



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA
MESTRADO EM AGRONOMIA

KELLEN NUNES DE ARAÚJO

**ACÚMULO E REMOBILIZAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E SISTEMA
DE DEFESA ANTIOXIDANTE NA ACLIMATAÇÃO DE PALMA DE ÓLEO A
REPETIDOS EVENTOS DE DÉFICIT HÍDRICO**

BELÉM

2024

KELLEN NUNES DE ARAÚJO

**ACÚMULO E REMOBILIZAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E SISTEMA
DE DEFESA ANTIOXIDANTE NA ACLIMATAÇÃO DE PALMA DE ÓLEO A
REPETIDOS EVENTOS DE DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Alves Pinheiro.

BELÉM

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A658a Araújo, Kellen Nunes
Acúmulo e Remobilização de Compostos Nitrogenados e Sistema de Defesa Antioxidante na Aclimação de Palma de Óleo a Repetidos Eventos de Déficit Hídrico. / Kellen Nunes Araújo. - 2024. 57 f.
- Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronomia (PPGA), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2024.
Orientador: Prof. Dr. Hugo Alves Pinheiro
1. *Elaeis guineensis*. 2. secas sucessivas. 3. espécies reativas de oxigênio. 4. senescência foliar. 5. realocação nitrogenada. I. Pinheiro, Hugo Alves, *orient.* II. Título

633.851098115

CDD

KELLEN NUNES DE ARAÚJO

**ACÚMULO E REMOBILIZAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E SISTEMA
DE DEFESA ANTIOXIDANTE NA ACLIMATAÇÃO DE PALMA DE ÓLEO A
REPETIDOS EVENTOS DE DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Aprovada em: 30 / 08 / 2024

Banca examinadora

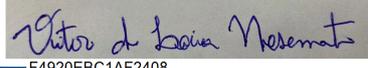
Assinado por:


7830B10DFB26499...

(Orientador)

Prof. Dr. Hugo Alves Pinheiro
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA

Assinado por:


E4920EBC1AE2408

Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento
Universidade Federal de Lavras – UFLA

Assinado por:


E4150E2771E2496

Prof. Dr. Priscilla Andrade Silva
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA

Assinado por:


476D24E59FDC47F...

Prof. Dr. Rodolfo Inácio Nunes Santos
Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Sustentabilidade – SEMAS

BELÉM

2024

AGRADECIMENTOS

Tenho uma enorme gratidão à Deus por me dar forças, sabedoria e fé para continuar e nunca desistir;

À minha família, pelo incentivo e apoio durante o meu percurso acadêmico, que apesar de estarem distantes, sempre estiveram presentes;

Ao meu Fundador Hudson, por ser instrumento de Deus no direcionamento deste mestrado e, por conseguinte, a todos os membros da Comunidade Católica Restauração, que com suas orações foram sustento nos momentos difíceis;

Às minhas amigas Stephanie, Patrícia, Beatriz e Eduarda, que foram auxílio nos estudos, análises e principalmente na amizade;

Agradeço de todo o coração a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PGAGRO), pelos ensinamentos e acompanhamentos ao longo de todo o meu percurso acadêmico;

Agradeço, em especial, ao meu orientador Prof. Hugo Alves Pinheiro pelo apoio neste projeto, ao qual sou imensamente grata por toda a paciência, disponibilidade, profissionalismo, persistência e incentivo incondicional, tornando assim tudo mais fácil ao longo de todo o período de elaboração desta dissertação;

Dedico minha gratidão ao Prof. Lucas Cavalcante, por todo seu profissionalismo e dedicação na coordenação do grande projeto que esta dissertação compõe;

Ao Prof. Vitor Nascimento, pelo acolhimento e direcionamento nas análises bioquímicas deste estudo em seu laboratório na Universidade Federal de Lavras;

Agradeço ao PG-Agro/UFRA, pelo apoio financeiro na viagem a Lavras, para análises na UFLA.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e demais apoios financeiros para a execução desse projeto;

Agradeço a todos que; direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho se tornasse possível.

RESUMO

Objetivou-se com o referido estudo avaliar o acúmulo e a remobilização de compostos nitrogenados em dois híbridos de palma de óleo submetidos a déficits hídricos repetitivos, e investigar se este processo serve de suporte ao sistema de defesa antioxidante com vistas a atenuar a ocorrência de danos celulares. Para isso, foram utilizadas mudas de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) de nove meses de idade de dois híbridos (*Deli x Ghana* e *Deli x Nigeria*) as quais foram submetidas a três regimes hídricos: plantas irrigadas (Controle) e a um e três eventos de déficit hídrico (1WD e 3WD). As avaliações fisiológicas e amostragens bioquímicas, para obter foram realizadas quando as reduções na A nas plantas estressadas correspondessem a aproximadamente 50% em relação às plantas controle. No que diz respeito ao híbrido Ghana, nas plantas 1WD ocorreram reduções em A de 27%, em V_{cmax} de 36% em C_c de 31% e elevação de NPQ em 96%, enquanto que nas plantas 3WD observaram-se reduções em A de 16%, em q_p de 9%, em V_{cmax} de 20% em C_c de 19% e elevação de NPQ em 20% em contraste às plantas Controle. Nas plantas 1WD do híbrido Ghana, foi observado que as folhas maduras apresentaram maiores concentrações de carotenóides, e nas plantas 3WD, as folhas maduras apresentaram maiores concentrações de carotenóides e nitrogênio e menores concentrações de aminoácidos em comparação às plantas Controle. Nas folhas jovens das plantas 3WD desse mesmo híbrido, ocorreram menores concentrações de nitrogênio e elevadas atividades de SOD e APX em relação às plantas Controle. No híbrido Nigéria, as plantas 1WD e 3WD foram similares nas reduções de A e ETR com 22% e 9% e na elevação da P_R em 48%, em contraste às plantas Controle. Além disso, nas plantas 1WD ocorreram reduções em F_v/F_m de 13%, em V_{cmax} de 37%, em g_m de 18%, em C_c de 27%, e elevação em NPQ de 83%, comparadas ao controle. Enquanto nas plantas 3WD observaram-se reduções em V_{cmax} de 19% em relação às plantas Controle. Nas plantas 1WD do híbrido Nigéria, foi observado que as folhas jovens apresentaram maiores concentrações de proteínas e menores concentrações de carotenóides. Nas plantas 3WD desse mesmo híbrido, foi observado que as folhas jovens apresentaram maiores concentrações de aminoácidos e menores concentrações de carotenóides em correspondência às plantas Controle. Desta forma, no híbrido Ghana ocorreu remobilização de compostos nitrogenados de folhas maduras para folhas jovens, estando portanto relacionado com o sistema antioxidante, acarretando redução da ocorrência de danos celulares. E o híbrido Nigéria é menos sensível ao déficit hídrico, apesar de apresentar danos ao aparato fotossintético. Sendo assim, estes ajustes não são conservados entre os dois híbridos.

Palavras-chave: *Elaeis guineensis*; secas sucessivas; espécies reativas de oxigênio; senescência foliar; realocação nitrogenada.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the accumulation and remobilization of nitrogenous compounds in two oil palm hybrids subjected to repeated water deficits, and to determine whether this process supports the antioxidant defense system in mitigating cellular damage. For this purpose, nine-month-old oil palm seedlings (*Elaeis guineensis* Jacq.) of two hybrids (*Deli x Ghana* and *Deli x Nigeria*) were subjected to three water regimes: irrigated plants (Control) and one and three water deficit events (1WD and 3WD). Physiological assessments and biochemical sampling were performed when reductions in photosynthetic rate (A) in stressed plants corresponded to approximately 50% compared to control plants. In the Ghana hybrid, 1WD plants showed reductions in A by 27%, in V_{cmax} by 36%, in C_c by 31%, and an increase in NPQ by 96%. 3WD plants exhibited reductions in A by 16%, in q_p by 9%, in V_{cmax} by 20%, in C_c by 19%, and an increase in NPQ by 20% compared to control plants. In 1WD Ghana hybrid plants, mature leaves showed higher concentrations of carotenoids, and in 3WD plants, mature leaves had higher concentrations of carotenoids and nitrogen and lower concentrations of amino acids compared to control plants. In the young leaves of 3WD plants of the same hybrid, lower nitrogen concentrations and higher activities of SOD and APX were observed compared to control plants. In the Nigeria hybrid, 1WD and 3WD plants were similar in reductions of A and ETR by 22% and 9%, and in the increase of PR by 48%, compared to control plants. Additionally, 1WD plants showed reductions in $F_v'F_m'$ by 13%, in V_{cmax} by 37%, in g_m by 18%, in C_c by 27%, and an increase in NPQ by 83% compared to control. Meanwhile, 3WD plants showed reductions in V_{cmax} by 19% compared to control plants. In 1WD Nigeria hybrid plants, young leaves had higher protein concentrations and lower carotenoid concentrations. In 3WD plants of the same hybrid, young leaves had higher amino acid concentrations and lower carotenoid concentrations compared to control plants. It has been deduced that in the Ghana hybrid, there was a remobilization of nitrogenous compounds from mature leaves to young leaves, which is associated with the antioxidant system, resulting in a reduction of cellular damage. In the Nigeria hybrid, it is concluded that it is less sensitive to water deficits, although it shows damage to the photosynthetic apparatus. These adjustments are therefore not conserved between the two hybrids.

Keywords: : *Elaeis guineensis*; successive droughts; reactive oxygen species; leaf senescence; nitrogen relocation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REFERENCIAL TEÓRICO	10
3	MATERIAIS E MÉTODOS	15
4	RESULTADOS	25
5	DISCUSSÃO	36
6	CONCLUSÃO.....	44
	REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

A palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) é cultivada em escala global por ser uma cultura oleaginosa de ampla importância em processos industriais, como a fabricação de alimentos, cosméticos, medicamentos e biodiesel (ABRAPALMA, 2016a). Até 2020, o Brasil destacava-se como nono produtor mundial de óleo de palma (SEDAP, 2020), sendo que aproximadamente 98% da produção brasileira de palma de óleo advém de cerca de 186 mil ha de lavouras que se concentram no estado do Pará, com destaque para os municípios de Tailândia, Tomé-Açú, Moju, Concórdia do Pará e Acará, localizados no nordeste paraense (IBGE, 2021).

A maioria dos cultivos de palma de óleo no estado do Pará não é irrigado e a reposição hídrica do solo depende da precipitação local. Embora as lavouras estejam instaladas em locais com índices de precipitação anual médios considerados adequados ao desenvolvimento da cultura, é importante ressaltar que as variações na frequência, distribuição e volumes das chuvas, principalmente entre os meses de julho a novembro (período mais seco do ano na Amazônia) podem levar as plantas a experimentarem períodos de déficit hídrico entre chuvas sucessivas. Portanto, quando as lavouras não são irrigadas, as plantas estão sujeitas a eventos de déficit hídrico e reidratação, caracterizando o que se chama de déficit hídrico repetitivo ou recorrente. Esse estresse abiótico tende a ser mais expressivo em anos de ocorrência de El Niño, quando as alterações nos padrões de precipitação resultam em secas mais prolongadas e severas (Bastos, 2001; Cai *et al.*, 2014; Raza *et al.*, 2019).

A deficiência hídrica induz reduções no crescimento vegetativo e na produção de plantas como consequência das modificações fisiológicas e bioquímicas que reduzem o grau de turgescência dos tecidos e a produção de fotoassimilados (Méndez *et al.*, 2012; Corley *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2017; Viana *et al.*, 2019; Yehouessi *et al.*, 2019; Yono *et al.*, 2019). Dentre as principais modificações fisiológicas causadas pela deficiência hídrica em palma de óleo, destacam-se as reduções nas taxas de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), diminuição da atividade carboxilase da Rubisco, degradação de pigmentos cloroplastídicos, alteração no padrão de acúmulo de carboidratos foliares, aumento na incidência de danos foto-oxidativos e indução de estresse oxidativo (Silva *et al.*, 2017; Lopes Filho *et al.*, 2021). Em geral, quanto mais prolongado o período de déficit hídrico maior será a magnitude desses danos (Suresh *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2017).

Algumas espécies vegetais sob condições de déficit hídrico repetitivo são capazes de ajustar o seu metabolismo para suportar de maneira mais satisfatória o estresse, aclimatando sua maquinaria fotossintética e mantendo taxas elevadas de A nos eventos de estresse subsequentes (Galle *et al.*, 2011; Ding *et al.*, 2012; Fleta-Soriano & Munné-Bosch, 2016; Menezes-Silva *et al.*, 2017; Nosalewicz *et al.*, 2018; Lopes Filho *et al.*, 2021). Assim, plantas que passaram por repetidos ciclos de déficit hídrico e reidratação regulam o processo respiratório para direcionar esqueletos de carbono para produção de metabólitos essenciais a fim de permitir uma melhor performance metabólica durante estresses futuros (Galle *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2015; Menezes-Silva *et al.*, 2017).

Entretanto, quanto mais intenso e prolongado for o estresse, maior será a energia de excitação luminosa em comparação com a utilizada no processo fotossintético, o que causa redução na taxa de transporte de elétrons e posterior saturação da cadeia transportadora de elétrons (Gill & Tuteja, 2010; Foyer *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2016). Isto resultará em um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que poderão induzir danos oxidativos que levam à desestruturação do fotossistema II (PSII) e a uma maior peroxidação de lipídeos de membrana, de proteínas e até mesmo de ácidos nucleicos (Gill & Tuteja, 2010; Foyer *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2016).

Em plantas sob déficit hídrico foi demonstrado que danos foto-oxidativos podem ser atenuados por mecanismos de eliminação de ROS, que incluem enzimas antioxidantes e compostos antioxidantes não enzimáticos (Asada, 2006; Noctor *et al.*, 2018). Em estudo desenvolvido com plantas que passaram por um e três eventos de déficit hídrico, foi demonstrado que as primeiras, apesar de ativarem seus mecanismos de defesa aos excessos de energia (dissipação térmica e fotorrespiração) e eliminação de ROS pelo aumento da enzima peroxidase do ascorbato (APX), apresentaram maior degradação de clorofila *a*, maior incidência de danos oxidativos ao PSII e maior ocorrência de peroxidação lipídica que nas plantas que passaram por três ciclos de estresse (Lopes Filho *et al.*, 2024). Desta forma, as plantas submetidas a três eventos de déficit hídrico apresentaram melhores ajustes nas atividades de enzimas antioxidantes que plantas submetidas a um só evento de estresse e conseguiram atenuar de uma forma mais satisfatória os danos oxidativos mediados pelo déficit hídrico (Lopes Filho *et al.*, 2024).

Interessantemente, em estudo piloto, foi observado que em plantas do híbrido *Deli x Ghana* de palma de óleo apresentaram senescência de folhas maduras e consequente perda de

área foliar total quando submetidas a três eventos de déficit hídrico intercalados por períodos de reidratação (i.e., déficit hídrico repetitivo ou recorrente), porém, esse padrão de resposta não foi observado no híbrido *Deli x Nigeria*. Sabendo-se que no processo de senescência de folhas maduras as principais fontes de nitrogênio são provenientes da degradação de proteínas cloroplastídicas; especialmente a Rubisco (Peoples & Dalling, 1988), e que os compostos nitrogenados resultantes da degradação são remobilizados para órgãos vegetativos jovens, como folhas em expansão (Mae et al., 1983; Sage et al., 1987; Gallais et al., 2006).

Então, pode-se estabelecer como hipótese experimental, que a aclimação de plantas de palma de óleo a eventos de déficit hídrico repetitivos envolve respostas na remobilização de compostos nitrogenados de folhas maduras para folhas juvenis como suporte ao sistema antioxidante. Contudo, em face da diversidade genética, é plausível que esse mecanismo de aclimação não seja conservado dentre híbridos de palma de óleo. Assim, objetiva-se avaliar o acúmulo e a remobilização de compostos nitrogenados em dois híbridos de palma de óleo submetidos a sucessivos eventos de déficit hídrico simples e repetitivo a fim de investigar se este mecanismo de remobilização de compostos nitrogenados serve de suporte ao sistema de defesa antioxidante e se essa seria uma resposta de curto prazo, ou seja, que aconteceria logo nos primeiros dias de desenvolvimento do estresse, representando uma condição de déficit hídrico moderado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A PALMA DE ÓLEO

A palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma planta tropical nativa da África Ocidental, de ciclo perene, podendo atingir até 20 metros de altura. Possui folhas compostas, com até sete metros de comprimento; apresenta um único tronco reto, cilíndrico e não ramificado; produz inflorescências do tipo racemo, que são estruturas ramificadas compostas por muitas pequenas flores, tanto masculinas quanto femininas, que quando polinizadas podem gerar frutos do tipo drupa, com polpa rica em óleo no mesocarpo e semente também oleaginosa (Penna, 2011; Corley & Tinker, 2016).

