 B	0,32 ± 0,1
3	0,86 ± 0,05 CD	0,54 ± 0,1 B	0,63 ± 0,1 B	0,29 ± 0,1
4	1,05 ± 0,1 BCD	0,7 ± 0,1 AB	0,70 ± 0,1 B	0,35 ± 0,08
5	1,04 ± 0,02 AB	0,77 ± 0,1 AB	1,20 ± 0,1 A	0,39 ± 0,05
6	1,34 ± 0,04 ABC	0,81 ± 0,1 AB	1,07 ± 0,1 AB	0,42 ± 0,02
7	2,02 ± 0,04 A	1,05 ± 0,1 A	1,21 ± 0,1 A	0,46 ± 0,08

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 7 apresenta a contagem do número de folhas, folíolos e flores por planta avaliada. Para folhas observou-se que as plantas do tratamento controle (T7) apresentaram os maiores valores, enquanto que as plantas na ausência de B (T1) apresentaram os menores, com 24, 3 e 15,3 respectivamente. Para folíolos, as plantas do tratamento 4 (62,25 μgL^{-1}) apresentaram maiores médias, com 63, e as plantas sem B (T1) tiveram os menores, com 25,6. Para número de flores, as plantas do controle (T7) apresentaram valores médios de 46,6 e as plantas sem B (T1) apresentaram os menores valores, com 21,6.

Tabela 7 – Valores médios quantidade de folhas, folíolos e flores (g^{-1}planta) de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom aos 40 DAT. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	nº folhas	nº foliolos	nº flores
1	15,3	25,6	21,6
2	21,6	33,6	35
3	17,6	34,3	30,6
4	20	63	37
5	19,6	49	45
6	24	46	51
7	24,3	47,6	46,6

Para os teores médios de açúcares redutores, sacarose e amido (Tabela 8) observou-se que o tratamento com déficit de B apresentou maiores valores em relação ao controle para sacarose e açúcares redutores, com 1,214 e 1,143 mg. g^{-1}, respectivamente. Para amido, não houve diferença entre as plantas avaliadas, porém as plantas sem B (T1) apresentaram maior teor em relação as plantas do controle (T7), 0,947 e 0,806 mg. g^{-1} respectivamente.

Tabela 8 – Médias dos teores de sacarose (mg. g^{-1}) açúcares redutores (AR, mg. g^{-1}) e amido (mg.g^{-1}) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidos a diferentes concentrações de boro aos 40 DAT. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	SACAROSE	AR	AMIDO
1	1,214 a	1,143 a	0,947*
2	0,928 ab	0,909 ab	0,934
3	0,667 b	0,66 0b	0,965
4	0,859 ab	0,825 ab	0,929
5	0,873 ab	0,873 ab	0,893
6	0,665 b	0,677 b	0,678
7	0,744 ab	0,744 ab	0,806
CV (%)	48,2	49	35,4

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 1% de probabilidade.

DISCUSSÃO

As plantas precisam de suprimento constante de B para manter o crescimento e desenvolvimento, sendo a morte das células meristemáticas um dos sinais mais evidentes de deficiência de B, devido à sua importância para constituição da parece celular. Situações de déficit ou toxicidade desse mineral podem acarretar em alterações morfológicas e bioquímicas, afetando diversos processos metabólicos (O'NEIL et al., 2004; WIMMER et al., 2009). Hajiboland e Farhanghi (2010) observaram que em condições de deficiência de B houve redução dos conteúdos de clorofilas e carotenoides e alteração da taxa de fluorescência em plantas de *Brassica rapa* L. Dhillon et al. (2018) também observaram o mesmo comportamento em plantas de *Helianthus annuus* L.

