

Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado¹

Biochemical changes in peanut genotypes submitted to moderate water stress

Jacqueline Wanessa de Lima Pereira², Péricles de Albuquerque Melo Filho², Manoel Bandeira Albuquerque³,
Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira⁴ e Roseane Cavalcanti Santos^{5*}

RESUMO - Cinco genótipos de amendoim de diferentes hábitos de crescimento foram submetidos a estresse hídrico moderado durante 7 dias em casa de vegetação. O plantio foi feito em vasos de 15 litros contendo solo e substrato (Plantmax®), otimizados para a cultura. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com esquema bi-fatorial 5 × 2 (5 genótipos × 2 tratamentos hídricos), com cinco repetições. As atividades enzimáticas da SOD, CAT, APX e GPX foram analisadas, além do acúmulo de carboidratos, amido e prolina. Em função do déficit hídrico submetido, verificou-se aumento nas atividades da SOD e da CAT em todos os genótipos, tanto nas folhas quanto na raiz, destacando-se as cv. 55 437 e BR 1 e a linhagem LBM Branco. O acúmulo de prolina e redução do teor de amido foram verificados em todos os genótipos, em resposta ao déficit hídrico, porém o teor de carboidratos foi elevado só nos materiais mais tolerantes. Em função das respostas obtidas, destacam-se como materiais mais tolerantes as cultivares 55 437 e BR 1, seguidas por LBM Branco. LBR Branco tem comportamento intermediário e LViPE 06 é o material mais sensível.

Palavras-chave: Amendoim. Estresse hídrico. Espécies reativas de oxigênio.

ABSTRACT - Five peanut genotypes, with different growth habits were submitted to moderate water stress in a greenhouse for seven days. Seeds were planted in 15-litre pots containing soil and a substrate (Plantmax®), both optimized for the crop. The adopted experimental design was completely randomized, using a 5 x 2 bi-factorial scheme (5 genotypes × 2 water treatments) with five replications. The enzymatic activities of SOD, CAT, APX and GPX were analyzed, as well as the carbohydrate, starch and proline. An increased activity was shown in SOD and CAT enzymes for all genotypes submitted to water stress, in both leaf and root, especially in the 55 437 and BR1 cultivars and also in LBM Branco line. Proline accumulation and reduced starch were verified in all stressed genotypes, but carbohydrate content was increased just in tolerant materials. Based on results, 55 437 and BR1 were more tolerant to water stress, followed by LBM Branco. The LBR Branco shows intermediate behavior and LViPE- 06 was more sensitive.

Key words: Peanut. Water stress. Reactive oxygen species.

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 04/08/2011; aprovado em 23/03/2012

Parte de Dissertação de Mestrado em Melhoramento Genético, na UFRPE; pesquisa financiada pela Embrapa Algodão

²Departamento de Agronomia/Laboratório de Expressão Gênica/UFRPE, Rua: Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, jacquelinewlp@gmail.com, pericles@depa.ufrpe.br

³Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais/Laboratório de Ecologia Vegetal/Centro de Ciências Agrárias/UFPB/Campus II, Areia-PB, Brasil, 58.397-000, mbalbuquerque@yahoo.com.br

⁴Departamento de Biologia/Laboratório de Fisiologia Vegetal/UFRPE, rjmansur1@gmail.com

⁵Embrapa Algodão, Caixa Postal 174, Campina Grande-PB, Brasil, 58.107-720, caval@cpa.embrapa.br

INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é um dos tipos de estresse abiótico mais crítico e comum que acometem as lavouras conduzidas em ambientes semiáridos. Seus efeitos são evidentes em qualquer estágio fenológico da planta, podendo variar de acordo com a severidade e duração do estresse (FAROOQ *et al.*, 2009).

Em resposta à falta de água, as plantas desengatilham vários eventos fisiológicos sendo mais comum o ajustamento osmótico onde elas se ajustam para manter o potencial hídrico e a turgescência das células próximos ao nível adequado. Tais processos são conseguidos por meio do acúmulo de solutos orgânicos de baixo peso molecular no citosol, destacando-se açúcares solúveis, prolina e aminoácidos livres (NEPOMUCENO *et al.*, 2001).