O ciclo de produção de frutos desta palmeira começa entre três a quatro anos após o plantio, com um pico de produtividade atingido entre sete a 18 anos de idade (Corley & Tinker, 2015). A espécie é uma planta C3, o que significa que a mesma pode assimilar tanto o dióxido de carbono (CO₂) quanto o oxigênio (O₂) através da Rubisco, sendo a fixação do O₂ menos

desejável por induzir a fotorrespiração. A fotossíntese total da planta é garantida pelas inúmeras folhas compostas da copa, cujos folíolos de tamanhos variados e considerável área superficial otimizam a captura de luz solar para a ativação dos fotossistemas (Corley & Tinker, 2016).

O cultivo da palma de óleo tem crescido porque a demanda por óleo de palma aumentou devido à sua versatilidade e eficiência na produção, já que a palma de óleo é a cultura oleaginosa com maior rendimento por hectare em relação às outras oleaginosas, como a soja ou o girassol (FAO, 2023). A palma de óleo também é relevante para a segurança alimentar global, pois o óleo de palma é um dos mais consumidos no mundo, pois é utilizado em uma ampla gama de produtos alimentícios, o que o torna essencial para a dieta de milhões de pessoas. Além disso, o óleo de palma é uma fonte rica de vitamina A e E, importantes para a saúde humana, sendo uma importante matéria prima para a produção de cosméticos (Silva *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2024).

Os maiores produtores mundiais de palma de óleo são a Indonésia e a Malásia, que juntas dominam o mercado global. Entretanto, é notória a expansão desta cultura no Brasil, o que pode ser evidenciado pelo aumento substancial de área plantada e produção de frutos nos últimos anos (IBGE, 2021). Em 2010, por exemplo, a área cultivada de palma de óleo era de aproximadamente 70 mil hectares, com uma produção de 310 mil toneladas de frutos. Em 2020, a área de cultivo aumentou para cerca de 236 mil hectares e a produção de frutos aumentou para um milhão de toneladas, o que representa um crescimento de mais de 200% em uma década (IBGE, 2021).

O cultivo da palma de óleo no Brasil tem se concentrado principalmente no estado do Pará, particularmente no nordeste paraense nos municípios de Tailândia, Moju e Tomé-Açu, os quais são responsáveis por cerca de 90% da produção nacional (Venturieri, 2023). O cultivo da palma de óleo nestas regiões é de grande importância e desempenha um papel crucial na economia local e nacional, gerando empregos e contribuindo para a balança comercial, visto que o óleo de palma é utilizado tanto para consumo interno quanto para exportação. Segundo a Associação Brasileira de Produtores de Óleo de Palma (ABRAPALMA), a indústria de óleo de palma no Pará emprega diretamente cerca de 20 mil pessoas, além de proporcionar inúmeras oportunidades indiretas (ABRAPALMA, 2016b).

Devido ao evidente crescimento de interesse nesta cultura, diversas pesquisas têm sido conduzidas a fim de melhorar a sustentabilidade dos métodos de cultivo, aumentando a

produtividade das lavouras e a resistência a doenças. Avanços na edição de genes e cultura de tecidos têm potencializado a clonagem de plantas superiores e a modificação de características específicas, enquanto estudos sobre sustentabilidade estão propondo métodos para reduzir o impacto ambiental da produção de óleo de palma. (Abdullah *et al.*, 2015; Meijaard *et al.*, 2020).

Em face das mudanças climáticas e da degradação ambiental, faz-se necessário desenvolver novas tecnologias para garantir a sustentabilidade e a produtividade da palma de óleo. Desse modo à importância de pesquisas sobre a resposta da palma de óleo a estresses abióticos têm permitido elucidar diversos mecanismos fisiológicos e moleculares que permitem à planta tolerar condições adversas, tais como a seca, a salinidade, as temperaturas extremas e a toxicidade do solo.

Estudos recentes indicam que a palma de óleo possui mecanismos fisiológicos e moleculares para tolerar períodos de déficit hídrico (Tezara *et al.*, 2021; Mejía-alvarado *et al.*, 2024). Por exemplo, estudo que identificou genes associados ao estresse hídrico, revelando proteínas e genes que podem servir como marcadores para a tolerância à seca (Azzeme *et al.*, 2016) e que destaca a importância das enzimas antioxidantes e dos genes de resposta ao estresse na adaptação das plantas às condições de seca (Core, 2022).

2.2 DÉFICIT HÍDRICO

O cultivo da palma de óleo requer condições climáticas específicas, típicas de regiões tropicais úmidas, com temperaturas médias entre 24 e 28°C e precipitação anual superior a 2000 mm (Basiron, 2007), pois é uma planta muito sensível à seca prolongada e prefere solos profundos e bem drenados. No estado do Pará, maior produtor brasileiro de palma de óleo, a maior parte dos cultivos está localizado na região nordeste do Estado, onde é atendido esses requisitos edafoclimáticos, sendo essas áreas consideradas de ótima aptidão ao cultivo da palmeira (Bastos, 2001). Ainda assim, e considerando-se que a maioria dos cultivos de palma de óleo não dispõem de sistemas de irrigação, a variabilidade das taxas de precipitação ao longo do ano faz com que as plantas possam experimentar períodos de estiagem entre os meses de julho a novembro, o que corresponde ao período mais seco do ano na Região Amazônica (Cai *et al.*, 2014; Raza *et al.*, 2019). Portanto, o déficit hídrico é uma condição de estresse abiótico relevante que pode afetar negativamente a produção brasileira de palma de óleo.

Os efeitos do déficit hídrico nas plantas são diversos, pois a água é essencial para processos vitais como a fotossíntese, a transpiração e o transporte de nutrientes. De maneira

geral, a falta de água pode levar a uma redução na taxa fotossintética devido ao fechamento estomático, o que diminui a absorção de CO₂ (Chaves *et al.*, 2003). Ademais, a deficiência hídrica do solo pode induzir alterações no crescimento das raízes e da parte aérea das plantas, pois as plantas frequentemente ajustam seu crescimento radicular para explorar melhor as camadas mais profundas do solo em busca de água (Aroca *et al.*, 2012; Gowda *et al.*, 2012). Em contraste, o crescimento da parte aérea é reduzido, resultando em menor área foliar total da planta e, conseqüentemente, diminuindo a capacidade de absorção de luz para a fotossíntese e a produção de assimilados via fotossíntese.

Além disso, o déficit hídrico pode induzir a produção de ROS, que causam danos celulares e afetam negativamente a integridade das membranas, o que pode ser um fator limitante para o crescimento e produtividade (Mittler, 2002). Ressalta-se ainda que a produtividade da palma de óleo é diretamente impactada pelo déficit hídrico, pois o estresse leva a uma menor formação de inflorescências femininas, diminuição do tamanho dos frutos o que impacta diretamente no rendimento de óleo (Yehouessi *et al.*, 2019).

2.3 SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE

O déficit hídrico afeta diretamente a fisiologia das plantas, desencadeando uma série de respostas bioquímicas e moleculares. Dentre essas respostas, o aumento na produção de ROS tem sido considerado fundamental na sinalização celular de resposta ao estresse (Petrov & Van Breusegem, 2012; Noctor e Foyer, 2016). Contudo, quando o déficit hídrico persiste e a produção de ROS aumenta mais que a capacidade de defesa antioxidante da planta, essas moléculas oxidativas, tais como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o ânion superóxido (O₂⁻) e o radical hidroxil (OH⁻), passam a oxidar compostos celulares diversos, tais como proteínas, lipídeos de membranas e ácidos nucleicos, caracterizando-se o que se chama de estresse oxidativo (Mittler, 2017).

Para lidar com a produção excessiva das ROS, as plantas apresentam eficientes sistemas de defesa antioxidante, o que inclui tanto enzimas antioxidantes quanto compostos antioxidantes não enzimáticos (Hussain *et al.*, 2019). Dentre as enzimas antioxidantes mais importantes são frequentemente citadas a dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), redutase da glutatona (GR), catalase (CAT) e peroxidases (POD), que trabalham em conjunto para controlar os níveis celulares das ROS (Gill & Tuteja, 2010). Além das enzimas, as plantas possuem diferentes compostos antioxidantes não enzimáticos, tais como

o ascorbato (ou ácido ascórbico ou vitamina C), a glutatona, o tocoferol e os carotenóides, estes últimos relacionados à dissipação de excessos de energia na forma de calor (Apel & Hirt, 2004; Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

Estudo recente mostrou que a exposição de plantas a eventos repetitivos de déficit hídrico pode levar a uma adaptação no sistema antioxidante das plantas de palma de óleo (Lopes Filho *et al.*, 2024). Essa adaptação envolve ajustes na expressão de genes relacionados às enzimas antioxidantes, resultando em uma maior capacidade de plantas de palma de óleo em enfrentar episódios subsequentes de déficit hídrico (Mittler, 2002; Gill e Tuteja, 2010; Azzeme *et al.*, 2016). Com efeito, aumentos nas atividades de enzimas antioxidantes em resposta ao déficit hídrico repetitivo têm sido observados em algumas espécies, tais como em mudas de feijão mungo (*Vigna radiata* L. cv. Binamoog-1) e *Zea mays* (milho) (Nahar *et al.*, 2015; Loutfy *et al.*, 2020).

2.4 SENESCÊNCIA FOLIAR E REMOBILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO

A senescência foliar é um processo natural de envelhecimento das folhas que pode ser acelerado por condições de estresse, como a seca. Durante a senescência, ocorre a degradação controlada de componentes celulares, resultando na reciclagem de nutrientes, particularmente o nitrogênio, para outras partes da planta. Este processo é fundamental para a sobrevivência da planta em condições adversas, pois permite que nutrientes essenciais sejam redistribuídos para novos órgãos ou estruturas vitais (Gregersen *et al.*, 2013). Durante a senescência foliar induzida pelo estresse hídrico, proteínas e outros compostos nitrogenados são degradados, liberando aminoácidos e amidas que são transportados para partes da planta em crescimento ou de maior importância fisiológica (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010).

Sob condições de déficit hídrico, a absorção de nutrientes é prejudicada e as plantas ativam mecanismos para acumular compostos nitrogenados, como aminoácidos, amidas e compostos fenólicos (DaMatta *et al.*, 2002; Verbruggen & Hermans, 2008; Xin *et al.*, 2018). Esses compostos (prolina, glicina betaína e poliaminas) não só servem como osmólitos compatíveis, ajudando na osmorregulação, mas também têm funções antioxidantes que protegem as células contra o dano oxidativo causado pelas ROS (Rontein *et al.*, 2002; Ashraf & Foolad, 2007; Szabados & Saviouré, 2010; Tiburcio *et al.*, 2014; Dikilitas *et al.*, 2020).

Atrelado a isso, o acúmulo de compostos nitrogenados pode influenciar significativamente o processo de senescência foliar. Estudos indicam que a prolina pode

retardar a senescência foliar ao estabilizar estruturas celulares e atuar como antioxidante, reduzindo o dano oxidativo nas folhas (Verbruggen & Hermans, 2008). Além disso, a presença de altos níveis de compostos fenólicos pode ajudar a mitigar os efeitos do estresse oxidativo durante a senescência foliar, contribuindo para uma transição mais controlada e eficiente, através da indução da expressão de genes de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e peroxidases), do fortalecimento estrutural das membranas celulares e da regulação positiva de vias de sinalização que respondem ao estresse (Agati *et al.*, 2012; Parvin *et al.*, 2022).

A exposição ao déficit hídrico repetitivo pode intensificar a senescência foliar, levando a uma maior necessidade de remobilização de nitrogênio. Durante a senescência foliar, a prolina, um aminoácido acumulado em resposta ao estresse, pode atuar como um importante mediador na remobilização de nitrogênio. A prolina não só protege as células contra o estresse osmótico, mas também pode ser utilizada como uma reserva de nitrogênio, sendo convertida em outros aminoácidos essenciais durante a recuperação (Szabados & Saviouré, 2010). A remobilização de nitrogênio e a senescência foliar são processos interligados que desempenham papéis cruciais na adaptação das plantas de palma de óleo ao estresse hídrico repetitivo. A capacidade de redistribuir nutrientes de forma eficiente durante a senescência foliar pode permitir que as plantas mantenham seu crescimento e desenvolvimento em condições adversas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

Mudas de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq., Família Arecaceae) de nove meses de idade de dois híbridos (*Deli x Ghana* e *Deli x Nigeria*, doravante denominados simplesmente de Ghana e Nigeria), produzidos por Serviços e Desenvolvimento Agrícola (ADS) Costa Rica, foram dispostas em viveiro da Fazenda Experimental da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Igarapé-Açú, Pará, Brasil (01° 07' 33" S e 47° 37' 27" W). As mudas foram cultivadas por três meses em vasos de 50 L (49 cm de altura e 59 cm de diâmetro) preenchidos com uma mistura de solo, areia e esterco (3:2:1, v/v). A acidez do substrato foi corrigida pela aplicação de 30 g de calcário dolomítico (Cantagalo®, Caieira Canta Galo Ltda, Acarape-CE, Brasil) por vaso 30 dias antes do transplântio das mudas. Foram feitas fertilizações com 30 g de Nitrofoska® (NPK 14-14-23) + Borax® 0,5% (EuroChem Group AG, Zug, Suíça) por vaso a cada 30 dias a partir do transplântio. A irrigação das plantas foi realizada diariamente através de gotejadores e volume hídrico foi estimado para que a capacidade de campo do

substrato fosse diariamente restabelecida. Para isso, foi aplicado o método da curva de retenção de água no solo, sendo a umidade do substrato monitorada por tensiômetros instalados nos vasos, a uma profundidade de 15 a 20 cm. Ao longo de todo o experimento, não foram observadas incidências de pragas ou doenças.

3.2 TRATAMENTOS E DESENHO EXPERIMENTAL

Após três meses do transplântio (período de aclimação), foram selecionadas 18 mudas de cada híbrido considerando-se as similaridades em termos de altura da planta ($1,5 \pm 0,3$ m), circunferência do caule (30 ± 5 cm) e número de folhas abertas (7 ± 2 unidades). As plantas selecionadas foram organizadas em três grupos distribuídos em seis blocos, com espaçamento de 1,5 x 1,5 m entre os vasos. Durante a fase de imposição dos regimes hídricos, as plantas foram cultivadas sob radiação fotossinteticamente ativa (PAR) média de $900 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a temperaturas de $29,3$ a $25,2 \pm 2$ °C (dia/noite), com umidade relativa do ar entre 60% e 90% e déficit de pressão de vapor de $1,2 \pm 0,4$ kPa (Fig. 1).

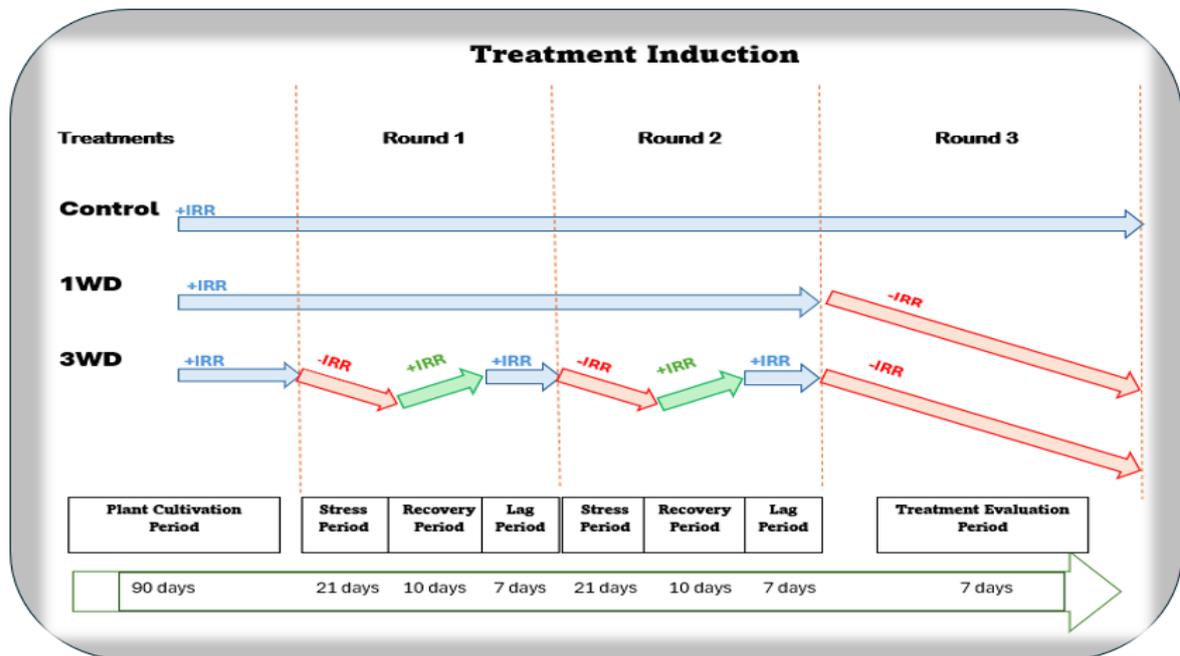
Figura 1: Condições climáticas em dias, durante 31 dias (**C**) e em horas, durante 24 h (**D**), registradas dentro da estufa com as mudas durante medições fisiológicas. Tair, é a temperatura do ar; RU é a umidade relativa do ar; VPD, é o déficit de pressão de vapor (DPV); e PAR é a radiação fotossinteticamente ativa. Dados para cada ponto de tempo nas figuras C e D são a média \pm SE.