O efeito do B nos processos fotossintéticos ocorre de maneira indireta, através da peroxidação das membranas plasmáticas devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO) (TEWARI et al., 2010). Isso justifica-se pela participação estrutural desse mineral nas paredes celulares, porém em situações de deficiência ocorre desestruturação das mesmas, interferindo no fluxo de entrada e saída de solutos e aumentando a produção de radicais livres (PUZYNSKA et al., 2018). Outro efeito negativo decorrente da deficiência desse mineral é o acúmulo de açúcares e amidos no citosol e cloroplastos, respectivamente (BABB; HAIGLER, 2001; PARK et al., 2010; WINTER; HUBER, 2010; CHEN et al., 2012).O boro é essencial para a redistribuição desses produtos, pois o complexo borato influencia na translocação de açúcares ao longo da planta, através da afinidade do borato com compostos OH^- (BROWN; SHELP, 1997; HAJIBOLAND; FARHANGHI, 2010). Nas condições em que esse trabalho foi realizado, a ausência de boro na solução nutritiva não interferiu nos parâmetros da fluorescência da clorofila 'a' das plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom (Tabelas 1-4). O rendimento quântico efetivo do PSII ($\phi PSII$) foi constante em todos os pontos avaliados e para todas as concentrações utilizadas, sugerindo que as plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom conseguem suportar o estresse causado pela deficiência de B. Os valores do fluxo de transferência de elétrons (*ETR*), da dissipação fotoquímica (*qP*) como também da capacidade de dissipação não fotoquímica (*NPQ*) corroboram com esta hipótese.

Todavia, o mesmo não foi observado para a produção de massa fresca e seca (Tabelas 5 e 6). Para massa fresca, as plantas submetidas ao tratamento com deficiência de B (T1) apresentaram maior massa de folhas em relação ao controle, porém para os demais órgãos, foi o menor valor. Para massa seca, as plantas sem B (T1) apresentaram a menor produção de massa em todos os órgãos avaliados. A inibição do crescimento radicular é um dos principais fatores que afetam o crescimento ótimo da planta (WU et al., 2017), acarretando menor

produção de massa dos órgãos, o que foi observado neste trabalho. Segundo Riaz et al. (2018), a ausência de B reduz o alongamento da raiz primária e lateral com sintomas visíveis de clorose foliar em mudas de laranjeira.

Durante o crescimento vegetativo, a produção e repartição de açúcares ocorre de acordo com a fase fenológica da planta, além de fatores ambientais e intrínsecos da mesma. O boro atua no transporte de açúcares através da formação de complexos estáveis no floema, contribuindo para o desenvolvimento de órgãos drenos, como folhas jovens, emissão de flores e frutos (HEGAZI et al., 2018), corroborando com os resultados encontrados neste trabalho, em que a quantidade de folhas, folíolos e flores foram maiores para as plantas do tratamento controle (T7, Tabela 7).

Diversas alterações fisiológicas e morfológicas provenientes da deficiência de B podem ser respostas diretas ou indiretas à formação de complexos B-polióis, semelhantes à pectina da parede celular, membrana e o-difenóis. Os principais polióis com configuração similar aos complexos estáveis são os ácidos caféico e hidroxiferúlico e açúcares (ribose, apiose) e açúcares redutores (CAKMAK; KURZ; MARSCHNER, 1995; HEGAZI et al., 2018).

Em geral, nas condições em que foram realizadas este trabalho, a ausência de B reduziu a produção de massa seca para todos os órgãos, como também a emissão de folhas e flores, porém apresentou maior teor de açúcar foliar em relação ao controle. Liu et al. (2015) também encontraram maiores valores de açúcar foliar em condições de deficiência de B em mudas de laranja. Isso acontece porque a deficiência de B reduz a quantidade de complexos estáveis formados entre B-polióis que são transportados pelo floema para os órgãos drenos (FLEISCHER et al., 1999; RYDEN et al., 2003; O'NEILL et al., 2004). Dessa forma, ocorre aumento do teor desses açúcares redutores no citosol, alterando o potencial químico do mesmo (SCHON et al., 1990; FERROL; DONAIRE, 1992; CAKMAK et al., 1995; HAN et al., 2008). Esse desbalanço por sua vez, irá interferir no fluxo de bombardeio de trioses para o citosol, acarretando no acúmulo de trioses no interior do cloroplasto, induzindo a formação de moléculas de amido em seu interior (CAMACHO-CRISTÓBAL et al., 2004; HAN et al., 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O boro (B) está relacionado a uma série de processos metabólicos e bioquímicos importantes para o vegetal, e, este trabalho demonstrou que a deficiência de boro afetou o crescimento e desenvolvimento de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom nos dois capítulos discutidos.