Independentemente do tipo de metabolismo, a falta de água leva à redução na atividade fotossintética e aumento na respiração das plantas o que, por sua vez, leva a uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (*Reactive Oxygen Species* – ROS). Moléculas de ROS, como o oxigênio singlet (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido ($O_2^{\bullet-}$), e radicais hidroxila (HO^{\bullet}) produzidos nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomas são capazes de causar danos oxidativos aos lípidios, proteínas e ao DNA (APEL; HIRT, 2004; MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

Para minimizar os efeitos citotóxicos dos ROS, as plantas desengatilham um complexo sistema antioxidativo onde enzimas específicas atuam neutralizando a ação desses radicais, iniciando com a *superóxido dismutase* (*SOD*, EC 1.15.1.1), que desmuta o radical $O_2^{\bullet-}$ para H_2O_2 ; este, por sua vez, sofre ação de várias enzimas como: a *catalase* (*CAT*, EC 1.11.1.6), responsável pela converção do H_2O_2 a H_2O e O_2 , e as *peroxidases*, *ascorbato peroxidase* (*APX*, EC 1.11.1.11) e *guaiacol peroxidase* (*GPX*, EC 1.11.1.7) que reduzem o H_2O_2 a H_2O (APEL; HIRT, 2004).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma leguminosa conhecida por sua larga adaptação ambiental, conferida pela plasticidade genética das cultivares, especialmente as desenvolvidas para o ambiente semiárido (SANTOS; GODOY; FAVERO, 2005). Para a região Nordeste do Brasil, onde a agricultura familiar é o modelo agrícola mais expressivo, o manejo do amendoim configura-se em uma atraente alternativa, especialmente por ser uma oleaginosa e poder agregar mais um produto no emergente mercado de óleos vegetais para o segmento de biocombustíveis.

Para contribuir com o estabelecimento da lavoura na região, contudo, torna-se necessária a identificação de genótipos que possam responder estavelmente no aspecto de produção, mesmo quando submetidos a situações de baixa e irregular disponibilidade hídrica.

Vários procedimentos são adotados por pesquisadores para identificação de genótipos tolerantes ao estresse hídrico, sendo mais comum a seleção por meio de descritores agrônomicos associados a descritores fisiológicos e bioquímicos. Dentre esses últimos, os relacionados ao sistema antioxidativo e ajustamento osmótico têm contribuído substancialmente na identificação de genótipos promissores, e conseqüentemente, no progresso dos trabalhos de melhoramento da cultura para resistência à seca (AZEVEDO NETO *et al.*, 2009; SANTOS; GODOY; FAVERO, 2005).

Baseado neste aspecto apresenta-se neste trabalho um estudo sobre a atividade de alguns descritores bioquímicos em cinco genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico moderado, usando-se como base as cultivares BR 1 e 55 437, que são tolerantes ao estresse hídrico.

MATERIAL E MÉTODOS

Cinco genótipos de amendoim, com níveis diferenciados de tolerância ao estresse hídrico, foram cultivados em vasos (15 L) contendo o substrato Plantmax® complementado com 15 g de Superfosfato simples e 8 g de Cloreto de potássio, em casa de vegetação. As regas foram realizadas diariamente, mantendo-se a umidade próxima à capacidade de campo. Aos 15 dias após a emergência, os tratamentos foram diferenciados sendo considerado controle (C) as plantas mantidas com rega diária e estresse (E), as plantas submetidas a suspensão total de rega durante 7 dias.

As análises bioquímicas foram iniciadas quando as plantas sob restrição hídrica atingiram 50% do fechamento estomático (7 dias), estimado com o porômetro de equilíbrio dinâmico (LI 1600, Licor Inc.) nas faces abaxial e adaxial das folhas (DUARTE, 2008).

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com esquema bi-fatorial 5 x 2, com cinco repetições. A unidade experimental consistiu de um vaso contendo duas plantas de cada genótipo. Cada análise foi feita em folhas e raízes das plantas e em duplicada; a média de cada repetição foi utilizada para as análises estatísticas. Uma síntese dos descritores agrônomicos dos materiais estudados encontra-se na Tabela 1.