As plantas selecionadas foram separadas em três grupos de seis indivíduos cada. Um grupo permaneceu continuamente irrigado à capacidade de campo (WC, Controle); o segundo grupo foi submetido a apenas um evento de déficit hídrico (1WD); e o terceiro grupo foi submetido a três eventos de déficit hídrico intercalados por períodos de reidratação (3WD). Os eventos de déficit hídrico foram impostos pela suspensão completa da irrigação até que o potencial hídrico foliar na antemãhã (Ψ_{pd}) alcançasse $-2,0$ MPa. Para o tratamento 3WD, os dois primeiros eventos de déficit hídrico foram intercalados pela reidratação das plantas até que as médias de Ψ_{pd} , A e g_s fossem similares ao das plantas controle. Um período de sete dias sob irrigação plena foi aplicado às plantas recuperadas antes de um novo evento de déficit hídrico ser aplicado (Lag Period). A indução dos regimes hídricos correspondeu a um período de aproximadamente três meses (Fig. 2).

Figura 2: Indução e avaliação dos tratamentos de regime hídrico controle (Control), déficit hídrico simples (1WD) e déficit hídrico repetitivo (3WD). As setas azuis, vermelhas e verdes correspondem respectivamente aos períodos em que as plantas foram irrigadas normalmente (+ IRR), que a irrigação foi suspensa ($-$ IRR) para a indução déficit hídrico (stress period) e que a irrigação foi retomada (+ IRR) para a recuperação fisiológica das plantas (recovery period). Para o tratamento 3WD, as plantas

foram irrigadas por sete dias entre eventos repetitivos de déficit hídrico (lag period). A avaliação dos tratamentos foi ao longo dos sete primeiros dias do Round 3.



As comparações fisiológicas dos tratamentos e as amostragens para as análises bioquímicas foram realizadas quando a suspensão de água foi simultaneamente aplicada para as plantas dos grupos 1WD e 3WD (round 3), representando respectivamente o primeiro e o terceiro evento de déficit hídrico para esses tratamentos. Nesta ocasião, as plantas controle permaneceram irrigadas conforme previamente descrito. As análises fisiológicas e bioquímicas foram realizadas entre o terceiro e quarto dia do round 3, quando as plantas estressadas (1WD e 3WD) apresentarem reduções na A de aproximadamente 50% em relação às plantas controle. Além das determinações do Ψ_{pd} , foram avaliadas as trocas gasosas foliares e a fluorescência da clorofila e no mesmo dia foram realizadas amostragens foliares para análises bioquímicas, ao final do período de luz (18:00 h).

3.3 POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR

As determinações de potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{pd}) foram realizadas entre 4:00 e 5:00 h, utilizando-se como amostra um folíolo da porção mediana da terceira folha expandida a partir do ápice da planta. Após a coleta, o folíolo foi imediatamente encerrado em psicrômetro acoplado a um datalogger (PSYPRO, Wescor Inc., Logan, USA)(Silim *et al.*, 2009).

3.4 TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA

As análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila foram realizadas simultaneamente, entre 9:00 e 11:00 h, utilizando um analisador de gases à infravermelho (LC-PRO, ADC BioScientific Ltd, United Kingdom) equipado com aparato de fluorescência (LC-PRO, ADC BioScientific Ltd, United Kingdom). Como referência, foram selecionados os mesmos folíolos opostos àqueles utilizados para a determinação do Ψ_{pd} . As trocas gasosas foram realizadas sob radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de $1100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (Silva *et al.*, 2016, 2017). Foram determinadas a A , a g_s e a razão entre concentração de CO_2 subestomática e ambiente (C_i/C_a). A taxa de respiração mitocondrial no escuro (R_d) foi medida em folhas adaptadas ao escuro por pelo menos 2 h após o pôr do sol. Além disso, a respiração mitocondrial na luz (R_L) foi estimada como sendo a metade da R_d (Pinelli & Loreto, 2003; Centritto *et al.*, 2009). A frequência fotorrespiratória da Rubisco (R_p) foi estimada segundo Valentini *et al.* (1995), como $R_p = 1/12[\text{ETR} - 4(A + R_L)]$.

Para determinar as curvas de resposta de A em função da concentração subestomática de CO_2 (C_i) (i.e., curvas A/C_i), foi utilizada uma fonte de CO_2 para prover concentrações desse gás entre 0 a $1500 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$. Correções para vazamento de CO_2 e vapor d'água foram aplicadas a todos os dados de trocas gasosas conforme descrito por Rodeghiero *et al.* (2007) e Flexas *et al.* (2007). A partir das curvas A/C_i , a taxa máxima de carboxilação da Rubisco (V_{cmax}), a taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) e a utilização de triose - fosfato (TPU) foram calculadas ajustando-se o modelo mecanístico de assimilação de CO_2 (Farquhar *et al.* 1980). Os ajustes das curvas A/C_i também observaram as recomendações detalhadas em Martins *et al.* (2013). Posteriormente, os parâmetros fotossintéticos V_{cmax} , J_{max} e TPU foram normalizados para $25 \text{ }^\circ\text{C}$ usando as equações de resposta à temperatura de Sharkey *et al.* (2007). A concentração cloroplastídica de CO_2 (C_c) e condutância mesofílica (g_m) foram estimadas segundo Martins *et al.* (2013).

A fluorescência da clorofila foi determinada em folíolos adaptados ao escuro por pelo menos 30 minutos. A determinação iniciou pela aplicação de um pulso de luz modular ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para determinar a fluorescência inicial (F_o), seguindo-se de um pulso de luz saturante ($6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,8 s) para determinar a máxima fluorescência (F_m). Em seguida, uma luz actínica contínua ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi aplicada por 480 s para determinar a fluorescência em estado estacionário (F_s). Na sequência, foram aplicados um pulso de luz branca saturante ($6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,8s) e um pulso de luz vermelha distante ($2 \mu\text{mol m}^{-2}$

s^{-1}) para obtenção da fluorescência máxima (F'_m) e F_o adaptado à luz (ou seja, F'_o). A F_v/F_m , a máxima eficiência fotoquímica do PS II no claro (F'_v/F'_m) e o coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) foram estimados conforme Krause & Weis (1991). O coeficiente de extinção fotoquímica (q_p) foi calculado como $q_p = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_o)$ (Kramer *et al.*, 2004). A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi calculada como $ETR = \Phi_{PSII} \times PPFD \times f \times \alpha$, em que PPFD é a densidade do fluxo de fótons fotossintéticos; f é o fator de compartimentação de energia entre PSII e PSI ($f = 0,5$) e α é a absorvância da folha pelos tecidos fotossintetizantes ($\alpha = 0,84$; Maxwell & Johnson, 2000). O ETR/A foi calculado como um indicador de fotorrespiração (Bota *et al.*, 2004).

3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS FOLIARES

3.5.1 Amostragens

As amostragens para as análises bioquímicas foram realizadas às 18h, nos mesmos dias em que foram realizadas medições de trocas gasosas e fluorescência da clorofila. Este horário foi escolhido por representar o período de máximo acúmulo dos compostos, de modo que as diferenças observadas serão resultado dos tratamentos e não devido ao horário de coleta. Na ocasião, foram coletados folíolos obtidos de folhas jovens (primeira folha expandida a partir do ápice da planta) e maduras (terceira folha expandida a partir do ápice da planta), os quais foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e mantidos a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ até posterior liofilização por 72 h. O material seco obtido foi macerado a pó fino e armazenado a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ até o momento das análises.

3.5.2 Análises bioquímicas a partir de extratos etanólicos

3.5.2.1 Preparação dos extratos etanólicos

Amostras de 20 a 30 mg de material vegetal liofilizado foram transferidos para microtubos mantidos em gelo. Em seguida, as amostras foram misturadas a 350 μL de etanol (EtOH) 99,8% (v/v) utilizando-se vórtex e, após incubação a $70-75\text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos, as amostras foram centrifugadas a 5000 g por 5 min a $4\text{ }^\circ\text{C}$. Os sobrenadantes foram coletados para novos microtubos e a extração etanólica repetida para o resíduo da centrifugação como descrito anteriormente. O sobrenadante obtido dessa segunda extração etanólica foi combinado ao sobrenadante da extração anterior. Uma terceira extração etanólica foi realizada em procedimento similar aos anteriores, exceto pela utilização de 350 μL de EtOH 50% (v/v) para

ressuspender o resíduo. Como resultado, o último sobrenadante obtido foi combinado aos dois anteriores, constituindo o extrato etanólico final utilizado para as análises de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), aldeído malônico (MDA), aminoácidos totais, prolina, pigmentos cloroplastídicos e compostos fenólicos. Os resíduos finais das extrações etanólicas foram armazenados a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ para as análises posteriores de proteínas solúveis totais.

3.5.2.2 Peróxido de hidrogênio

A concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi determinada a partir da amostra obtida na extração etanólica. As amostras foram diluídas tomando $10\text{ }\mu\text{L}$ de extrato em $90\text{ }\mu\text{L}$ de EtOH 70% (v/v). Dessa diluição, uma alíquota de $10,8\text{ }\mu\text{L}$ foi usada na reação pelas adições de $34,2\text{ }\mu\text{L}$ de água destilada, $45\text{ }\mu\text{L}$ de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e $90\text{ }\mu\text{L}$ de iodeto de potássio 1 M. Após homogeneização em vórtex, as absorbâncias (Abs) das amostras foram obtidas a 390 nm e as concentrações de H_2O_2 foram calculadas utilizando-se curva padrão de H_2O_2 (Velikova *et al.*, 2000).

3.5.2.3 Aldeído malônico

A peroxidação lipídica foi determinada medindo-se a formação de aldeído malônico (MDA). Para isso, amostras de $250\text{ }\mu\text{L}$ do extrato etanólico foram misturados a $250\text{ }\mu\text{L}$ de ácido tricloroacético (TCA) 20% e ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% e levadas ao banho maria a $95\text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min. A reação foi paralisada em banho de gelo e as amostras centrifugadas a 3000 g por 10 min a $4\text{ }^\circ\text{C}$. Os sobrenadantes obtidos foram utilizados para a obtenção das Abs específicas e não específicas determinadas a 532 e 600 nm, respectivamente. As concentrações de MDA foram calculadas com base no coeficiente de extinção molar do mesmo ($155\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$) segundo Hodges *et al.* (1999) e Landi (2017) descritos por López-Hidalgo *et al.* (2020).

3.5.2.4 Aminoácidos totais

A quantificação de aminoácidos foi realizada pelo método de ninhidrina. Para isso, foram adicionados em um microtubo $10\text{ }\mu\text{L}$ do extrato etanólico, $50\text{ }\mu\text{L}$ de tampão de citrato de sódio 1 M, 0,2% (p/v) de ácido ascórbico (pH 5,2), $100\text{ }\mu\text{L}$ de ninidrina 1% (p/v) preparada em EtOH 70% e $40\text{ }\mu\text{L}$ de água destilada. Após homogeneização em vórtex, as amostras foram levadas ao banho maria por 20 min a $80\text{ }^\circ\text{C}$. Após paralisação da reação em banho de gelo, as Abs das amostras foram obtidas a 570 nm. A concentração de aminoácidos totais foi obtida por

meio da curva padrão utilizando glicina 1 mM em EtOH 70% como padrão (López-Hidalgo *et al.*, 2020).

3.5.2.5 Prolina

A quantificação de prolina foi realizada segundo Carillo & Gibbon (2011), usando 50 μL de extrato etanólico e 100 μL de uma solução de ácido acético 60% (v/v), ninhidrina 1% (p/v) e EtOH 20% (v/v). As amostras foram homogeneizadas em vórtex e incubadas por 20 min a 95 °C. A reação foi paralisada em banho de gelo e posteriormente as Abs das amostras foram obtidas a 570 nm. A concentração de prolina foi estimada por meio de curva padrão de prolina.

3.5.2.6 Pigmentos cloroplastídicos

Em uma microplaca foram adicionados 50 μL do extrato etanólico e 120 μL de EtOH 99,8%, totalizando 170 μL por poço. As Abs das amostras foram obtidas diretamente em leitor de microplacas a 470 nm, 646,8 nm e 663,2 nm. As concentrações de clorofila (Chl) *a* e *b* e de carotenoides totais (Car_{Tot}) foram calculadas conforme descrito em Lichthenthaler (1987).

3.5.2.7 Compostos fenólicos

Amostras de 10 μL do extrato etanólico foram diluídas em 90 μL de EtOH 70% (v/v) e uma alíquota de 50 μL das amostras diluídas foram adicionadas em um microtubo com 50 μL de EtOH 99,8% e 200 μL do reagente Folin-Cicateau 10% (v/v). As amostras foram incubadas no escuro por 2 min e em seguida foi adicionado 800 μL de Na_2CO_3 700 mM (p/v). As amostras foram incubadas no escuro por 2 h, seguindo-se da determinação da Abs a 720 nm (Ainsworth & Gillespie 2007).

3.5.2.8 Proteínas solúveis totais

O resíduo da extração etanólica foi ressuspendido em 350 μL de EtOH 99,8% utilizando-se um vórtex. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 5000 g a 4°C por 5 min. O sobrenadante foi descartado e em seguida foi adicionado ao pellet 400 μL de NaOH 0,1 M (p/v), seguindo-se de homogeneização em vórtex e incubação por 1 h a 80 °C. Após paralisação da reação em banho de gelo, a quantificação das proteínas solúveis totais foi realizada pelo método de Bradford (1976). Usando uma alíquota de 5 μL da amostra, as Abs das amostras foram obtidas a 595 nm, e a concentração foi obtida por meio da curva padrão.

3.5.3 Atividades de enzimas antioxidantes

3.5.3.1 Obtenção dos extratos enzimáticos

O extrato enzimático foi obtido de acordo com o protocolo de Biemelt *et al.* (1998), utilizando-se 100 mg de amostra liofilizada a qual foi misturada a 1500 μL de meio de extração contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. Após centrifugação a 13000 g por 10 min a 4 °C, o sobrenadante foi coletado e usado na determinação das enzimas antioxidantes.

3.5.3.2 Dismutase do superóxido

A atividade da dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1) foi determinada de acordo com Giannopolitis e Ries (1977). A reação foi conduzida em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 52,5 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM, azul de nitrotetrazólio (NBT) 0,075 mM, metionina 13 mM, riboflavina 2 μM , 8,7 μL de água destilada e 3 μL de extrato enzimático, em um volume final de 190 μL . O ensaio de atividade foi iniciado na presença de luz branca (122 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e finalizado após 7 min, interrompendo-se o fornecimento de luz. As absorbâncias das amostras foram determinadas a 560 nm e a atividade da enzima foi expressa em unidades (U) $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. Nesse caso, 1 U de SOD equivale a quantidade de enzima necessária para inibir a redução do NBT em 50%.

3.5.3.3 Peroxidase do ascorbato

A atividade da peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.1) foi determinada em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), ascorbato 0,5 mM, H_2O_2 0,1 mM, 8,5 μL de água destilada e 0,5 μL de extrato, em um volume final de 180 μL . A atividade da APX foi determinada pela oxidação do ascorbato a 290 nm e os resultados foram expressos em $\text{nmol AsA min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína (Nakano & Asada, 1981).

3.5.4 Análises elementares de carbono e nitrogênio

Os teores de carbono (C) e nitrogênio (N) nos folíolos de folhas jovens e maduras foram determinados pelo método de ultra combustão utilizando um analisador Leco CN-628S (Leco Corporation, St Joseph, MI, EUA). Foram utilizados aproximadamente 100 mg de material vegetal liofilizado moído a pó fino. As amostras foram incubadas a 60 °C por 12 h antes da análise para remover qualquer umidade residual. A combustão das amostras foi conduzida a

950 °C, utilizando He ($\text{H}_2\text{O} < 3 \text{ ppm}$, $\text{O}_2 < 2 \text{ ppm}$) como gás de arraste a uma pressão de 669 mm Hg. Uma curva padrão foi construída usando padrões de folhas de pomar (Leco 502-055-44 a 52% C e 2,0 ou 2,8% N) e fenilalanina (Leco 502-642-65 a 4% C e 8,5% N). As concentrações de carbono e nitrogênio das amostras foram expressas em g C ou N kg^{-1} MS.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados fisiológicos e bioquímicos foram avaliados separadamente para cada híbrido, visto que não se objetivou neste trabalho fazer comparações entre esses materiais vegetais. Primeiramente, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para checar se a distribuição dos dados seguia a normalidade. Para ambos os híbridos, os dados de SOD foram transformados utilizando-se a função Log10 e os dados de APX foram transformados utilizando-se a função raiz quadrada de $(x+1)$. A homogeneidade das variâncias foi examinada pelo teste de Bartlett.