Apesar disso, as plantas avaliadas em condições de estresse desenvolveram-se até a floração (Caítulo II) e frutificação (Capítulo I), inferindo que: (i) a variedade cv. Micro-Tom pode apresentar maior teor do mineral na semente capaz de se manter até o final do ciclo; ou (ii) pode apresentar maior tolerância à deficiência de B. Sugere-se experimentos futuros para melhor compreensão da resposta de plantas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom à deficiência de boro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BERGMANN, W. The significance of the micronutrient boron in agriculture. **In**: Symposium held by the borax group in the international trade centre of the g.d.r.; Berlin. Borax Holdings, p. 1-26, 1984.

BERNÁT G, SCHREIBER U, SENDTKO E, STADNICHUK IN, REXROTH S, RO¨GNER M, KOENIG F. Unique properties vs. common themes: the atypical cyanobacterium Gloeobacter violaceus PCC 7421 is capable of state transitions and blue-light-induced fluorescence quenching. **Plant Cell Physiology**, v. 53, p. 528–542, 2012.

BOLAÑOS L, REDONDO-NIETO M, BONILLA I, WALL LG. Boron requirement in the *Discaria trinervis* (Rhamnaceae) and *Frankia*symbiotic relationship. Its essentiality for *Frankia* BCU110501 growth and nitrogen fixation. **Physiologia Plantarum**, v. 115, p. 563–570. 2002.

BROWN, P.H., HU, H. Phloem mobility of boron is species dependent. Evidence for phloem mobility in sorbitol rich species. **Annals of Botany,** v. 77, p. 497–505. 1996.

BROWN, P.H.; SHELP, B.J. Boron mobility in plants. **Plant Soil**, v. 193, p. 85–101, 1997.

CAKMAK, I., KURZ, H.; MARSCHNER, H. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. **Physiology Plantarum**, v. 95, p. 11–18. 1995.

CARVALHO, R. F; CAMPOS, M. L.; PINO, L. E.; CRESTANA, S. L.; ZSÖGÖN, A.; LIMA, J. E.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. P. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, v. 7, n. 18, 2011.

DHILLON, B. S.; SHARMA, P. K.; DHINGRA, M. Boron and TIBA induced physiological and anatomical changes in relation to dry matter partitioning in spring sunflower (Helianthus annuus L.) under delayed sowing. **Indian Journal of Plant Physioloy,** v. 23, p. 352-359, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: **UFLA**, 1998. 19 p.

FLEISCHER, A., O'NEILL MA, EHWALD R. The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. **Plant Physiology**, v. 121, p. 829–838, 1999.

GENTY, B., BRIANTAIS, J.M., BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimistry and Biophysicis Acta**, v. 990, p. 87–92, 1989.

GONZÁLEZ-FONTES, A., REXACH J, NAVARRO-GOCHICOA MT, HERRERA-RODRÍGUEZ MB, BEATO VM, MALDONADO JM. Is boron involved solely in structural roles in vascular plants **Plant Signal. Behav**. v. 3, p.24–26, 2008.

GUPTA, U.C. Boron nutrition of crops. **Advances in Agronom**y, San Diego, v.31, p.273-307, 1979.

HAJIBOLAND R, FARHANGHI F. Remobilization of boron, photosynthesis, phenolic metabolism and anti-oxidant defense capacity in boron-deficient turnip (*Brassica rapa* L.) plants. **Soil Science Plant Nutriton**, v. 56, p. 427–437, 2010.

HANELT, D. Photosynthesis assessed by chlorophyll fluorescence. **Bioassays**, p. 169–198, 2018.

HEGAZI, R. A. EL-MOTAIUM, T. A. YEHIA & M. E. HASHIM Effect of foliar boron application on boron, chlorophyll, phenol, sugars and hormones concentration of olive (*Olea europaea* L.) buds, leaves, and fruits, **Journal of Plant Nutrition**, v. 41, p. 749-765, 2018 .

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.

HU, H.; PENN, S.G.; LEBRILLA, C.B., BROWN, P.H. Isolation and characterisation of soluble B-complexes in higher plants. The mechanism of phloem mobility of boron. **Plant Physiology**, v. 113, p. 649–655, 1997.