Atividade enzimática

A atividade da *SOD* foi determinada como descrita em Giannopolitis e Ries (1977). A reação (1,5 mL) consistiu de 50 mM tampão fosfato monobásico (pH = 7,8), 0,1 µM EDTA, 13 mM metionina, 75 µM de NBT, 2 µM de riboflavina e 50 µL do extrato bruto das amostras. A reação foi exposta à luz por 15 minutos. A leitura foi feita a 560 nm, sendo que uma unidade de atividade de *SOD* (U) foi definida como a quantidade

Tabela 1 - Síntese de alguns descritores agrônômicos dos genótipos de amendoim deste estudo

| Genótipo | Genealogia/Origem | Ciclo (dias) | IF (dae) | HC | SEH | Semente | | | |
|------------|-------------------|--------------|----------|----|-----|---------|-------|---------|----------|
| | | | | | | Cor | Forma | Tamanho | Nº/vagem |
| 55 437 | Cultivar/África | 80-85 | 20-22 | E | R | B | Ar | P | 2 |
| BR 1 | Cultivar/Brasil | 85-87 | 22-24 | E | MT | V | Ar | M | 3-4 |
| LViPE-06 | Top Line/Brasil | 120-125 | 35-37 | R | S | B | Al | EG | 2 |
| LBM Branco | Top Line /Brasil | 90-95 | 24-26 | E | T | Br | Ar | M | 2 |
| LBR Branco | Top Line /Brasil | 110-115 | 29-31 | R | M | Br | Al | G | 3-4 |

IF: início de floração, dae - dias após a emergência; HC - hábito de crescimento: E - ereto, R - rasteiro; SEH: *Status* quanto ao estresse hídrico: R - resistente, MT - muito tolerante, T - tolerante, M - medianamente tolerante, S- sensível; Cor: B- bege, V - vermelha, Br- branca; Forma: Ar- arredondada, Al - alongada; Tamanho: P- pequeno, M - médio, G - grande, EG - extra grande

de enzima necessária para inibir 50% da redução do NBT e a atividade foi expressa em $U\ g^{-1}\ MF\ min^{-1}$. Para análise da *CAT* seguiu-se a metodologia de Beers Júnior e Sizer (1952). A reação (1,5 mL) consistiu de 100 mM de tampão fosfato monobásico e 0,1 μM de EDTA (pH = 7,0), 20 mM de H_2O_2 e 50 μL do extrato. A atividade foi determinada pela degradação do H_2O_2 no intervalo de 1 minuto, a 240 nm. A quantificação foi feita adotando-se o coeficiente molar de extinção de $36\ M^{-1}\ cm^{-1}$ e expressa em $\mu mol\ H_2O_2\ g^{-1}\ MF\ min^{-1}$.

Para *APX* seguiu-se a metodologia de Nakano e Asada (1981). A reação (1,5 mL) consistiu de 50 mM do tampão fosfato monobásico e 0,1 μM de EDTA (pH 6,0), 0,5 mM de ascorbato, 1 mM de H_2O_2 e 75 μL do extrato. A atividade foi determinada pela oxidação do ascorbato no intervalo de 1 minuto a 290 nm. Para sua quantificação utilizou-se o coeficiente molar de extinção $2,8\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ do ascorbato e expressa como $\mu mol\ ascorbato\ g^{-1}\ MF\ min^{-1}$.

A atividade da *GPX* foi determinada como descrito por Urbanek, Kuzniak-Gebarowska e Herka (1991). A reação (1,5 mL) consistiu de 100 mM de tampão fosfato monobásico e 0,1 μM de EDTA (pH = 7,0), 5 mM de guaiacol, 15 mM de H_2O_2 e 50 μL do extrato. A leitura foi feita a 470 nm, no intervalo de 1 minuto. A atividade enzimática foi quantificada pela quantidade de tetraguaiacol formado usando o coeficiente extinção de $26,6\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ e os resultados foram expressos em $\mu mol\ H_2O_2\ min^{-1}\ mg^{-1}$ de matéria fresca.

Determinação de prolina

O teor de prolina foi determinado segundo metodologia de Bates (1973) em folhas e raízes. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 520 nm. O extrato bruto das amostras foi obtido através da maceração de 1 g de folhas completamente expandidas em 4 mL de tampão fosfato monobásico (100 mM) e EDTA (0,1 mM) (pH = 7,0). Esse extrato foi utilizado para determinação de prolina e para as análises da atividade enzimática.