Os dados de potencial hídrico, trocas gasosas e crescimento de cada híbrido foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, os regimes hídricos (C, 1WD e 3WD) e cinco repetições. Os dados de SOD, APX, MDA e H_2O_2 foram submetidos à ANOVA considerando-o delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial 3 x 2 (três regimes hídricos e duas idades de folíolos), com cinco repetições. As médias foram comparadas pelo Teste de Duncan ($P < 0,05$), utilizando-se o software R (v. 4.3.2, 2023).

Os dados de aminoácidos, proteínas solúveis totais, prolina, compostos fenólicos, clorofilas, carotenóides, carbono e nitrogênio foram apresentados para cada híbrido utilizando-se heatmaps. Para isso, os dados foram inicialmente avaliados pelo teste t de Student ($P < 0,05$) bicaudal não-pareado comparando o comportamento de cada tratamento de estresse em relação ao controle (i.e., 1WD x C e 3WD x C). Essa análise foi realizada para folíolos jovens e maduros para cada híbrido (Ghana e Nigéria) separadamente. Os valores médios dos dados foram normalizados como Log2 fold-change (relativo ao C) a partir dos mesmos pressupostos utilizados para o teste t de Student ($P < 0,05$).

Os dados de número de folhas jovens, número de folhas maduras e a razão folha joven e folha madura foram obtidos por contagem e a área foliar segundo Gomes *et al.* (2009).

4 RESULTADOS

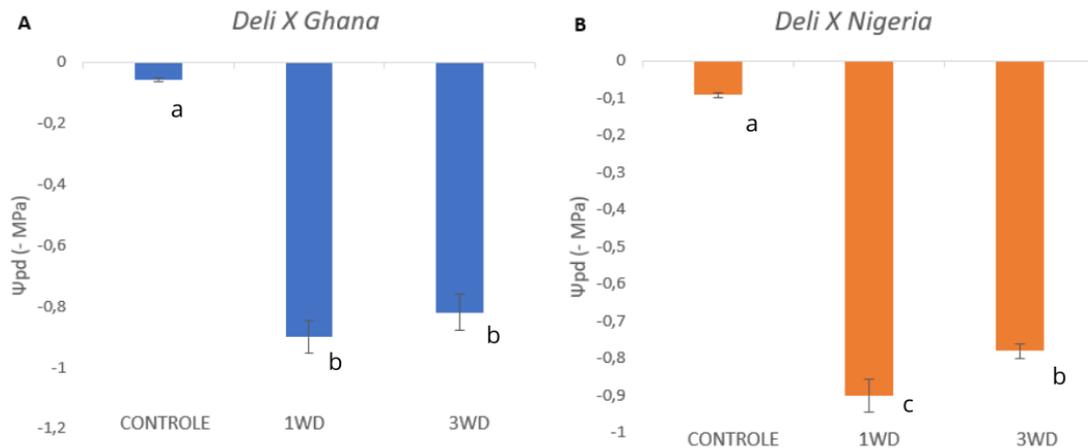
4.1 POTENCIAL HÍDRICO DE ANTEMANHÃ

No híbrido Ghana, os valores médios de potencial hídrico foliar na antemanhã nas plantas estressadas foram de $-0,9$ MPa nas plantas do tratamento 1WD e $-0,82$ MPa no tratamento 3WD, sendo significativamente inferiores aos valores obtidos para plantas controle ($-0,06$ MPa) (Fig. 3A). No híbrido Nigeria, o tratamento 1WD apresentou média de potencial hídrico foliar na antemanhã de $-0,9$ MPa e o tratamento 3WD de $-0,78$ MPa. Esses valores foram significativamente inferiores que a média das plantas controle ($-0,09$ MPa) (Fig. 3B).

4.2 ALTERAÇÕES NAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

No híbrido Ghana, as atividades da SOD foram similares entre folíolos jovens e maduros das plantas controle, comportamento este também observado nas plantas 1WD (Fig. 4A). Nas plantas 3WD, a atividade da SOD foi 27% maior nos folíolos jovens em relação aos folíolos maduros (Fig. 4A). As atividades da APX foram superiores nos folíolos jovens em todos os tratamentos, com destaque para o tratamento 3WD em que a atividade da APX nos folíolos jovens foi 107% maior que nos folíolos maduros (Fig. 4B). As concentrações de H_2O_2 não foram influenciadas pelo grau de expansão dos folíolos em nenhum regime hídrico (Fig. 4C). Por outro lado, independentemente do regime hídrico, foi observado que as concentrações de MDA foram sempre menores nos folíolos maduros que nos folíolos jovens (Fig. 4D).

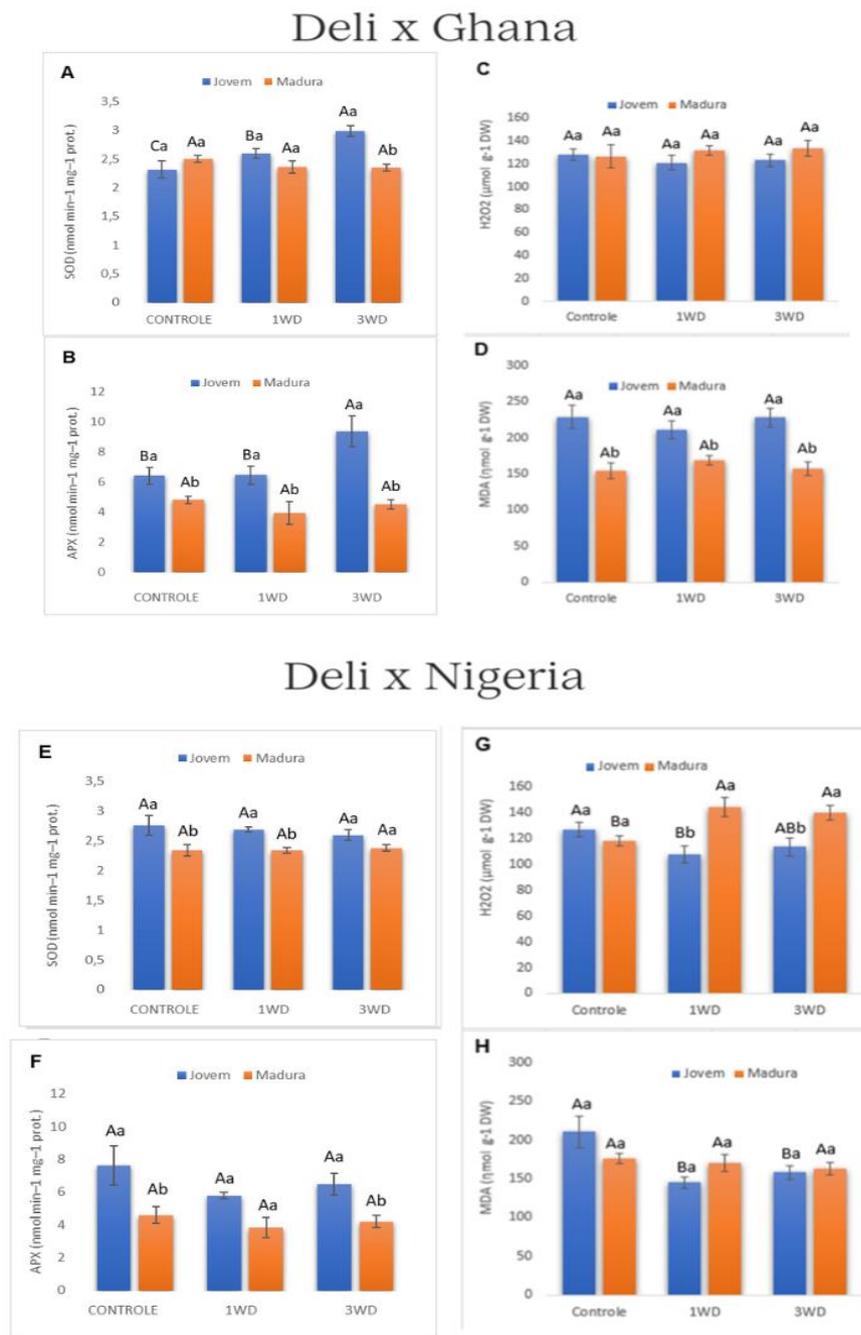
Figura 3: Médias de potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{pd}) em dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (Controle) e a um (1WD) e três (3WD) eventos de déficit hídrico. Os dados são as médias \pm o erro padrão. Letras diferentes denotam diferenças significativas entre regimes hídricos para cada híbrido avaliado separadamente (Teste Duncan, $P \leq 0.05$).



Ainda para o híbrido Ghana, foi possível observar que as atividades da SOD e da APX nos folíolos jovens comparados em plantas de diferentes regimes hídricos foram cerca de 29% e 46% maiores nas plantas 3WD que nas plantas controle, respectivamente (Fig. 4A e B). Nos folíolos maduros, as atividades dessas enzimas não diferiram significativamente entre plantas controle, 1WD e 3WD (Fig. 4A e B). Tanto para folíolos jovens quanto para os folíolos maduros, as concentrações de H_2O_2 e MDA não foram influenciadas pelos déficits hídricos simples (1WD) e repetitivo (3WD) (Fig. 4C e D).

Nas plantas controle do híbrido Nigéria, as atividades da SOD e da APX foram 17% e 66% maiores nos folíolos jovens que nos folíolos maduros (Fig. 4E e F). Nas plantas 1WD a atividade da SOD foi 15% maior nos folíolos jovens que nos maduros, e a atividade da APX foi estatisticamente similar entre folíolos jovens e maduros (Fig. 4E e F). No tratamento 3WD não houve influência na atividade da SOD pelo grau de expansão dos folíolos (Fig. 4E e F). As concentrações de H_2O_2 nas plantas controle deste híbrido não diferiram entre folíolos jovens e maduros (Fig. 4G), enquanto nas plantas 1WD e 3WD as com concentrações de H_2O_2 foram aproximadamente 13% menores nos folíolos maios jovens em relação ao tratamento Controle (Fig. 4G). Não houve qualquer efeito significativo do grau de expansão dos folíolos (folíolos jovem vs. maduro) na concentração de MDA nas plantas controle, 1WD e 3WD (Fig. 4H).

Figura 4. Atividades da dismutase do superóxido (SOD) e da peroxidase do ascorbato (APX) e concentrações de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e aldeído malônico (MDA) em folíolos jovens e maduros de dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (controle) e ao déficit hídrico simples (1WD) e repetitivo (3WD). Os dados são as médias ± erro padrão. Letras maiúsculas diferentes denotam diferenças significativas entre médias para folíolos de um mesmo grau de expansão coletados de plantas sob diferentes regimes hídricos. Letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas entre médias de folíolos jovens e maduros comparados sob um mesmo regime hídrico. Todas as comparações de médias foram realizadas pelo teste Duncan ($P \leq 0.05$).



Folíolos jovens do híbrido Nigéria obtidos de plantas submetidas aos diferentes regimes hídricos (controle, 1WD e 3WD) apresentarem similares atividades da SOD e da APX (Fig. 4E e F). Nesses folíolos, a concentração de H_2O_2 foi maior nas plantas controle e menor nas plantas 1WD, enquanto as plantas do tratamento 3WD apresentaram um comportamento intermediário (Fig. 4G). Os folíolos jovens das plantas controles também apresentaram maior concentração de MDA que os tratamentos de déficit hídrico, cujas concentrações de MDA foram similares entre si (Fig. 4H). Nos folíolos maduros, as atividades da SOD e da APX e as concentrações de MDA não foram influenciadas pelos regimes hídricos (Fig. 4E, F e H), mas as concentrações de H_2O_2 foram 20% maiores nas plantas 1WD e 3WD que nas plantas controle (Fig. 4G).

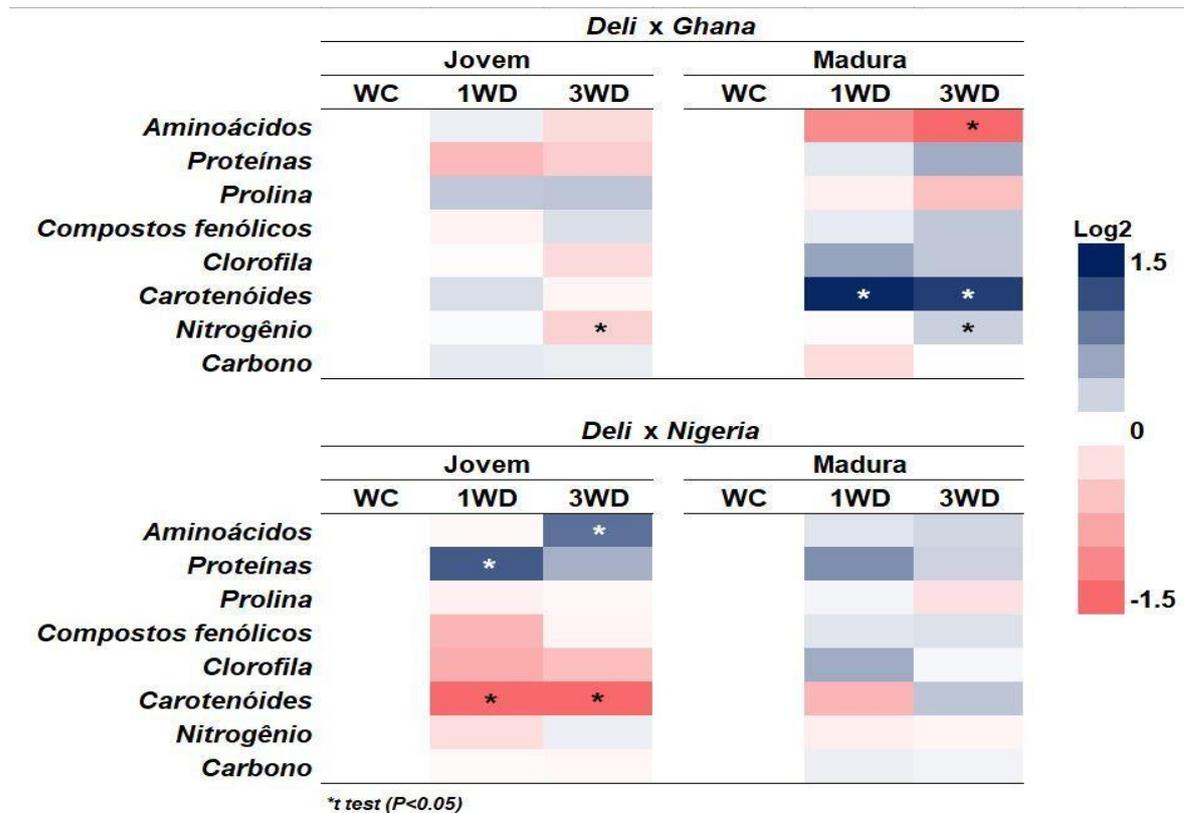
4.3 AMINOÁCIDOS, PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS, PROLINA, COMPOSTOS FENÓLICOS, CARBONO E NITROGÊNIO

No híbrido Ghana, as concentrações de aminoácidos totais nos folíolos jovens foram semelhantes entre plantas controle, 1WD e 3WD (Fig. 5). Nos folíolos maduros, a concentração de aminoácidos foi similar entre plantas controle e 1WD e significativamente reduzida nas plantas 3WD em relação ao controle irrigado (Fig. 5). Tanto nos folíolos jovens quanto nos folíolos maduros, foi observado que as concentrações de proteínas solúveis totais, prolina, compostos fenólicos, clorofila e carbono não foram influenciadas pelo déficit hídrico simples e repetitivo (Fig. 5). Nos folíolos jovens do híbrido Ghana, a concentração de carotenoides totais não foi influenciada pelo déficit hídrico simples e repetitivo, mas nos folíolos maduros a concentração de carotenoides totais foi significativamente maior nos tratamentos 1WD e 3WD comparados ao controle (Fig. 5). Tanto nos folíolos jovens quanto nos folíolos maduros, foi observado que o déficit hídrico simples (1WD) não alterou o teor de N total. Por outro lado, nas plantas estressadas do tratamento 3WD, o teor de N total nos folíolos jovens foi reduzido significativamente em relação ao controle, enquanto nos folíolos maduros o teor de N total foi significativamente maior nas plantas 3WD que nas plantas controle (Fig. 5).