ISHII, .T, MATSUNAGA, T., HAYASHI, N. Formation of rhamnogalacturonan II-borate dimer in pectin determines cell wall thickness of pumpkin tissue. **Plant Physiology**, v. 126, p. 1698–1705. 2001.

KATARZYNA PUŻYŃSKA, K.; KULIG, B.; HALECKI, W.; LEPIARCZYK, A.; PUŻYŃSKI, A. Response of oilseed rape leaves to sulfur and boron foliar application. **Acta Physiologiae Plantarum,** v. 40, 169, 2018.

KOBAYASHI M, MATOH T, AZUMA J. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. **Plant Physiology**, v. 110, p. 1017–1020, 1996.

KOBAYASHI M, MUTOH T, MATOH T . Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. IV. Genes induced under low boron supply. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1441–1443, 2004.

MATOH T. Boron in plant cell walls. **Plant Soil**, v. 193, p. 59–70. 1997.

NOGUCHI, K., ISHII, T., MATSUNAGA, T., KAKEGAWA, K., HAYASHI . H., FUJIWARA, T. Biochemical properties of the cell wall in the *Arabidopsis* mutant bor1-1 in relation to boron nutrition. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 166, p. 175–178, 2003.

O'NEILL MA, EBERHARD S, ALBERSHEIM P, DARVILL AG. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for*Arabidopsis* growth. **Science**, v. 294, p. 846–849. 2001.

O'NEILL MA, ISHII T, ALBERSHEIM P, DARVILL AG. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 109–139. 2004.

PINO, L.E; LOMBARDI-CRESTANA, S.; AZEVEDO, M.S.; SCOTTON, D.C.; BORGO, L.; QUECINI, V.; FIGUEIRA, A.; PERES L. E. P. The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato Micro-Tom model system. **Plant Methods**, v. 6, n.23, 2010.

POWER, P.P.; WOODS, W.G. The chemistry of boron and its speciation in plants. **Plant Soil**, v. 193, p. 1–13. 1997.

PUŻYŃSKA, K.; KULIG, B.; HALECKI, W.; LEPIARCZYK, A.; PUŻYŃSKI, S. Response of oilseed rape leaves to sulfur and boron foliar application. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, 169, 2018.

RAMOS, A.R.P.; AMARO, A.C.E.; MACEDO, A.C.; SOUZA, E.R.; RODRIGUES, J.D.; ONO, E.O. **Semina**: Ciências Agrárias, Londrina, v. 36, n. 2, p. 705-718, 2015.

SHELP, BJ. Physiology and biochemistry of boron in plants. In: GuptaUC, ed**. Boron and its Role in Crop Production**. Flórida: CRC Press, p. 53–85, 1993.

TEWARI, R.K.; KUMAR, P.; SHARMA, P.N. Morphology and oxidative physiology of boron-deficient mulberry plants, **Tree Physiology**, v. 30, p. 68–77, 2010.

WARINGTON K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. **Annuals of Botany**, v. 37, p. 629–672, 1923.

WU, X., RIAZ, M., YAN, L., DU, C., LIU, Y., & JIANG, C. Boron deficiency in trifoliate orange induces changes in pectin composition and architecture of components in root cell walls. **Frontiers in Plant Science,** 8, 2017.

ZIMMERMANN, M. H.; ZIEGLER, H. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. In: ZIMMERMANN, M. H.; MILBURN, J.A., eds. **Encyclopedia of plant physiology**. Volume 1. Transport in plants. I. Phloem transport. New York: Springer-Verlag, p.480-503, 1975.