Carboidratos Solúveis e Amido

Para extração de carboidratos solúveis, um grama de

folhas completamente expandidas foi triturado e transferido para um tubo de ensaio contendo 5 mL de etanol 80% e aquecido a 95 °C por 10 minutos (3 vezes). As amostras foram armazenadas em estufa (52 °C) até a evaporação de todo líquido, sendo a seguir ressuspendidas em 10 mL de água destilada. O amido foi extraído a partir do *pellet* da extração de carboidratos, seguindo metodologia descrita em McCready *et al.* (1950). As reações para as análises de amido e carboidrato seguiram metodologia do fenol-ácido sulfúrico, descrita em Dubois *et al.* (1956). As leituras foram procedidas no comprimento de onda de 490 nm e a concentração dos açúcares expressa em μmol carboidratos ou amido g^{-1} matéria fresca.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA de duas vias e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico Assistat beta 7.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma síntese das análises de variância obtidas a partir dos dados das enzimas oxidativas em folhas e raízes, encontra-se na Tabela 2. Verificou-se diferença estatística significativa para todos os tratamentos e para as interações, indicando que a atividade dessas enzimas sofre alteração em decorrência do sinal de estresse hídrico engatilhado pela planta em nível celular.

A média de atividade de cada enzima nos diferentes tratamentos é apresentada nas Tabelas 3A e B. De forma generalizada, percebe-se que após a ativação da SOD nos genótipos 55 437 e BR 1, respectivamente resistente e tolerante a seca, há um aumento expressivo da *CAT* em ambos tecidos, quando na condição de estresse hídrico. Essa tendência, conjuntamente associada aos descritores de precocidade e ao hábito de crescimento, permite ao melhorista presumir o comportamento da planta quando

a adaptação ao ambiente semiárido. Como pode ser observado na Tabela 1, ambas as cultivares são de hábito de crescimento eretos e muito precoces para iniciar a floração e finalizar o ciclo.

Akçay *et al.* (2010), que estudaram a atividade da CAT em acessos de amendoim rasteiro e ereto, encontraram que a atividade dessa enzima aumentou consideravelmente no acesso ereto quando submetido ao mais elevado nível de estresse, corroborando com os resultados deste trabalho. Para esses autores, a CAT é uma das enzimas mais eficazes na defesa de processos oxidativos, uma vez que, na planta resistente, possibilita a integridade da célula mesmo quando o estresse encontra-se em um estágio mais rigoroso. De acordo com Sankar *et al.* (2007), os níveis de expressão da CAT variam também entre os acessos eretos, sendo, contudo, sempre maior nos mais precoces, conforme pode ser visto em seu trabalho, onde um incremento médio de até 230% de atividade foi obtido no material mais precoce, quando submetido a 10 dias de supressão hídrica.

A linhagem ereta LBM também acompanha o padrão do genitor materno, denotando ter herdado o caráter de tolerância da BR 1, ao contrário da rasteira LBR Branco, também derivada do mesmo cruzamento, que apresentou um perfil intermediário entre os progenitores.

No genótipo tardio LViPE-06, as diferenças observadas entre os tratamentos hídricos para estas duas

enzimas foram pouco expressivas. Tal resposta pode estar associada à baixa tolerância deste material a ambientes de baixa disponibilidade hídrica, o que é condizente com seu ciclo que, por ser mais longo, entre 120 a 125 dias, necessita de maior requerimento de água para atender todas as demandas fenológicas que envolvem as fases de crescimento e desenvolvimento.

Em trabalhos desenvolvidos por Santos *et al.* (2010), que avaliaram a produtividade de amendoins precoces e tardios em vários municípios do Nordeste, os autores reportaram que os genótipos tardios (hábito de crescimento rasteiro), foram de menor adaptação ao cultivo de sequeiro, cujo período chuvoso é frequentemente irregular e mal distribuído. Como tem, contudo, elevado potencial para produção de grãos, são excelentes candidatos para trabalhos de melhoramento via hibridação, utilizando-se como genitores maternos, genótipos precoces e adaptados ao semiárido.

A SOD é a primeira enzima envolvida no sistema de defesa das plantas quando a célula detecta um sinal de estresse, sendo ela responsável pela formação direta de diferentes espécies reativas de oxigênio (APEL; HIRT, 2004; SANKAR *et al.*, 2007). Em resposta à atividade da SOD, o nível de H₂O₂ aumenta, engatilhando, a partir daí, a ação de enzimas secundárias de neutralização, tais como, CAT