No híbrido Nigéria, as concentrações de aminoácidos nos folíolos jovens e maduros não diferiram entre plantas controle e 1WD. Nas plantas submetidas ao déficit hídrico repetitivo (3WD), as concentrações de aminoácidos nos folíolos jovens aumentaram significativamente em relação ao controle, mas permaneceram inalteradas nos folíolos maduros (Fig. 5). A concentração de proteínas solúveis totais em folíolos jovens foi maior no tratamento 1WD que no controle, enquanto nenhuma diferença significativa foi observada entre plantas controle e 3WD (Fig. 5). Além disso, a concentração de proteínas em folíolos maduros não foi

influenciada pelo déficit hídrico simples ou repetitivo (Fig. 5). Tanto nos folíolos jovens quanto nos folíolos maduros deste híbrido, não foram observadas diferenças significativas nas médias de prolina, compostos fenólicos, clorofilas, nitrogênio e carbono entre plantas irrigadas e estressadas (Fig. 5). Nos folíolos jovens, houve significativa redução na concentração de carotenóides totais nas plantas estressadas 1WD e 3WD comparadas ao controle, mas, por outro lado, a concentração de carotenóides totais nos folíolos maduros foi similar entre plantas irrigadas e estressadas por um ou três eventos de déficit hídrico (Fig. 5).

Figura 5: Variações nas concentrações de aminoácidos, proteínas, prolina, compostos fenólicos, clorofilas, carotenóides, nitrogênio e carbono em folíolos jovens e maduros de dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (controle, WC) e a um (1WD) e três (3WD) eventos de déficit hídrico. Os valores médios de cada variável para as plantas estressadas foram normalizados como Log₂FC relativos ao tratamento WC. As análises estatísticas foram realizadas separadamente para cada híbrido e para cada estágio de desenvolvimento do folíolo (folíolo jovem ou maduro de forma que os asteriscos denotam diferenças significativas pelo teste t de Student ($P < 0,05$) para as comparações 1WD x WC e 3WD x WC.



4.4 TROCAS GASOSAS FOLIARES E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA

No híbrido Ghana, as médias de A foram respectivamente reduzidas em 27% e 16% nas plantas submetidas a um e três eventos de déficit hídrico em relação ao controle (Fig. 6A). Entretanto, as médias de g_s , C_i/C_a e ETR foram semelhantes entre plantas irrigadas e estressadas por um ou mais eventos de déficit hídrico (Fig. 6B, C e D). As médias de J_{max} e $F_v'F_m'$ não diferiram estatisticamente entre plantas controle e estressadas 1WD e 3WD (Fig. 7A e B). Nesse híbrido, foi observado que as médias de q_p foram similares entre plantas controle e 1WD, mas esta variável foi significativamente reduzida (9%) no tratamento 3WD em relação ao controle (Fig. 7C). O NPQ foi maior nas plantas estressadas que nas plantas controle, contudo, esses aumentos foram mais expressivos nas plantas 1WD (96%) que nas plantas 3WD (20%) (Fig. 7D).

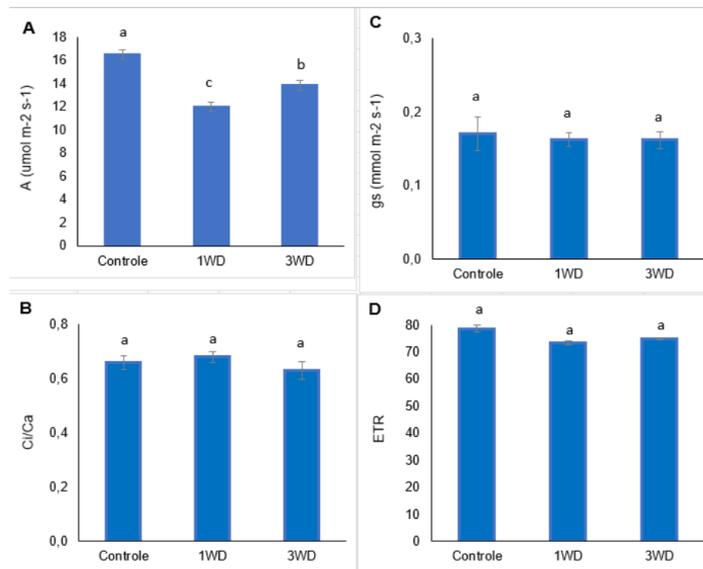
Em relação ao controle, as médias de V_{cmax} e C_c no híbrido Ghana foram 36% e 31% menores nas plantas do tratamento 1WD e 20% e 19% menores nas plantas do tratamento 3WD (Fig. 8A e D). As médias de g_m não diferiram significativamente entre regimes hídricos (Fig. 8C). As médias de P_R foram similares entre plantas controle e 3WD, mas foram 71% maiores nas plantas 1WD em relação aos demais regimes hídricos (Fig. 8B).

No híbrido Nigéria, os efeitos do déficit hídrico simples e repetitivo nas taxas de A e ETR foram similares. Nesse caso, as médias de A e ETR foram respectivamente reduzidas em 22% e 9% nas plantas 1WD e 3WD em relação ao controle (Fig. 6E e H). As médias de g_s e C_i/C_a foram estatisticamente iguais nos três regimes hídricos (Fig. 6F e G). As médias de J_{max} e q_p foram semelhantes estatisticamente entre as plantas dos diferentes regimes hídricos (Fig. 7E e G). A média de $F_v'F_m'$ foi similar entre plantas 3WD e controle, mas foi significativamente reduzida em 13% nas plantas 1WD comparadas ao controle (Fig. 7F). O NPQ não diferiu estatisticamente entre plantas controle e 3WD, mas foi expressivamente maior (83%) nas plantas 1WD que nos demais tratamentos (Fig. 7H).

Ainda no híbrido Nigéria, os tratamentos estressados apresentaram reduções significativas na V_{cmax} em relação às plantas controle, sendo essas reduções mais expressivas no tratamento 1WD (37%) e 3WD (19%) (Fig. 8E). A P_R nas plantas estressadas 1WD e 3WD foram igualmente aumentadas em aproximadamente 48% em relação às plantas controle (Fig. 8F). A g_m e a C_c não diferiram estatisticamente entre plantas controle e 3WD, mas essas variáveis foram significativamente reduzidas em 18% e 27% no tratamento 1WD em relação ao controle (Fig. 8G e H).

Figura 6: Variações na taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*) (**A** e **E**), condutância estomática ao vapor d'água (*g_s*) (**B** e **F**), razão entre a concentração de CO₂ subestomática e ambiente (*C_i/C_a*) (**C** e **G**) e taxa de transporte aparente de elétrons (ETR) (**D** e **H**) em folíolos maduros de dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (Controle) e a um (1WD) e três (3WD) eventos de déficit hídrico. Os dados são as médias ± o erro padrão. Letras diferentes denotam diferenças significativas entre regimes hídricos (Teste Duncan, *P* ≤ 0,05).

Deli x Ghana



Deli x Nigeria

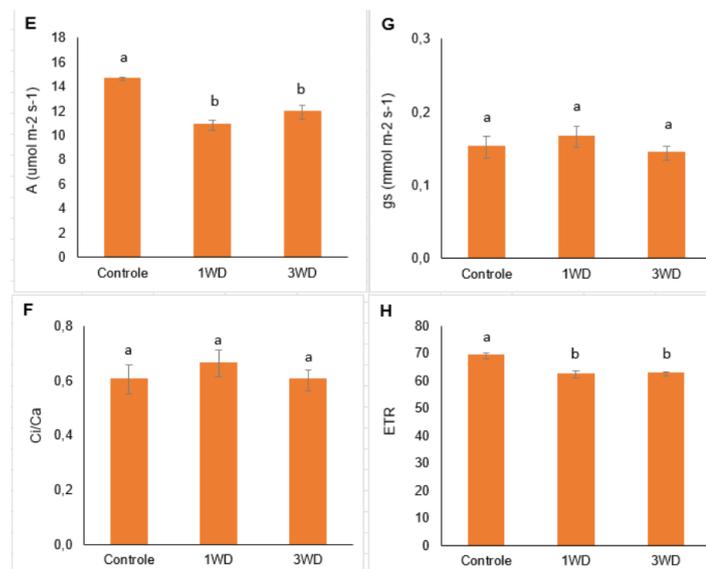


Figura 7: Variações na taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) (**A e E**), eficiência máxima do fotossistema dois (PSII) ($F_v'F_m'$) (**B e F**), extinção fotoquímica (q_p) (**C e G**) fração de centros do PSII que estão abertos (NPQ) (**D e H**) em folíolos maduros de dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (Controle) e a um (1WD) e três (3WD) eventos de déficit hídrico. Os dados são as médias \pm o erro padrão. Letras diferentes denotam diferenças significativas entre regimes hídricos (Teste Duncan, $P \leq 0,05$).

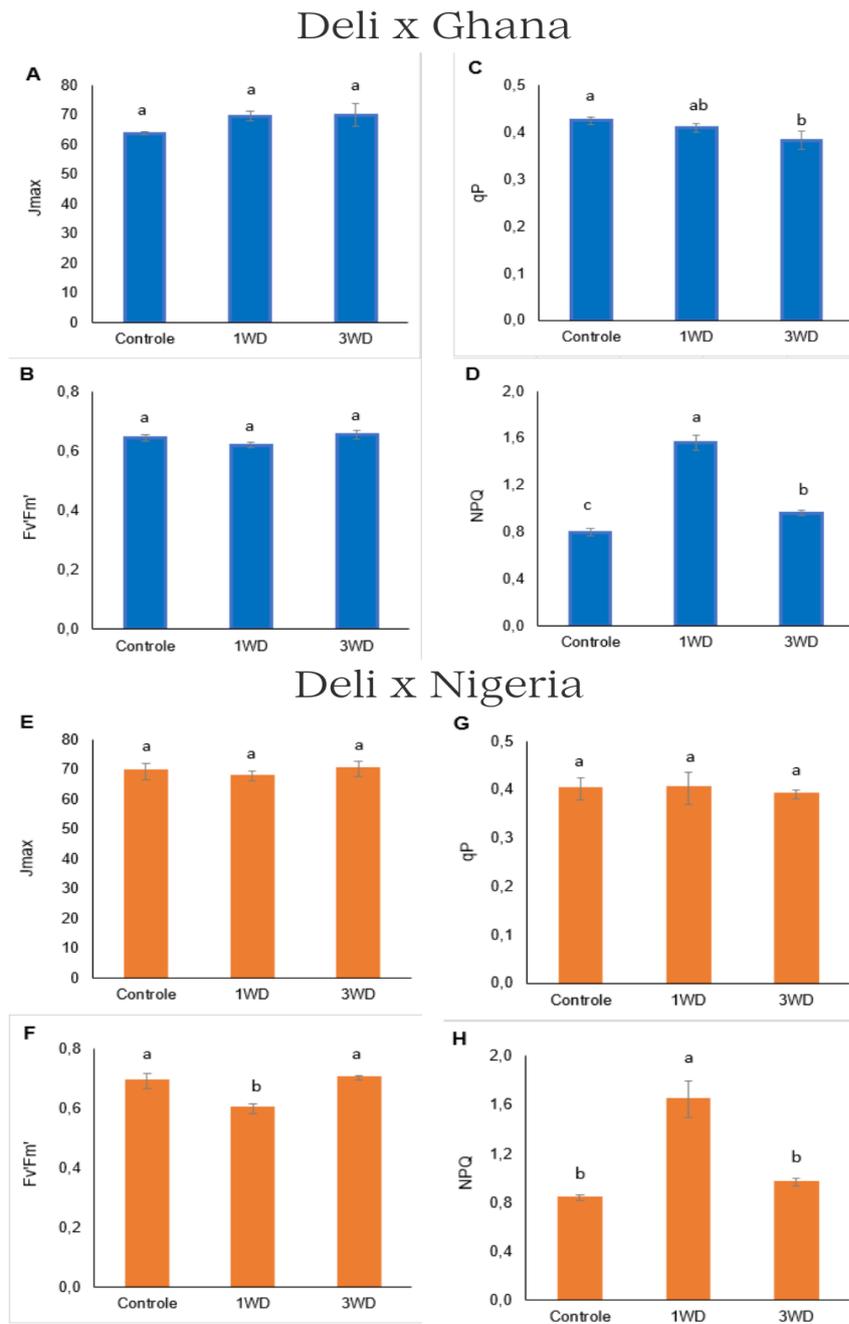
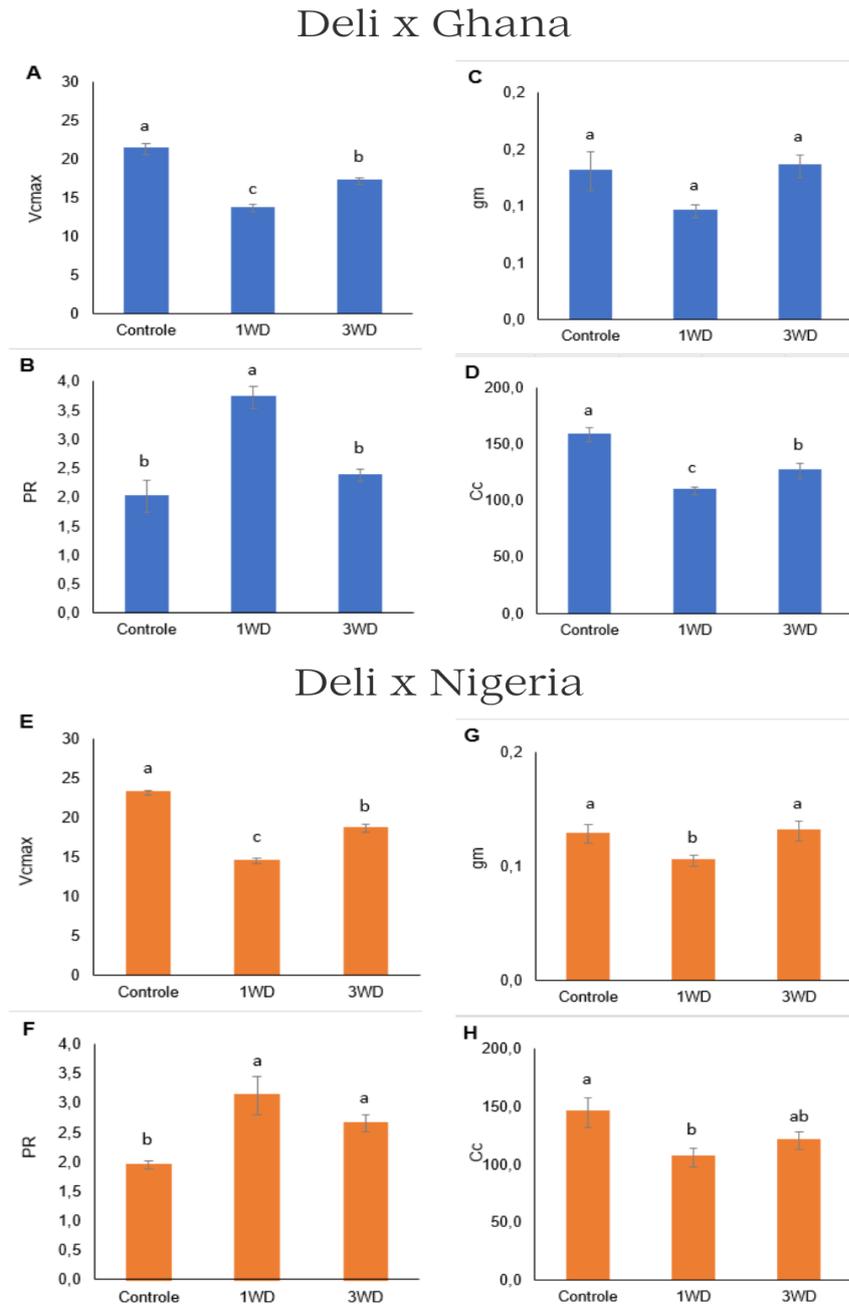


Figura 8: Médias da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{cmax}) (A e E), taxa de fotorrespiração (P_R) (C e D), condutância mesofílica do CO₂ (g_m) (E e F) concentração de CO₂ nos cloroplastos (C_c) (G e H) em folíolos maduros de dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (Controle) e a um (1WD) e três (3WD) eventos de déficit hídrico. Os dados são as médias \pm o erro padrão. Letras diferentes denotam diferenças significativas entre regimes hídricos (Teste Duncan, $P \leq 0,05$).