ANEXO

Médias do teor de peroxidação lipídica (MDA, nmol g^{-1} de matéria fresca) ao 7, 14, 21, 28 e 35 DAT em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidas à diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT	35 DAT
1	10,86 (±0,38)c*	13,15 (±0,65)Aab	13,79 (±0,95)Aa	13,20 (±0,67)Aab	12,07 (±0,89)ABc
2	9,30 (±0,80)c	9,77 (±0,68)Bbc	9,73 (±0,88)Bbc	12,13 (±0,58)ABa	11,22 (±0,48)ABab
3	9,92 (±0,66)ab	11,40 (±1,08)ABa	8,28 (±0,51)Bc	8,77 (±0,60)Cbc	9,20 (±0,75)BCbc
4	10,42 (±0,76)a	10,10 (±0,64)ABa	8,84 (±0,61)Bb	8,19 (±0,27)Cb	7,40 (±0,58)CDb
5	9,53 (±1,05)a	10,08 (±0,67)Ba	8,96 (±0,23)Ba	9,22 (±0,72)Ca	6,85 (±0,61)CDb
6	9,63 (±0,61)ab	10,39 (±0,58)Bab	8,74 (±0,71)Bbc	10,11 (±0,55)BCab	8,00 (±0,70)CDc
7	11,05 (±0,66)a	9,43 (±0,53)Bb	7,14 (±0,83)Bcd	8,48 (±0,80)Cbc	6,46 (±0,45)Dd

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna e (**) na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.

Médias dos valores de proteínas totais solúveis (PROT, mg.g) aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidas a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	**7 DAT**	**14 DAT**	**21 DAT**	**28 DAT**	**35 DAT**
1	0,00057 (±2,8E-05)Ba	0,00044 (±0,7,9E-05)Cab	0,0005 (±0,0001)Cab	0,0006 (±7,4E-05)Da	0,00037 (±0,0003)Cb
2	0,00054 (±0,0001)Bd	0,00084 (±0,0005)Bbc	0,0011 (±0,0003)Aba	0,00098 (±0,0005)ABCab	0,00067 (±0,0004)Bcd
3	0,00079 (±9,5E-05)Ac	0,00091 (±0,0004)Abc	0,0011 (±0,0003)ABa	0,0010 (±0,0002)Abab	0,00087 (±0,0003)Abc
4	0,00068 (±0,0001)Ac	0,0011 (±0,0003)Aab	0,0012 (±0,0002)Aa	0,0011 (±8,E-05)Aab	0,00095 (±0,0004)Ab
5	0,00079 (±0,0002)Ab	0,00093 (±0,0004)Abab	0,00093 (±0,0002)Bab	0,0011 (±0, 0001)Aa	0,00099 (±0,0001)Aab
6	0,00086 (±0,0003)A*	0,00087 (±0,0006)B	0,0098 (±0,0004)AB	0,00085 (±0,0002)BC	0,00083 (±8,8E-05)AB
7	0,00051 (±7,5E-05)Bc	0,00055 (±0,0002)Cc	0,00067 (±0,0003)Cab	0,00078 (±0,0002)Cda	0,00104 (±2,8E-05)Aa

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna e (**) na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.

Médias da atividade de enzima superóxido dismutase (SOD, U g^{-1} proteína), aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidas a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	**7 DAT**	**14 DAT**	**21 DAT**	**28 DAT**	**35 DAT**
1	591,7 (±5,92)F*	1049,7 (±6,2)G	965,2 (±3,6)	660,9 (±7,03)G	753,9 (±2,43)G
2	568,9 (±2,76)Gb	1527,8 (±5,61)Fa	1261,5 (±3,72)ab	981,1 (±1,99)Fab	1124,9 (±3,37)Dab
3	998,4 (±5,81)Eb	2076,4 (±5,41)Ca	1128,7 (±1,69)b	1030,9 (±3,94)Eb	1089,5 (±0,92)Eb
4	988,9 (±3,1)Db	2159,7 (±1,73)Ba	1150,7 (±1,14)b	1066,2 (±2,48)Db	1150,7 (±1,64)Cb
5	1057,9 (±2,32)Cb	2063,4 (±3,73)Da	1563,6 (±2,72)ab	1097,3 (±3,3)Cb	1253,8 (±1,29)Bab
6	1206,3(±3,0)B*	2033,6 (±3,04)E	1515,6 (±1,71)	1315 (±3,7)B	1396,7 (±2,64)A
7	1413 (±1,17)Ab	2449,5 (±1,76)Aa	1637,8 (±0,83)ab	1517,8 (±2,03)Ab	1056,5 (±1,7)Fb

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna e (**) na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.