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para os descritores bioquímicos SOD, CAT, APX e GPX analisados em folhas e raízes de genótipos de amendoim submetidos a estresse hídrico

| FV | GL | SOD | | | | CAT | | | |
|---------|----|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|------|
| | | Folha | | Raiz | | Folha | | Raiz | |
| | | QM | F | QM | F | QM | F | QM | F |
| G | 4 | 1062 | 4,9** | 3741 | 42** | 34017 | 28** | 148 | 10** |
| CH | 1 | 1221 | 5,7** | 283 | 3,2* | 17280 | 14** | 667 | 47** |
| G X CH | 4 | 454 | 2,1** | 55 | 0,6** | 3151 | 2,6* | 47 | 3* |
| T | 9 | 809 | 3,8** | 1718 | 19** | 18439 | 15** | 161 | 11** |
| Resíduo | 30 | 214 | | 89 | | 1226 | | 14 | |
| Total | 39 | | | | | | | | |
| FV | GL | APX | | | | GPX | | | |
| | | Folha | | Raiz | | Folha | | Raiz | |
| | | QM | F | QM | F | QM | F | QM | F |
| G | 4 | 6,4 | 24** | 5,8 | 25** | 0,3 | 17** | 2,4 | 37** |
| CH | 1 | 3,7 | 14** | 2,3 | 10** | 0,1 | 6,7** | 0,9 | 15** |
| G X CH | 4 | 0,1 | 0,5* | 0,3 | 1,1* | 0,1 | 1,3* | 0,1 | 1,4* |
| T | 9 | 3,3 | 12** | 2,9 | 13** | 0,1 | 8,9** | 1,2 | 19** |
| Resíduo | 30 | 0,3 | | 0,2 | | 0,1 | | 0,1 | |
| Total | 39 | | | | | | | | |

G - genótipos, CH - condição hídrica. ** e * significativo aos níveis de 1% e 5%, respectivamente (teste F)

Tabela 3 - Média de atividade das enzimas antioxidativas SOD (U.4 mL⁻¹), CAT, APX e GPX, todas em µM H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ MF, analisadas em folhas e raízes de genótipos de amendoim submetidos a estresse hídrico

| Folhas | -----SOD----- | | | -----CAT----- | | | -----APX----- | | | -----GPX----- | | |
|------------|---------------|--------|----|---------------|---------|-----|---------------|---------|----|---------------|----------|----|
| | Genótipos | C | E | % | C | E | % | C | E | % | C | E |
| 55437 | 86 bB | 94 bA | 10 | 71 cB | 111 cA | 57 | 3,0 abA | 3,4 bcA | 14 | 0,61 bcB | 0,89 cA | 48 |
| BR1 | 87 bB | 98abA | 13 | 56 cdB | 74 dA | 32 | 1,9 bcB | 2,3 cA | 20 | 0,94 aB | 1,23 abA | 31 |
| LViPE-06 | 94 aB | 96 bA | 3 | 189 aB | 211 aA | 12 | 2,1 bA | 2,4 cA | - | 0,91 baB | 0,96 bA | 6 |
| LBM | 90 abB | 104 aA | 11 | 113 bcB | 142 bA | 26 | 3,7 aB | 4,5 aA | 21 | 1,03 aB | 1,28 aA | 24 |
| LBR Branco | 86 bA | 93 bA | 6 | 166 bB | 197 abA | 19 | 3,0 abB | 3,7 bA | 24 | 0,82 bB | 1,01 bA | 23 |
| Raízes | -----SOD----- | | | -----CAT----- | | | -----APX----- | | | -----GPX----- | | |
| Genótipos | C | E | % | C | E | % | C | E | % | C | E | % |
| 55437 | 40 bB | 45 bA | 12 | 15 bB | 26 aA | 74 | 2,3 aA | 2,5 abA | 9 | 1,4 bB | 1,9 bA | 33 |
| BR1 | 29 cB | 32 cA | 10 | 17 abB | 33 aA | 96 | 0,9 bA | 1,1 cA | 22 | 1,3 bA | 1,7 bA | 30 |
| LViPE-06 | 63 aA | 69 aA | - | 25 aA | 26 abA | - | 2,6 aB | 2,7 aA | - | 2,6 aB | 2,9 aA | 11 |
| LBM | 30 cB | 35 cA | 15 | 9 bB | 17 bA | 100 | 1,1 bB | 1,3 bcA | 18 | 1,4 bA | 1,8 bA | 28 |
| LBR Branco | 38 bcB | 41 bcA | 8 | 26 abA | 26 abA | 72 | 1,8 abA | 2,3 bA | 27 | 2,3 aA | 2,6 aA | 13 |

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas entre tratamentos hídricos e minúsculas entre genótipos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

e as peroxidases, APX e GPX, que são responsáveis pela conversão do H₂O₂ a H₂O + ½ O₂ e H₂O₂ a H₂O + R(O)₂, respectivamente.