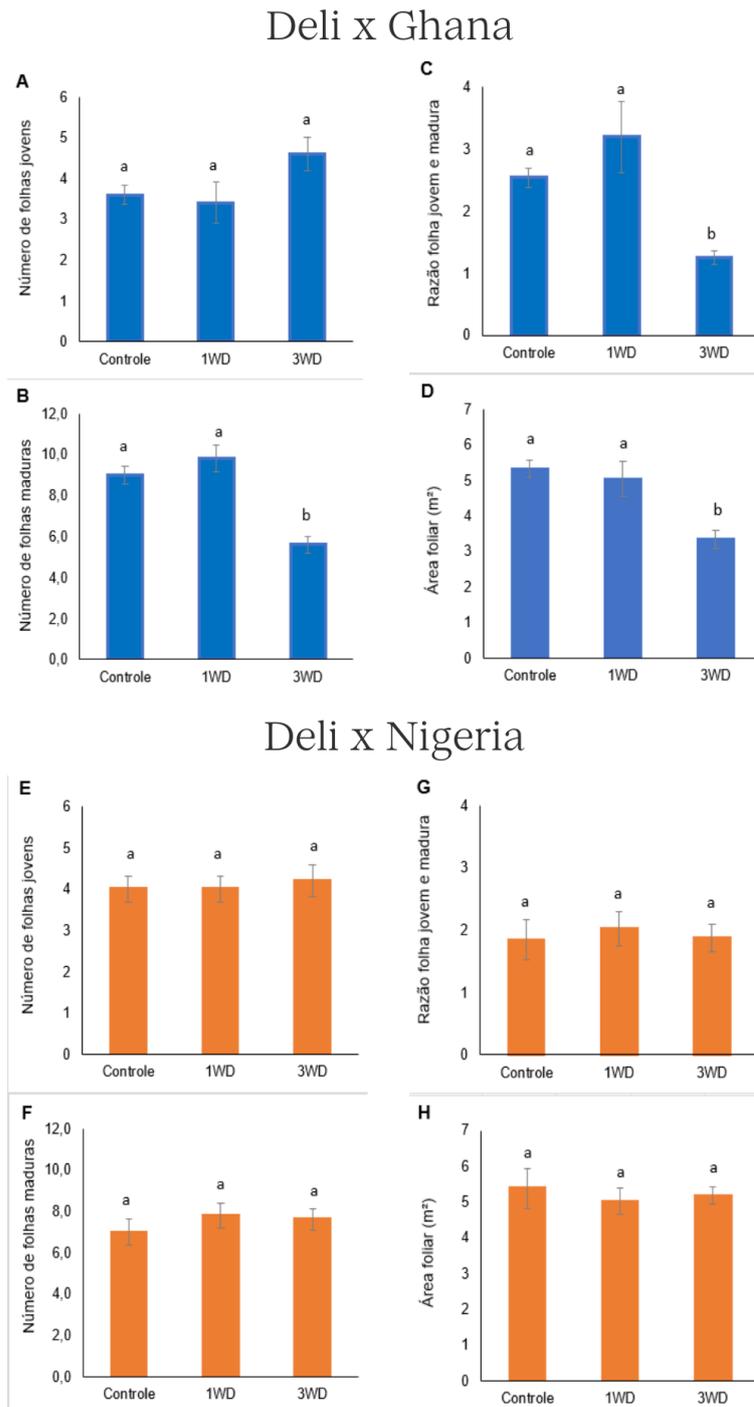


4.5 CRESCIMENTO EM NÚMERO DE FOLHAS E ÁREA FOLIAR

No híbrido Ghana, o número de folhas jovens não variou significativamente entre regimes hídricos (Fig. 9A). O número de folhas maduras, a razão entre folhas jovens e maduras e a área foliar total também não diferiram entre plantas controle e 1WD, mas essas variáveis foram respectivamente reduzidas em 37%, 50% e 37% nas plantas 3WD comparadas ao controle irrigado (Fig. 9B, C e D).

No híbrido Nigeria, não houve diferença significativa entre regimes hídricos em nenhum dos parâmetros de crescimento avaliados (Fig. 9E, F, G e H).

Figura 9: Variações no número de folhas jovens (**A e E**), número de folhas maduras (**B e F**), razão entre folha jovem e folha madura (**C e G**) e área foliar (**D e H**) em de dois híbridos de palma de óleo (Ghana e Nigéria) submetidos a plena irrigação (Controle) e a um (1WD) e três (3WD) eventos de déficit hídrico. Os dados são as médias \pm o erro padrão. Letras diferentes denotam diferenças significativas entre regimes hídricos (Teste Duncan, $P \leq 0,05$).



5 DISCUSSÃO

5.1 ALTERAÇÕES NAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Plantas saudáveis, bem nutridas e não estressadas produzem normalmente uma certa concentração de ROS em decorrência de seu metabolismo basal. Os principais sítios de produção de ROS são as cadeias de transporte de elétrons cloroplastídica (reações fotoquímicas da fotossíntese) e respiratória (Carvalho *et al.*, 2016). Outros processos metabólicos, em diferentes compartimentos celulares que apresentam alto fluxo de elétrons, como as mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos também podem levar a produção basal de ROS (Carvalho *et al.*, 2016).

Em plantas sob estresse, particularmente sob déficit hídrico, pequenos aumentos na concentração de ROS têm sido considerados como respostas sinalizadoras para que a planta desencadeie respostas adaptativas, por meio da regulação redox, que está firmemente inserida em quase todos os aspectos do desenvolvimento das plantas, interagindo com os principais reguladores de desenvolvimento e de defesa das plantas como: auxinas, ácido abscísico, citocininas, ácido salicílico, ácido e etileno, que podem influenciar profundamente as funções das plantas e o destino celular (Noctor *et al.*, 2018).

Por outro lado, em plantas sob déficit hídrico, a produção de ROS tende a aumentar consideravelmente. Essas moléculas são altamente reativas e podem causar danos severos a proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, comprometendo a integridade celular e a funcionalidade metabólica (Mittler, 2002). Para mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico, as plantas ativam uma série de mecanismos adaptativos, entre os quais se destaca o aumento da atividade de enzimas antioxidantes. Como relatado em outros estudos, tais como em mudas de feijão mungo (*Vigna radiata* L. cv. Binamoog-1), *Coffea canephora* (café) e *zea mays* (milho) (Pinheiro *et al.*, 2004; Nahar *et al.*, 2015; Loutfy *et al.*, 2020).

Desta forma, também foi observado no híbrido Ghana do presente estudo, em que as maiores atividades das enzimas antioxidantes SOD e APX foram em folhas jovens que passaram por ciclos repetidos de déficit hídrico. As enzimas são essenciais para a detoxificação das ROS e a proteção das células vegetais. E como só foi observado aumento significativo após o terceiro ciclo de déficit hídrico, entende-se que repetidos ciclos induziram uma maior estabilidade da enzima, o que pode permitir uma resposta antioxidante mais eficiente durante

subsequentes episódios de estresse, como foi relatado no estudo desenvolvido com soja (*Glycine max*) por Kim *et al.* (2020), arroz (*Oryza sativa*) por Tarun *et al.* (2020), em dois híbridos de trigo de inverno por Popova *et al.* (2023) e palma de óleo por Lopes Filho *et al.* (2024).

No presente estudo também as plantas que passaram por ciclos repetidos de déficit hídrico (3WD) mostraram uma capacidade aumentada de manter níveis baixos de peróxido de hidrogênio, sugerindo uma adaptação eficaz através do fortalecimento do ciclo antioxidante. Entretanto, as folhas jovens são mais sensíveis ao déficit hídrico do que as folhas maduras, visto que além do aumento nas atividades das enzimas, elas apresentam naturalmente médias altas de MDA, o que sugere maior degradação de lipídeos de membrana, como também foi observado em soja (*Glycine max*) (Kim *et al.*, 2020). Isto se dá porque as folhas jovens possuem uma composição bioquímica que as tornam mais suscetíveis ao dano oxidativo. Elas têm menores concentrações de antioxidantes como ascorbato e glutathione, e como ainda estão em desenvolvimento, o que as torna menos robustas contra os danos físicos e químicos, as paredes celulares são menos lignificadas e mais permeáveis, facilitando a infiltração e danos (Gill & Tuteja, 2010; Cosgrove, 2005).

Por outro lado, o híbrido Nigeria apresentou, em comparação ao híbrido Ghana, um comportamento metabólico diferente, pois nas folhas jovens das plantas estressadas não ocorreu aumento das enzimas antioxidantes e nem de MDA, porém ocorreu uma redução de peróxido de hidrogênio. Entretanto, no mesmo híbrido, o comportamento metabólico nas folhas maduras já diverge em relação ao peróxido de hidrogênio e MDA.

Em folhas jovens a redução de peróxido de hidrogênio sem alteração nas enzimas antioxidantes e MDA é um fenômeno que destaca a complexidade das respostas adaptativas das plantas. Sugerindo que essa resposta pode ser mediada por ajustes metabólicos e mecanismos de detoxificação não enzimáticos que minimizam a produção de ROS (Noctor & Foyer, 1998; Nahar *et al.*, 2015). E com essa eficiência de neutralização pelo sistema não enzimático, consequentemente também houve redução de aldeído malônico nas folhas jovens, visto que com a redução de ROS, reduz também a peroxidação lipídica e degradação de membranas.

Nas folhas maduras estressadas ocorreu aumento de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sem alterações significativas nas médias de MDA. Uma explicação é que os sistemas de detoxificação não enzimáticos, podem ser suficientemente eficazes para neutralizar o H₂O₂. Isso

pode evitar a necessidade de um aumento na atividade das enzimas antioxidantes, mantendo os níveis de MDA baixos e prevenindo danos oxidativos significativos (Noctor & Foyer, 1998).

Diante do comportamento metabólico dos dois híbridos, pode-se concluir que em ambos o déficit hídrico afetou mais o sistema antioxidante das folhas jovens, visto que são mais suscetíveis a danos causados pelo estresse devido à sua composição bioquímica e estrutura celular em desenvolvimento. Porém, a forma que respondem ao déficit hídrico repetitivo é diferente, Ghana responde prioritariamente através do sistema enzimático antioxidante, e Nigeria possivelmente priorizou o sistema não enzimático. Mas em ambos as folhas maduras não foram muito afetadas, o que pode ser explicado por sua maior estabilidade e menor sensibilidade ao déficit hídrico, visto que as avaliações foram feitas para obter resposta a curto prazo e o déficit hídrico ainda não foi severo.

5.2 COMPOSTOS NITROGENADOS, CARBONO E PIGMENTOS

O déficit hídrico repetitivo pode causar tanto a diminuição quanto o aumento temporário dos níveis de nitrogênio nas folhas das plantas, dependendo das condições específicas e das estratégias adaptativas das plantas. Desta forma, no híbrido Ghana, nas folhas jovens que já estavam no terceiro ciclo de déficit hídrico (3WD) ocorreram baixas concentrações de nitrogênio, porém as folhas maduras do mesmo tratamento apresentaram altas concentrações de nitrogênio.

Nas folhas jovens, a redução dos teores de N pode ser explicada pela diminuição na absorção de nitratos pelas raízes, devido à limitação do fluxo de água no solo para a planta. A água atua como um meio de transporte para os nutrientes, e a sua escassez pode reduzir a mobilidade e a disponibilidade de nitrogênio (Bista *et al.*, 2018), e como as folhas jovens tendem a ser mais sensíveis ao déficit hídrico podem expressar mais rápido a deficiência na absorção do nitrato. E nas folhas maduras, o aumento pode ser atribuído ao déficit hídrico repetitivo e a senescência foliar observada neste híbrido, o que pode levar ao aumento nos níveis de nitrogênio nas folhas de plantas, devido a mecanismos de redistribuição de nutrientes, degradação de compostos nitrogenados e concentração relativa resultante da redução da biomassa foliar.

Estudos de perfil metabólico indicam que aminoácidos se acumulam em folhas senescentes (Masclaux *et al.*, 2000; Schippers *et al.*, 2007). Como também estes podem ser realocados para síntese de novas proteínas. Dessa forma, a presença de aminoácidos livres

contribui para a manutenção da homeostase energética nas folhas senescentes e, simultaneamente, esses aminoácidos são transportados para tecidos drenos, como as folhas jovens, onde podem ser usadas na síntese de proteínas, o que pode explicar a redução nos teores de aminoácidos livres.

E nas folhas maduras estressadas deste híbrido, também ocorreu aumento significativo de carotenóides, constatando a resposta não enzimática para mitigar os efeitos negativos do estresse oxidativo, pois eles ajudam a neutralizar espécies reativas de oxigênio, estabilizam membranas celulares e contribuem para a fotoproteção (Sun *et al.*, 2022; Chormova *et al.*, 2023). A exemplo da violaxantina e a zeaxantina, que participam do ciclo das xantofilas, e regulam a dissipação de excesso de energia luminosa em calor, prevenindo danos às estruturas fotossintéticas (Takemura *et al.*, 2021).

Como também, existe uma relação entre os altos teores de nitrogênio e a síntese de carotenoides em plantas. Em tomates foi verificado que, quando cultivados em estufa, a aplicação de altas concentrações de nitrogênio aumentou significativamente a soma total de carotenóides, por tanto, N e carotenóides são positivamente correlacionados (Chormova *et al.*, 2023). Além disso, a regulação da biossíntese de carotenóides em plantas é influenciada por vários fatores, incluindo a disponibilidade de nutrientes. Desta forma, o nitrogênio, sendo um nutriente crucial, desempenha um papel significativo nesse processo. Além disso, a disponibilidade de nitrogênio pode afetar a expressão e a atividade de enzimas envolvidas na síntese de carotenóides, influenciando assim os níveis de carotenoides (Sun *et al.*, 2022). Isso indica que neste híbrido, os níveis mais altos de nitrogênio podem estar diretamente relacionadas aos de carotenóides, possibilitando uma relação entre o sistema antioxidante e a remobilização nitrogenada, visto que elevadas concentrações de carotenóides podem explicar as maiores concentrações de N, apesar de menores teores de aminoácidos livres.

No híbrido Nigeria só as folhas jovens apresentaram diferenças significativas nos compostos, aminoácidos, proteínas e carotenoides, entre o tratamento controle e as plantas estressadas. Foi observado elevadas concentrações de aminoácidos nas plantas 3WD e de proteínas nas plantas 1WD, como também reduzidas concentrações de carotenóides em 1WD e 3WD. Este fenômeno ocorre devido à degradação das proteínas, liberando aminoácidos como prolina, glutamina e asparagina (Hildebrandt, 2018; Ingrisano *et al.*, 2023).

A acumulação de aminoácidos livres serve como um mecanismo adaptativo, permitindo que a planta mantenha a integridade celular e continue seus processos metabólicos essenciais

mesmo sob condições adversas. Como também certas proteínas são expressas diferencialmente como forma adaptativa das plantas para enfrentar situações como estresse abiótico. Essas proteínas incluem enzimas antioxidantes, proteínas de choque térmico e proteínas relacionadas ao metabolismo osmótico (Kosová *et al.*, 2011).

A deficiência hídrica também pode induzir a produção de proteínas envolvidas no metabolismo osmótico, como as aquaporinas e proteínas relacionadas à síntese de osmólitos. Essas proteínas ajudam na manutenção da homeostase hídrica e na estabilização das membranas celulares (Bartels & Sunkar, 2005). Estudos demonstram que a expressão de aquaporinas aumentou significativamente sob estresse hídrico, ajudando a manter o fluxo de água nas células (Mishra *et al.*, 2023).

Além disso, foi observado menores médias de carotenóides nas folhas jovens, e sabe-se que essas folhas são particularmente vulneráveis ao déficit hídrico devido à sua alta taxa metabólica e menor capacidade de armazenamento de recursos. Estudos mostram que o déficit hídrico pode causar uma redução significativa nos níveis de carotenóides nas folhas, comprometendo sua capacidade de fotoproteção (Havaux, 1998). Essa redução nos carotenóides pode estar relacionada à degradação acelerada desses pigmentos ou à inibição de sua biossíntese. Como foi observado por Mibei *et al.* (2016) em um estudo desenvolvido com berinjelas africanas (*Solanum aethiopicum* e *S. macrocarpon*), que sob déficit hídrico apresentaram reduções nos teores de carotenóides.

As mudanças nos conteúdos bioquímicos evidenciam que em ambos os híbridos as folhas jovens são mais sensíveis ao déficit hídrico, porém a forma que estes respondem ao déficit é diferente. Ghana apresentou mais mudanças significativas nas folhas maduras das plantas 3WD, o que pode ser explicado como uma adaptação e resposta ao déficit repetitivo, visto que foi observado a senescência de folhas maduras neste híbrido. Entretanto, o híbrido Nigéria apresentou mudanças significativas nas folhas jovens das plantas estressadas, porém nas folhas maduras foi observado maior estabilidade diante do estresse, sugerindo que sob déficit hídrico repetitivo ou não, este híbrido consegue se manter mais estável durante deficiência moderada de água.