Médias da atividade da enzima peroxidase (POD, µmol de H_2O_2 consumido $minuto^{-1}$ g^{-1} proteína) aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidas a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT	35 DAT
1	19,12 (±1,57) Aa	13,59 (±1,39)Ab	13,67 (±0,8)Ab	14,70 (±1,62)Ab	14,50 (±1,6)Ab
2	13,26 (±1,73)Ba	9,46 (±0,73)Bb	12,30 (±1,5)ABab	10,53 (±0,7)Bab	12,53 (±1,1)ABa
3	8,96 (±0,79)C*	9,98 (±1,1)B	10,61 (±0,8)ABC	9,83 (±1,5)B	11,06 (±1,7)BC
4	9,67 (±0,92)C*	11,08 (±0,4)AB	10,39 (±1,0)BC	9,73 (±1,0)B	10,40 (±1,5)BC
5	7,82 (±1,94)Cb	11,05 (±1,76)ABa	8,20 (±1,1)Cab	9,30 (±0,75)Bab	9,70 (±1,2)BCab
6	7,96 (±1,66)C*	10,42 (±1,22)B	9,56 (±1,0)BC	9,65 (±1,5)B	9,69 (±0,9)BC
7	6,67 (±1,95)Cb	9,75 (±1,7)Ba	9,92 (±0,8)BCa	10,50 (±1,0)Ba	9,25 (±0,7)Cab

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna e (**) na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.

Médias da atividade da enzima catalase (CAT, mKat. μg^{-1} de proteína) aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidas a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	7 DAT	14 DAT	21 DAT	28 DAT	35 DAT
1	3,99 (±0,4)*a	1,8 (±0,4)*c	2,92 (±0,4)*b	2,46 (±0,3)*bc	2,85 (±0,07)*b
2	3,47 (±0,3)a	2,31 (±0,4)b	1,44 (±0,2)c	1,00 (±0,1)c	0,9 (±0,3)c
3	3,28 (±0,7)a	2,59 (±0,4)a	0,58 (±0,1)c	1,11 (±0,3)bc	1,48 (±0,2)b
4	2,68 (±0,4)c	1,80 (±0,2)b	0,8 (±0,1)c	1,0 (±0,2)c	1,80 (±0,3)b
5	3,84 (±0,4)a	1,74 (±0,3)bc	1,08 (±0,2)c	1,07 (±0,3)c	1,95 (±0,3)b
6	4,40 (±0,6)a	2,16 (±0,4)c	0,7 (±0,4)c	1,12 (±0,4)c	1,86 (±0,2)b
7	3,75 (±0,3)a	2,70 (±0,5)b	1,45 (±0,5)c	1,93 (±0,5)c	1,42 (±0,04)c

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna e (**) na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.

Médias do teor foliar de boro aos 14, 21 e 28 dias após o início dos tratamentos (DAT) em folhas de *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom submetidas a diferentes concentrações de boro. (1) 0 μgL^{-1}; (2) 15,6 μgL^{-1}; (3) 31,12 μgL^{-1}; (4) 62,25 μgL^{-1}; (5) 124,4 μgL^{-1}; (6) 249 μgL^{-1}; (7) 498 μgL^{-1}. Botucatu, UNESP, 2019.

Tratamentos	**14 DAT**	**21 DAT**	**28 DAT**
1	46,89 (± 3,19)BC**	37,5 (± 2,17)E	32,27 (± 4,0)E
2	40,32 (± 1,57)Db	51,09 (± 3,50)CDab	61,02 (± 2,06)Da
3	43,68 (± 2,28)CDb	47,33 (± 0,82)Db	67,44 (± 0,6)Ca
4	46,82 (± 1,50)BCb	56,22 (± 3,15)BCab	70,36 (± 2,15)BCa
5	57,6 (± 1,94)A**	62,29 (± 1,97)AB	71,30 (± 2,57)BC
6	49,93 (± 2,17)Bb	67,42 (± 2,23)Aa	79,79 (± 3,16)Aa
7	56,65 (± 2,75)Ab	62,29 (± 1,80)ABab	75,69 (± 2,29)ABa

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna e (**) na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letra maiúscula para coluna e minúscula para linha.