A resposta expressiva da CAT observada nos genótipos tolerantes, especialmente nas raízes, evidencia sua adoção como um descritor bioquímico nos trabalhos de seleção de materiais para tolerância ao estresse hídrico. Uma das vantagens no aspecto operacional é que a CAT exerce sua função independente da presença de agentes redutores, com atividade rápida, aproximadamente 10⁷ min⁻¹, capaz de neutralizar o H₂O₂ antes mesmo da sua difusão pela célula (AKCAY *et al.*, 2010; SCANDALIOS, 2005). A adoção desta enzima em resposta ao estresse hídrico tem sido feita por vários autores como Terzi *et al.* (2010), em feijão, Sairam e Srivastava (2000), em trigo, Fazeli, Ghorbanli e Niknam (2007), em gergilim e em Sankar *et al.* (2007) e Akcay *et al.* (2010), em amendoim.

Com relação às peroxidases, outra classe de enzimas responsáveis pela neutralização do H₂O₂, ao contrário da CAT, elas necessitam de agentes redutores para sua atividade. A APX utiliza um elétron doado pelo ascorbato para converter o H₂O₂ a H₂O e monodehidro-ascorbato (MDA) (APEL; HIRT, 2004), enquanto que a GPX atua oxidando uma molécula de guaiacol e reduzindo quatro moléculas de H₂O₂; por meio desta reação, forma-se uma molécula de tetraguaiacol com a liberação de H₂O (FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002).

No presente trabalho, a atividade da GPX nas plantas sob estresse foi mais expressiva do que a APX. Nesta última, a propósito, a atividade nas folhas e raízes da LViPE-06 foi estatisticamente semelhante, podendo a APX ser utilizada como diferenciador de genótipos sensíveis ao estresse hídrico. Para confirmar tal conclusão, torna-se necessário analisar outros genótipos sensíveis, na mesma condição deste trabalho, embora Akcay *et al.* (2010) reportem que o aumento da atividade da CAT associado ao aumento da atividade da APX confere melhor resposta antioxidativa ao amendoim. Isso pode ser observado em todos os materiais tolerantes (55 437 e BR1) e ainda nas linhagens derivadas da BR 1, LBM Branco e LBR Branco, (Tabela 3).

Com relação aos resultados de açúcares e prolina, os valores obtidos neste trabalho encontram-se na Tabela 4. As análises foram realizadas apenas nas folhas devido às diferenças serem mais expressivas neste tecido do que em raiz, tanto em espécies de amendoim cultivado quanto silvestre, segundo trabalho realizado por Azevedo Neto *et al.* (2009).

Neste trabalho, verificou-se que as concentrações de carboidratos diferiram entre as condições hídricas dos tratamentos havendo ganho apenas nos genótipos 55 437, BR 1 e LBM Branco. Na análise de amido, também verificou-se diferença entre os tratamentos, contudo, todos os genótipos apresentaram expressiva redução quando as plantas estavam em condição de estresse hídrico. Na literatura, essa tendência de comportamento também ocorre em outras culturas (MAGALHÃES FILHO

Tabela 4 - Valores médios de carboidratos, amido e prolina livre em folhas de cinco genótipos de amendoim submetidos a estresse hídrico por suspensão de rega

| Genótipo | Controle | Estresse | % de aumento (+) ou redução (-) |
|--|--|------------|---------------------------------|
| | Carboidratos solúveis ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) | | |
| 55 437 | 29,79 bA | 36,12 bB | +21 |
| BR 1 | 30,88 bA | 32,24 bB | +4 |
| LViPE-06 | 45,42 aA | 45,19 aA | - |
| LBM Branco | 32,11 bA | 34,03 bB | +6 |
| LBR Branco | 45,21 aA | 44,21 aA | - |
| Amido ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) | | | |
| 55 437 | 75,07 cA | 56,73 cB | -24 |
| BR 1 | 100,12 abA | 67,66 abcB | -32 |
| LViPE-06 | 113,85 aA | 80,73 aB | -29 |
| LBM Branco | 97,53 bA | 75,43 abB | -23 |
| LBR Branco | 99,89 abA | 64,10 bcB | -36 |
| Prolina livre ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) | | | |
| 55 437 | 0,65 bcB | 1,33 bA | +105 |
| BR 1 | 0,88 bB | 1,31 bA | +49 |
| LViPE-06 | 1,23 aB | 1,67 abA | +36 |
| LBM Branco | 1,00 abB | 1,29 bA | +29 |
| LBR Branco | 1,20 aB | 1,74 aA | +45 |