5.3 TROCAS GASOSAS FOLIARES E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA

No presente estudo, as reduções na *A* das plantas estressadas, de maneira mais expressiva em 1WD, indicam que o híbrido Ghana tem um aparato fotossintético

consideravelmente sensível ao déficit hídrico. Reduções em A também foram observadas em outros estudo com palma de óleo, só que neste estudo se apresentou mais atenuada por as análises serem feitas nos primeiros dias de estresse, em que o déficit hídrico não é severo (Silva *et al.*, 2016; 2017; Lopes Filho *et al.*, 2021). E essa assimilação de CO_2 se mostrou reduzida sem alterações na g_s , na C_i/C_a e na ETR. Este fenômeno sugere que limitações bioquímicas dentro das folhas, em vez de limitações estomáticas, são os principais responsáveis pela diminuição da fotossíntese. Uma das principais razões para esta diminuição é a inibição da atividade da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), que é fundamental no ciclo de Calvin-Benson para a fixação de CO_2 .

Além disso, a síntese de ATP e NADPH pode ser afetada pelo estresse hídrico, levando a uma menor regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP) e, conseqüentemente, a uma redução na fixação de CO_2 (Lawlor & Cornic, 2002). O que foi evidenciado neste estudo pelas reduções nas taxas de V_{cmax} das plantas estressadas. Esses efeitos podem ocorrer sem mudanças significativas na g_s , indicando que as limitações não-estomáticas são dominantes (Lawlor & Tezara, 2009). E como a redução foi mais expressiva em 1WD que em 3WD, sugere-se que o déficit hídrico repetitivo, neste híbrido, induz uma resposta favorável à fotossíntese ao final do período experimental, como também foi observado em trabalhos anteriores com palma de óleo (Lopes Filho *et al.*, 2021).

Em Ghana também foi observada uma diminuição na q_P e um aumento na NPQ, enquanto a ETR, a J_{max} e a F_v'/F_m' permaneceram inalterados. Esses achados sugerem um ajuste nos mecanismos fotoprotetores e uma manutenção da eficiência fotossintética básica, mesmo sob condições de estresse. A diminuição em q_P indica uma redução na capacidade da planta de utilizar a energia absorvida na fotossíntese, o que também foi observado em outros estudos com diversos materiais de palma de óleo (Liberato *et al.*, 2006; Suresh *et al.*, 2010, 2012; Bayona-Rodríguez *et al.*, 2016). Esse fenômeno pode ser atribuído a uma menor disponibilidade de CO_2 devido ao fechamento parcial dos estômatos, embora a g_s não seja necessariamente alterada significativamente, e por outro lado, o aumento na NPQ reflete um aumento nos mecanismos de dissipação de energia excedente como calor, um processo vital para proteger a maquinaria fotossintética contra danos foto-oxidativos (Lawlor e Cornic, 2002).

O aumento na NPQ sob estresse hídrico indica que as plantas estão ativando suas defesas fotoprotetoras para evitar o acúmulo de energia excessiva que não pode ser utilizada na fotossíntese (Baker, 2008). E a manutenção de ETR, J_{max} e F_v'/F_m' sugere que esses parâmetros

não são afetados inicialmente de maneira negativa pelo estresse hídrico. Isso pode ser resultado de ajustes metabólicos que mantêm a funcionalidade básica dos processos fotossintéticos, mesmo quando a disponibilidade de água é limitada (Murchie & Lawson, 2013). Esses mecanismos de dissipação de energia são cruciais para a sobrevivência das plantas em condições adversas, mantendo a integridade dos processos fotossintéticos essenciais (Lawlor e Cornic, 2002).

Neste híbrido foi observado também a diminuição na V_{cmax} e na C_c , o aumento na P_R , e a ausência de alteração na g_m . Isto ocorre porque a redução na disponibilidade de água afeta a atividade da Rubisco, possivelmente devido a mudanças na hidratação das folhas e no estado redox das células (Lawlor e Cornic, 2002). Além disso, a C_c também diminuiu, devido à limitação na difusão de CO_2 para o interior das células fotossintéticas. Associado a isto, alguns estudos indicam um aumento na P_R em certas condições de estresse hídrico, o que pode ser atribuído a atividade oxigenase da Rubisco, que reage com oxigênio em situações limitadas de CO_2 (Lawlor e Cornic, 2002). Surpreendentemente, estudos indicam que g_m pode permanecer relativamente estável mesmo sob estresse hídrico, essa estabilidade sugere que a difusão do CO_2 dentro do mesofilo não é o principal fator limitante da fotossíntese sob estresse hídrico em plantas de palma de óleo (Lawlor & Tezara, 2009). Em vez disso, as limitações parecem estar mais associadas à capacidade bioquímica de fixação de carbono.

No híbrido Nigeria, as reduções na A foram semelhantes, não diferindo significativamente entre 1WD e 3WD, o que sugere que neste híbrido no início do déficit não apresentou diferença entre as plantas que estava sendo estressadas pela primeira vez e as que já estavam no terceiro ciclo de déficit hídrico. Sem alterações na g_s e C_i/C_a , mas com reduções no ETR das plantas estressadas. Isso pode ocorrer porque o estresse hídrico pode levar ao aumento da produção de ROS nas folhas, que causam danos aos componentes celulares, incluindo proteínas envolvidas no transporte de elétrons e na fixação de CO_2 .

As ROS podem danificar diretamente a Rubisco e outras enzimas fotossintéticas, resultando em uma menor capacidade de fixação de CO_2 e redução no ETR (Mittler, 2002). A pesquisa realizada por Bayona-Rodríguez & Romero (2024) revelou que o déficit hídrico leva a uma diminuição significativa na assimilação de CO_2 , que é acompanhada por uma queda na ETR. E outro estudo de Moustakas *et al.* (2022) demonstrou que a redução na ETR sob estresse hídrico é frequentemente associada ao aumento da produção de ROS, que podem causar danos oxidativos às estruturas celulares, afetando ainda mais a capacidade fotossintética da planta.

A F_v'/F_m' é um indicador da eficiência da conversão de energia luminosa em energia química durante a fotossíntese. Uma diminuição neste parâmetro sob estresse hídrico sugere que a eficiência do PSII está comprometida. Essa redução pode ser atribuída a danos nos componentes fotossintéticos ou a uma regulação para evitar danos maiores, indicando um estado de fotoinibição (Maxwell & Johnson, 2000). E o aumento na NPQ permite à planta dissipar o excesso de energia luminosa como calor, ele aumenta em resposta ao acúmulo de energia não utilizada, uma estratégia crucial para a sobrevivência em condições adversas (Baker, 2008). No híbrido Nígeria as plantas 1WD demonstraram uma diminuição em F_v'/F_m' e um aumento em NPQ sob estresse hídrico, sem alterações significativas em J_{max} e q_P . Esses achados indicam que, embora a eficiência fotossintética seja reduzida, a planta ativa mecanismos fotoprotetores robustos para dissipar o excesso de energia luminosa, evitando danos maiores aos fotossistemas, como também foi observado nos estudos de Bayona-Rodríguez e Romero (2024).

Neste híbrido além de apresentar nas plantas estressadas aumento no P_R e reduções em V_{cmax} e C_c , apresentou também reduções na g_m , o que se refere à facilidade com que o dióxido de carbono se difunde do espaço intercelular nos estômatos para o cloroplasto, onde ocorre a fotossíntese. Sob condições de estresse hídrico, a g_m pode diminuir significativamente, afetando a capacidade da planta de fixar carbono e realizar a fotossíntese de maneira eficiente. O déficit hídrico reduz a g_m em plantas devido à desidratação das células do mesófilo e ao colapso parcial da estrutura das folhas, o que dificulta a difusão do CO_2 (Flexas *et al.*, 2004, 2007; Silva *et al.* 2016). Além disso, a redução na g_m pode levar a um aumento na fotorrespiração, como foi observado, resultando na perda de carbono e energia.

Quanto aos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência, pode-se sugerir que apesar dos dois híbridos apresentaram respostas semelhantes ao déficit hídrico, Ghana apresentou respostas mais eficientes e mais estabilidade nas plantas que já estavam no terceiro ciclo de déficit hídrico (3WD), como também apresentou menos danos ao aparato fotossintético no início do déficit hídrico. E Nígeria, não apresentou consideráveis diferenças quanto aos regimes hídricos, e foram observados danos ao aparato fotossintético, limitação na cadeia transportadora de elétrons e na difusão do CO_2 .

5.4 CRESCIMENTO EM NÚMERO DE FOLHAS E ÁREA FOLIAR

Quanto aos parâmetros de crescimento, o híbrido Ghana apesar de não apresentar diferenças significativas no número de folhas jovens, nos demais parâmetros, número de folhas

maduras, razão folha jovem e madura e área foliar, observou-se reduções significativas nas plantas 3WD. Isso se deve ao processo de senescência foliar observado nestas plantas, em que as folhas maduras estavam se tornando senescentes nas plantas que sofreram déficit hídrico repetitivo, corroborados por alterações nos teores de N e aminoácidos.

A senescência foliar induzida por deficit hídrico é um mecanismo que a planta utiliza para redução da área foliar, tendo como resultado direto a redução da transpiração e a conservação da água no solo (Anjum *et al.*, 2011). Ela envolve a degradação de clorofilas, carboidratos, lipídios, proteínas cloroplastídicas e ácidos nucleicos e contribui para a mobilização desses nutrientes de folhas velhas para tecidos em crescimento, como folhas jovens (Roberts *et al.*, 2012; Koyama, 2014).

Verificou-se senescência de folhas induzida por deficit hídrico em palma de óleo, cana-de-açúcar, milho-pipoca e duas linhagens de tomates (TOM-684 e M-82), em que ocorreu antecipação da senescência foliar quando a irrigação foi interrompida, e genótipos mais sensíveis ao deficit sofreram aceleração da senescência e da abscisão foliar (Vieira *et al.*, 2013; Morales *et al.*, 2015; Chagas *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2020). Assim, este híbrido apresenta a senescência como resposta positiva ao deficit hídrico e aclimatação quando este é repetitivo.

Entretanto, no híbrido Nigeria não foi observada senescência, nem alterações significativas nos parâmetros de crescimento avaliados em nenhum dos tratamentos. Demonstrando que essas plantas não apresentaram inicialmente danos ou adaptações morfológicas visíveis causadas pelo déficit hídrico nesses parâmetros.

6 CONCLUSÃO

No híbrido Ghana foi observado nas plantas que estavam sob déficit hídrico repetitivo (3WD) a ocorrência de senescência de folhas maduras que sugerem a ocorrência de remobilização nitrogenada de folhas maduras para folhas jovens. Ademias, este processo tem relação com o sistema antioxidante, reduzindo a ocorrência de danos celulares. Foram observadas altas concentrações de N e carotenóides e baixas concentrações de aminoácidos livres nas folhas maduras e menores concentrações de N e elevada atividade de enzimas antioxidantes nas folhas jovens, bem como não ocorreram alterações significativas nos parâmetros fotoquímicos.

O híbrido Nigeria apesar de ser menos sensível ao déficit hídrico, apresentou danos ao aparato fotossintético, pois foram observadas reduções em ETR e F_v/F_m nas plantas que estavam passando por déficit pela primeira vez (1WD), o que não foi observado nas plantas que estavam sob déficit hídrico repetitivo (3WD), sugerindo uma aclimação ao estresse ou memória ao estresse. Também ocorreram alterações bioquímicas significativas somente nas folhas jovens e não houve ativação do sistema antioxidante, pois não foram observadas alterações nas atividades das enzimas antioxidantes, bem como observou-se baixas concentrações de carotenóides neste híbrido.

Assim, os ajustes metabólicos observados não se mostraram conservados entre híbridos, ou seja, o padrão de resposta diferiu em vários aspectos. Avaliando-se os dados observados em conjunto, conclui-se que o híbrido Ghana se mostrou mais sensível ao déficit hídrico, pois ativou seu sistema antioxidante para atenuar as modificações causadas pelo estresse, aclimatando após o terceiro ciclo de déficit.

REFERÊNCIAS

ABRAPALMA - Associação Brasileira de Produtores de Palma de Óleo. **Déficit hídrico e impacto na produção de óleo de palma**, 001/2016a.

ABRAPALMA - Associação Brasileira de Produtores de Palma de Óleo. **O trabalho decente na cadeia brasileira da palma de óleo nota técnica nº 002/2016b**.

AGATI, G. et al. **Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance**. Plant Science, v. 196, p. 67-76, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>.

AINSWORTH, E. A.; GILLESPIE, K. M. **Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent**. Nature protocols, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>.

ANJUM, S. A. et al. **Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress**. African journal of agricultural research, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011. DOI: 10.5897/AJAR10.027.

APEL, K.; HIRT, H. **Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction.** *Annual Review of Plant Biology*, v. 55, p. 373-399, 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>.

AROCA, R.; PORCEL, R.; RUIZ-LOZANO, J. M.. **Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions.** *Journal of Experimental Botany*, v. 63, n. 1, p. 43–57, jan. 2012. <https://doi.org/10.1093/jxb/err266>.

ASADA, K. **Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions.** *Plant Physiology*, v. 41, p. 391–396, 2006. <https://doi.org/10.1104/pp.106.082040>.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. **Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance.** *Environmental and Experimental Botany*, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>.

AZZEME, A. M. et al. **Oil palm leaves and roots differ in physiological response, antioxidant enzyme activities and expression of stress-responsive genes upon exposure to drought stress.** *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 38, art. 52, 2016. DOI:10.1007/s11738-016-2073-2

BAKER, N. R. **Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo.** *Annual Review of Plant Biology*, v. 59, p. 89-113, 2008. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>.

BARTELS, D., & SUNKAR, R. **Drought and Salt Tolerance in Plants.** *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(1), 23–58. 2005. <https://doi.org/10.1080/07352680590910410>.

BASIRON, Y. **Palm oil production through sustainable plantations.** *Journal of Oil Palm Research*, v. 19, p. 101-104, 2007. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600223>.

BASTOS, T. X. et al. **Zoneamento de riscos climáticos para a cultura do dendzeiro no estado do Pará.** *Revista Brasileira de Agrometeorologia, Passo Fundo*, v. 9, n. 3, (Nº Especial: Zoneamento Agrícola), p. 564-570, 2001.

BAYONA-RODRÍGUEZ, C.; ROMERO, H. M. **Drought resilience in oil palm cultivars: A multidimensional analysis of diagnostic variables.** *Plants*, v. 13, n. 12, p. 1598, 2024. <https://doi.org/10.3390/plants13121598>.

BAYONA-RODRÍGUEZ, C.J.; OCHOA-CADAVID, I.; ROMERO, H.M. **Impacts of the dry season on the gas exchange of oil palm (*Elaeis guineensis*) and interspecific hybrid (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) progenies under field conditions in eastern Colombia.** *Agron. Colomb.* 34, 329–335. 2016. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n3.55565>.

BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. **Re-Aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings.** *Plant Physiology*, v. 116, n. 2, p. 651–658, 1998. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.651>.

BISTA, D. R. et al. **Effects of drought on nutrient uptake and the levels of nutrient-uptake proteins in roots of drought-sensitive and drought-tolerant grasses.** *Plants*, v. 7, n. 2, p. 28, 2018. <https://doi.org/10.3390/plants7020028>.

BOTA, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. **Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress?** *New Phytologist*, v. 162, p. 671–681, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01056.x>.

BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding.** *Anal. Biochem.* 72, 248–254, 1976. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

CAI, W. et al. **Increasing frequency of extreme El Niño events due to greenhouse warming.** *Nature Climate Change*, v.4, p. 111–116, 2014. <https://doi.org/10.1038/nclimate2100>.

CARILLO, P.; GIBBON, Y. **Protocol: extraction and determination of proline.** *PrometheusWiki*, 1–4, 2011.

CARVALHO, V.; CARVALHO NETO, A. A. **Espécies reativas de oxigênio em plantas.** *Laboratório de Ensino de Botânica*, v. 161, 2016.

CENTRITTO, M. et al. **Leaf gas exchange, carbon isotope discrimination, and grain yield in contrasting rice genotypes subjected to water deficits during the reproductive**

stage. Journal of experimental botany, v. 60, n. 8, p. 2325-2339, 2009.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erp123>.

CHAGAS, K. P. T. et al. **Fenologia do dendezeiro e correlações com variáveis climáticas.** Ciência Florestal, v. 29, p. 1701-1711, 2019.
<https://doi.org/10.5902/1980509822640>.

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. **Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant.** Functional Plant Biology, v. 29, n. 3, p. 239-249, 2003. DOI: 10.1071/FP02076.

CHORMOVA D. et al. **A aplicação de nitrogênio pode ser reduzida sem afetar o teor de carotenóides, maturação, prazo de validade e rendimento dos tomates em estufa.** *Plantas*. 12(7):1553. 2023.

CORE. **Oil palm leaves and roots differ in physiological response, antioxidant enzyme activities and expression of stress-responsive genes upon exposure to drought stress.** *CORE Reader*, 2022.

CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. BH. **The oil palm.** John Wiley & Sons, 2015.