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas entre tratamentos hídricos e minúsculas entre genótipos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

et al., 2008). Segundo Kramer e Boyer (1995), várias espécies quando são submetidas à seca apresentam redução na concentração de amido para formar açúcares solúveis, ou seja, a diminuição na concentração de amido é acompanhada pelo aumento da concentração de carboidratos. Melo *et al.* (2007), contudo, reportam que uma diminuição no teor de amido não acompanhada pelo aumento no teor de açúcares solúveis pode indicar que esteja ocorrendo o consumo imediato dos açúcares para a manutenção da sobrevivência das plantas. Pelos resultados vistos neste trabalho, essa afirmação é mais compatível com o comportamento das rasteiras LViPE-06 e da LBR Branco, que são sensíveis e medianamente sensíveis ao déficit hídrico, respectivamente (PEREIRA, 2010). Para os demais genótipos, que são mais tolerantes, a elevação nos teores de carboidratos deve estar relacionada com o melhor ajustamento da regulação osmótica para manutenção dos níveis de água nas folhas visando o equilíbrio das células (MENDES *et al.*, 2007).

Com relação à concentração de prolina livre verificou-se aumento em todas as plantas sob a condição de estresse, sendo o acúmulo maior observado na cultivar resistente 55 437 (Tabela 4), na ordem de 105%. Na

cultivar BR 1 e em seus descendentes, LBM Branco e LBR Branco, os aumentos foram mais discretos, de 49; 29 e 45%, respectivamente. No genótipo mais sensível, LViPE-06, o acúmulo situou-se na faixa de 36%.

Os valores obtidos para a maioria dos genótipos não foram tão expressivos como os encontrados para a cultivar 55 437, um material conhecidamente resistente à seca (AZEVEDO NETO *et al.*, 2009; NOGUEIRA *et al.*, 1998; PEREIRA, 2010). No trabalho de Nogueira *et al.* (1998), que testou esta cultivar por um período de apenas 10 dias de estresse hídrico, o acúmulo nas folhas das plantas estressadas foi de 15 vezes maior do que nas plantas controle. Esta cultivar apresentou também maior resistência difusiva e menor potencial hídrico foliar do que a cultivar a sensível, avaliada no trabalho, a IAC Tupã. Azevedo Neto *et al.* (2009), que também avaliaram folhas e raízes da cultivar 55 437 (*Arachis hypogaea*), juntamente com outras três espécies selvagens (*A. duranensis*, *A. ipaensis* e *A. stenosperma*), submetidas a 45 dias de estresse hídrico, encontraram acúmulo de prolina nas folhas na ordem de 233%. Segundo os autores, nas raízes também houve acúmulo porém, menos expressivo do que nas folhas.

O programa de melhoramento de amendoim desenvolvido pela Embrapa para a região semiárida utiliza frequentemente a cultivar 55 437 como progenitor nos trabalhos de hibridação visando transferência do caráter de tolerância a seca para os materiais brasileiros (SANTOS; GODOY; FAVERO, 2005). A cultivar BRS 151 L7, a mais precoce desenvolvida pela Embrapa e de elevada tolerância ao ambiente semiárido, tem a cultivar africana como um de seus progenitores (GOMES *et al.*, 2007). O rendimento da 55 437, que pertence ao grupo botânico Spanish, não é elevado, variando entre 1.400 e 1.600 kg ha⁻¹ (SANTOS *et al.*, 1999). Entretanto, as linhagens dela oriundas, produzem, em média, 1.800 kg ha⁻¹, fornecendo um incremento médio de 26% na produtividade, aliado a herança de tolerância ao ambiente semiárido (SANTOS *et al.*, 2010).

Entre os demais genótipos avaliados neste estudo, destaca-se a BR 1, cultivar do grupo Valencia, de alta tolerância ao semiárido e de larga aceitação pelos agricultores regionais (SANTOS *et al.*, 2010). Os genótipos dela derivadas, LBM Branco e LBR Branco, obtidos por meio de cruzamento com a rasteira LViPE-06 demonstraram certa habilidade em tolerar a condição de estresse a que foram submetidas. Contudo, o comportamento observado na rasteira LBR Branco, foi bastante expressivo quando se considera se tratar de um material rasteiro. Percebe-se neste estudo que esta linhagem apresentou maior habilidade de se ajustar ao déficit hídrico do que seu progenitor LVi-PE-06, que é mais sensível. Tal habilidade, adquirida pela herança da BR 1, a condiciona a melhor adaptação ao manejo em condições de disponibilidade hídrica limitada, o que também lhe é possibilitado devido ao ciclo mais curto, de apenas 115 dias, em comparação com as cultivares rasteiras tradicionais (130 dias). Tal precocidade permite, comparativamente, que a LBR Branco se ajuste melhor a situação de déficit hídrico, antes que uma condição de estresse mais severa se estabeleça.