CORLEY, R.H.V.; RAO, V.; PRAIWAN, T. **Breeding for drought tolerance in oil palm.** Journal of Oil Palm Research, v. 30, n. 1, p. 26-35, 2018.

CORLEY, R.H.V.; TINKER, P.B. **The Oil Palm, fifth edition.** Wiley-Blackwell, Oxford. 2016.

COSGROVE, D. J. **Growth of the plant cell wall.** Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 6, n. 11, p. 850-861, 2005.

DAMATTA, F. M.; RENA, A. B.. **Relações hídricas no cafeeiro.** SPCB (01. : 2000 : Poços de Caldas, MG) – Palestras [15]. 2002.

DIKILITAS, M.; SIMSEK, E.; ROYCHOUDHURY, A. **Role of Proline and Glycine Betaine in Overcoming Abiotic Stresses.** In: Roychoudhury, Aryadeep; Tripathi, Durgesh Kumar (Ed.). *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity, and Sustainability.* Wiley, 2020.

DING, Y.; FROMM, M.; AVRAMOVA, Z. **Multiple exposures to drought “train” transcriptional responses in Arabidopsis.** Nature Communications, v. 3, p. 740, 2012.

FAO. **FAO Statistical Yearbook.** 2023.

FARQUHAR, G. D.; VON CAEMMERER, S.; BERRY, J. A. **A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species.** Planta, v. 149, p. 78-90, 1980.

FLETA-SORIANO, E.; MUNNÉ-BOSCH, S. **Stress memory and the inevitable effects of drought: a physiological perspective.** Frontiers in Plant Science, v. 7, 2016.

FLEXAS, J. et al. **Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants.** Plant biology, v. 6, n. 03, p. 269-279, 2004.

FLEXAS, J. et al. **Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves.** Plant, Cell & Environment, v. 30, n. 10, p. 1284-1298, 2007.

FOYER, C.H. et al. **Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression.** Journal of Experimental Botany, v. 63, p. 1637-1661, 2012.

GALLAIS, A. et al. **Modelling postsilking nitrogen fluxes in maize (*Zea mays*) using ¹⁵N labelling field experiments.** The New Phytologist, v. 172, p. 696–707, 2006.

GALLE, A. et al. **The Mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi-deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and re-watering cycles.** Journal of Experimental Botany, v. 62, p. 5207–5216, 2011.

GALLE, A. et al. **The role of mesophyll conductance during water stress and recovery in tobacco (*Nicotiana sylvestris*): acclimation or limitation?** Journal of Experimental Botany, v. 60, p. 2379–2390, 2009.

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

GILL, S. S.; TUTEJA, N. **Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants.** Plant Physiology and Biochemistry, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOWDA, V. R. P. et al. **Water uptake dynamics under progressive drought stress in diverse accessions of the Oryza SNP panel of rice (*Oryza sativa*)**. *Functional Plant Biology*, v. 39, n. 5, p. 402-411, abr. 2012.

GREGERSEN, P. L., et al. **Plant senescence and crop productivity**. *Plant Molecular Biology*, 82(6), 603-622. 2013.

HASANUZZAMAN, M. et al. **Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator**. *Antioxidants*, v. 9, n. 8, p. 681, 2020.

HAVAUX, M. **Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts**. *Trends in Plant Science*, v. 3, n. 4, p. 147-151, 1998.

HILDEBRANDT, T.M. **Síntese versus degradação: direções do metabolismo de aminoácidos durante a resposta ao estresse abiótico de *Arabidopsis***. *Planta Mol Biol* **98**, 121–135. 2018.

HODGES, D.M. et al. **Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds**. *Planta*, v. 207, p. 604–611, 1999.

HU, T. et al. **Stress memory induced rearrangements of HSP transcription, photosystem II photochemistry and metabolism of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) in response to high-temperature stress**. *Frontiers in Plant Science*, v.6, p.403, 2015.

INGRISANO R. et al. **Prolina, cisteína e aminoácidos de cadeia ramificada na resposta ao estresse abiótico de plantas terrestres e microalgas**. *Plantas*. 12(19):3410. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal**. 2021.

KIM, Y.; et al. **Recurrent Drought Conditions Enhance the Induction of Drought Stress Memory Genes in *Glycine max* L**. *Frontiers in Genetics*, [S.l.], v. 11, 2020.

KOSOVÁ, K. et al. **Plant proteome changes under abiotic stress — Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response**. *Journal of Proteomics*, v. 74, n. 8, p. 1301-1322, 2011.

KOYAMA, T. **The roles of ethylene and transcription factors in the regulation of onset of leaf senescence.** *Frontiers in plant science*, v. 5, p. 650, 2014.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. **Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics.** *Annual Reviews. Plant Physiology. Plant Molecular Biology*, v. 42, p. 313–349, 1991.

LANDI, M. **Commentary to: “Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and Other interfering compounds” by Hodges et al.** *Planta*, v. 245, p. 1067, 2017.

LAWLOR DW.; CORNIC G. **Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants.** *Plant Cell Environ* 25:275–294. 2002.

LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. **Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes.** *Annals of Botany*, v. 103, n. 4, p. 561-579, 2009.

LIBERATO MAR, et al. **Leaf water potential, gas exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery.** *Braz J Plant Physiol* 18:315–323. 2006.

LICHTHENTHALER, H.K. **Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes.** *Methods in Enzymology*, v. 148, p. 350–382, 1987.

LOPES FILHO, W. R. L. et al. **Physiological responses of young oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plants to repetitive water deficit events.** *Industrial Crops and Products*, v. 172, 2021.

LOPES FILHO, W.R.L. et al. **Repeated water deficit events trigger adjustments in enzymatic antioxidant system in oil palm.** *Theor. Exp. Plant Physiol.* 36, 235–250. 2024.

LÓPEZ-HIDALGO, C. et al. **The Rainbow protocol: A sequential method for quantifying pigments, sugars, free amino acids, phenolics, flavonoids and MDA from a small amount of sample.** *Plant Cell Environment*, v. 44, n. 1, p. 1977–1988, 2020.

LOUTFY N.; AZOOZ M.; ABOU A. MF. **Exogenously-applied salicylic acid and ascorbic acid modulate some physiological traits and antioxidative defense system in *Zea mays* L seedlings under drought stress.** *Egypt J Bot* 60(1):313–324. 2020.

MAE, T.; MAKINO, A.; OHIRA, K. **Changes in the amounts of ribulose biphosphate carboxylase synthesized and degraded during the life span of rice leaf (*Oryza sativa* L.).** *Plant and Cell Physiology*, v. 24, n. 6, p. 1079-1086, 1983.

MARTINS S. C. et al. **Improving the estimation of mesophyll conductance to CO₂: on the role of electron transport rate correction and respiration.** *Journal of Experimental Botany*, v. 6411, p.3285-3298. 2013.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. **Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture.** *Annals of Botany*, v. 105, n. 7, p. 1141-1157, 2010.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. **Chlorophyll fluorescence—a practical guide.** *Journal of Experimental Botany*, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MEIJAARD, E. et al. **The environmental impacts of palm oil in context.** *Nature plants*, v. 6, n. 12, p. 1418-1426, 2020.

MEJÍA-ALVARADO, F.S. **Integrative Analysis of Transcriptomic Profiles and Physiological Responses Provide New Insights into Drought Stress Tolerance in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.).** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, 8761, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25168761>

MÉNDEZ, Y.D.R. et al. **Physiological response of oil palm interspecific hybrids (*Elaeis oleifera* H.B.K. Cortes versus *Elaeis guineensis* Jacq.) to water déficit.** *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 24, n. 4, p. 273-280, 2012.

MENEZES-SILVA, P.E. et al. **Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee.** *J. Exp. Bot.* 68, 4309–4322. 2017.

MIBEI, Elias K. et al. **Carotenoid profiling of the leaves of selected African eggplant accessions subjected to drought stress.** *Food Science & Nutrition*, [S.l.], v. 4, n. 6, p. 1021-1031, 2016.

MISHRA, A. et al. **Expressão gênica de aquaporinas em plantas sob condição de estresse.** In: Singh, D., Mishra, A.K., Srivastava, A.K. (eds) *Fatores Responsivos ao Estresse e Agricultura Molecular em Plantas Mediciniais.* Springer, Cingapura. 2023.

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

MORALES, R. G. F. et al. **Caracterização do tomateiro submetido ao déficit hídrico.** *Scientia Agraria*, v. 16, n. 1, p. 9-17, 2015.

MOUSTAKAS, M.; SPERDOULI, I.; MOUSTAKA, J. **Early Drought Stress Warning in Plants: Color Pictures of Photosystem II Photochemistry.** *Climate*, v. 10, n. 11, art. 179, 2022.

MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. **Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications.** *Journal of Experimental Botany*, v. 64, n. 13, p. 3983-3998, 2013.

NAHAR K. et al. **Glutathione-induced drought stress tolerance in mung bean: coordinated roles of the antioxidant defence and methylglyoxal detoxification systems.** *AoB Plants* 7. 2015.

NAKANO Y.; ASADA K. **Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts.** *Plant Cell Physiol* 22:867–880. 1981.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. **Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control.** *Annual Review of Plant Biology*, v. 49, p. 249-279, 1998.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. **Intracellular Redox Compartmentation and ROS-Related Communication in Regulation and Signaling.** *Plant Physiology*, v. 171, n. 3, p. 1581–1592, jul. 2016.

NOCTOR, G.; REICHHELD, J. P.; FOYER, C. H. **ROS-related redox regulation and signaling in plants.** *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v. 80, p. 3-12, 2018.

NOSALEWICZ, A. et al. **The functioning of *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne* under drought is improved to a different extend by the previous exposure to water deficit.** *Environmental and Experimental Botany*, v. 156, p. 271–278, 2018.

OLIVEIRA, U. A. et al. **Senescência foliar acelerada pelo estresse hídrico no solo em milho-pipoca**. In: Congresso Fluminense de Pós-Graduação-CONPG. 2020.

ONG-ABDULLAH, M. et al. **Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm**. *Nature*, 525, 533-537. 2015.

PARVIN, K.; et al. **Plant Phenolic Compounds for Abiotic Stress Tolerance**. In: Hasanuzzaman, m.; Ahammed, g. J.; Nahar, k. (Eds.). *Managing Plant Production Under Changing Environment*. Springer, Singapore. p. 123-140. 2022.

PENNA, S. A. **Oil Palm: Cultivation, Production and Dietary Components**. Estados Unidos: Nova Science Publishers. 2011.

PEOPLES, M. B.; DALLING, M. J. **The interplay between proteolysis and amino acid metabolism during senescence and nitrogen reallocation**. *Senescence and aging in plants*, p. 181-217, 1988.

PETROV, V. D.; VAN BREUSEGEM, F. **Hydrogen peroxide—a central hub for information flow in plant cells**. *AoB PLANTS*, v. 2012, p. pls014, jun. 2012.

PINELLI, P.; LORETO, F.. **12CO₂ emission from different metabolic pathways measured in illuminated and darkened C₃ and C₄ leaves at low, atmospheric and elevated CO₂ concentration**. *Journal of Experimental Botany*, v. 54, n. 388, p. 1761-1769, 2003.

PINHEIRO HA, et al. **Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought**. *Plant Sci* 167:1307–1314. 2004.

POPOVA AV. et al. **Diferentes respostas ao déficit hídrico de duas variedades comuns de trigo de inverno: características fisiológicas e bioquímicas**. *Plantas*. 12(12):2239. 2023.

RAZA, A. et al. **Impact of Climate Change on Crops Adaptation and Strategies to Tackle Its Outcome: A Review**. *Plants*, v. 8, n. 2, p. 34, 30 jan. 2019.

ROBERTS, I. N. et al. **Senescence-associated proteases in plants**. *Physiologia Plantarum*, v. 145, n. 1, p. 130-139, 2012.

RODEGHIERO, M.; NIINEMETS, Ü. L. O.; CESCATTI, A. **Major diffusion leaks of clamp-on leaf cuvettes still unaccounted: how erroneous are the estimates of Farquhar et al. model parameters?**. *Plant, cell & environment*, v. 30, n. 8, p. 1006-1022, 2007.

RONTEIN, D.; BASSET, G.; HANSON, A. D. **Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants**. *Metabolic Engineering*, v. 4, n. 1, p. 49-56, 2002.

SAGE, R. F.; PEARCY, R. W. **The nitrogen use efficiency of C3 and C4 plants: II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.)**. *Plant physiology*, v. 84, n. 3, p. 959-963, 1987.

SCHIPPERS, J. H. M. et al. **Developmental and hormonal control of leaf senescence**. *Senescence processes in plants*, v. 26, p. 145-170, 2007.

SEDAP. **Dados Agropecuários: Dendê**. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca (Accessed 01 janeiro 2023). <http://www.sedap.pa.gov.br/dados-agropecuarios/agropecuaria>, 2020.

SHARKEY, T. D. et al. **Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves**. *Plant Cell Environ.* 30, 1035–1040. 2007.

SILIM, S. et al. **Leaf gas exchange and water potential responses to drought in nine poplar (*Populus spp.*) clones with contrasting drought tolerance**. *Trees*, v. 23, p. 959-969, 2009. DOI 10.1007/s00468-009-0338-8.

SILVA, L. V. et al. **Caracterização e controle de qualidade do óleo de palma encapsulado: análise dos teores de ferro, cobre e fósforo para garantia da qualidade do produto**. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação, [S. l.]*, v. 10, n. 6, p. 819–827, 2024. DOI: 10.51891/rease.v10i6.14395.

SILVA P.A., et al. **Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm hybrids**. *Trees* 30:203–214. 2016.

SILVA, P.A., et al. **Drought tolerance in two oil palm hybrids as related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth**. *Acta Physiol. Plant.* 39, 58. 2017.

SILVA, X. F.; PRODOSSIMO G. M.; D'AMELIO, M. T. S. **Desenvolvimento e análise de gel-creme hidratante contendo óleo de coco e óleo de palma.** Revista Ensaios Pioneiros, [S. l.], v. 6, n. 1, 2023. DOI: 10.24933/rep.v6i1.267.

SUN, T. et al. **Plant carotenoids: recent advances and future perspectives.** *Mol Horticulture* 2, 3.2022.

SURESH K. et al. **Changes in photosynthetic activity in five common hybrids of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under water deficit.** *Photosynthetica* 50:549–556. 2012.

SURESH, K., et al. **Gas-exchange characteristics, leaf water potential and chlorophyll a fluorescence in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under water stress and recovery.** *Photosynthetica* 48, 430–436. 2010.

SZABADOS L.; SAVOURÉ A. **Proline: a multifunctional amino acid.** *Trends in Plant Science*, [s.l.], 24 dez. 2009.

TAKEMURA, M., SAHARA, T. & MISAWA, N. **Violaxantina: função e ocorrência natural, biossíntese e produção heteróloga.** *Appl Microbiol Biotechnol* 105, 6133–6142. 2021.

TARUN J. A. et al. **Transcriptômica comparativa e redes de co-expressão revelam respostas específicas de tecido e genótipo de *qDTYs* ao estresse hídrico em estágio reprodutivo em arroz (*Oryza sativa* L.).** *Genes*. 11(10):1124. 2020.

TEZARA W. et al. **Photosynthetic activity of oil palm (*Elaeis guineensis*) and interspecific hybrid genotypes (*Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*), and response of hybrids to water deficit.** *Scientia Horticulturae*, Volume 287, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110263>.

TIBURCIO, A. F. et al. **The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress.** *Planta*, v. 240, p. 1–18, jul. 2014.

VALENTINI, R. et al. **In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply.** *Plant, Cell & Environment*, v. 18, n. 6, p. 631-640, 1995.

VELIKOVA V.; YORDANOV I.; EDREVA A. **Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines.** *Plant Sci* 151:59–66. 2000.

VENTURIERI, A. et al. **Expressão do cultivo da palma de óleo no Pará (1985-2021).** 2023.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. **Proline accumulation in plants: a review.** *Amino Acids*, v. 35, n. 4, p. 753-759, 2008.

VIANA, J.L., et al. **Respostas fisiológicas e produtivas da palma de óleo irrigada em fase inicial de desenvolvimento.** *Irriga*, v. 24, p. 405- 423, 2019.

VIEIRA, G. H. S. et al. **Época de interrupção da irrigação na cultura da cana-de-açúcar.** *Irriga*, v. 18, n. 3, p. 426-441, 2013.

XIN, L. et al. **Physiological and proteomic analysis of maize seedling response to water deficiency stress.** *Journal of Plant Physiology*, v. 228, p. 29-38, 2018.

YEHOUESSI, L.W. et al. **Genotypic variability in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) towards drought damages in Benin (West Africa).** *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, v. 13, p. 1737-1746, 2019.

YONO, D., et al. **Physiology and genotyping of adaptive and sensitive oil palm progenies under unwatered stress condition.** *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, v. 293, 2019.