Para a região Nordeste, onde há uma demanda crescente por cultivares rasteiras, esses dados são importantes, uma vez que as atuais cultivares disponíveis no mercado foram desenvolvidas para a região Sudeste e tem baixa adaptação ao ambiente semiárido (SANTOS *et al.*, 2005). A adoção de um material do tipo da LBR Branco permite melhor competitividade para o segmento de grãos grandes, com alto teor de óleo.

CONCLUSÕES

As cultivares 55 437 e BR 1 destacaram-se como materiais mais resistentes à seca. A LBM Branco, uma linhagem gerada por cruzamento entre a BR 1 e a LViPE-

06, tem comportamento semelhante a precoce BR 1; a outra isolinha, LBR Branco, tem comportamento intermediário e a tardia LViPE-06 é o material mais sensível a condição de déficit hídrico, nas condições deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AKCAY, U. C. *et al.* Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 61, n. 01, p. 21-28, 2010.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- AZEVEDO NETO, A. D. *et al.* Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water deficit, **Journal of Plant Interactions**, v. 05, n. 01, p. 01-10, 2009.
- BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 01, p. 205-207, 1973.
- BEERS JUNIOR, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxidase by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 02, p. 133-140, 1952.
- DUARTE, E. A. A. **Identificação de genes diferencialmente expressos em amendoim submetido a estresse hídrico**. 2008. 54 f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.
- DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric methods for determination of sugars and substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 03, p. 350-356, 1956.
- FAROOQ, M. *et al.* Plant drought Stress: Effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable and Development**, v. 29, n. 01, p. 185-212, 2009.
- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, n. 03, p. 455-464, 2002.
- FAZELI, F.; GHORBANLI, M.; NIKNAM, V. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. **Biologia Plantarum**, v. 51, n. 01, p. 98-103, 2007.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 02, p. 309-314, 1977.
- GOMES, L. R. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de genótipos de amendoim de porte ereto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 07, p. 985-989, 2007.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. Academic Press, 1995. 495 p.
- MAGALHÃES FILHO, J. R. *et al.* Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranjeira "Valência" sobre dois tipos de porta enxerto. **Bragantia**, v. 67, n. 01, p. 75-82, 2008.

- MCCREADY, R. M. *et al.* Determination of starch and amylose in vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, n. 09, p. 1156-1158, 1950.
- MELO, H. C. *et al.* Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n. 02, p. 145-153, 2007.
- MENDES, R. M. S. *et al.* Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido a deficiência hídrica. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 38, n. 01, p. 95-103, 2007.
- MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant Cell Physiology**, v. 22, n. 05, p. 867-880, 1981.
- NEPOMUCENO, A. L. *et al.* Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 04, n. 23, p. 12-18, 2001.
- NOGUEIRA, R. J. M. C. *et al.* Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1963-1969, 1998.
- PEREIRA, J. W. L. **Respostas fisiológica e agrônômica de genótipos de amendoim sob condição de estresse hídrico**. 2010. 64 p. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.
- SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): Variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 186, n. 01, p. 63-70, 2001.
- SANKAR, B. *et al.* Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, n. 2, p. 229-235, 2007.
- SANTOS, R. C. *et al.* Estabilidade fenotípica de cultivares de amendoim avaliadas na região Nordeste do Brasil. **Ciência Agrotecnologia**, v. 23, n. 04, p. 808-812, 1999.
- SANTOS, R. C.; GODOY, J. I.; FÁVERO, A. P. Melhoramento do Amendoim. In: SANTOS, R. C. **O Agronegócio do Amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005, cap. 4, p. 124-192.
- SANTOS, R. C. *et al.* Produtividade de linhagens avançadas de amendoim em condições de sequeiro no Nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 06, p. 589-593, 2010.
- SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 38, n. 07, p. 995-1014, 2005.
- TERZÌ, R. *et al.* Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. **Tubitak**, v. 34, p. 01-10, 2010.
- URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 13, n. 01, p. 43-50, 1991.