



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG
Programa de Pós-graduação – Ciências Ambientais

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Alfenas - MG CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1379(Coordenação) / (35) 3299-1392 (Secretaria)
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/>



Priscila Vasconcellos Romanatti

**Alterações fisiológicas e anatômicas em folhas de berinjela
pela sensibilidade à radiação Ultravioleta-B**

Alfenas-MG

2017



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG
Programa de Pós-graduação – Ciências Ambientais

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Alfenas - MG CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1379(Coordenação) / (35) 3299-1392 (Secretaria)
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/>



Priscila Vasconcellos Romanatti

**Alterações fisiológicas e anatômicas em folhas de berinjela
pela sensibilidade à radiação Ultravioleta-B**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL-MG.

Orientador: Marcelo Polo

Co-orientador: Thiago Corrêa de Souza

Alfenas-MG

2017



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG
Programa de Pós-graduação – Ciências Ambientais

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Alfenas - MG CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1379(Coordenação) / (35) 3299-1392 (Secretaria)
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/>



PRISCILA VASCONCELLOS ROMANATTI

“Alterações fisiológicas e anatômicas em folhas de berinjela pela sensibilidade a radiação Ultravioleta-B”

A Banca julgadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 11 de dezembro de 2017.

Prof. Dr. Marcelo Polo

Instituição: UNIFAL –MG

Assinatura: _____

Prof. Dr. Márcio Paulo Pereira

Instituição: UFLA

Assinatura: _____

Prof. Dr. Adriano Bortolotti da Silva

Instituição: UNIFENAS

Assinatura: _____

Aos meus pais, Elinor e Osmir,
pelo amor e apoio incondicional,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Marcelo Polo, pelo patrocínio, ensinamentos e confiança depositada durante os vários anos de convívio;

Ao meu co-orientador, Thiago, pela paciência em me ensinar e auxiliar na pesquisa;

Aos professores colaboradores, Fabrício e Plínio que tanto me auxiliaram nos conhecimentos obtidos;

Aos laboratórios, Biogen, Plantas Medicinais e Bioquímica, que sempre me receberam com muito carinho;

Às funcionárias dos laboratórios, Dona Ciomara e Marilda;

À secretária da Pós, Denise, por ser o equilíbrio e calma com os alunos do programa;

Aos amigos de caminhada no mestrado, Carol, Antônio, Leila, Valdir, Valquíria, Kamilla, Elba e Gabriela Ezequiel, pela grande ajuda durante esses anos, seja com as metodologias nos laboratórios e estudos, como nas risadas e distrações;

Em especial, a Gabriela, minha companheira de mestrado e amiga para a vida;

Aos meus pais, Elinor e Osmir, que sempre me apoiaram nas minhas decisões com muito amor e carinho, nada disso seria possível sem vocês;

Aos meus irmãos, Pati e Sandro, pelo total apoio e incentivo aos meus estudos;

Ao meu namorado e companheiro, Gustavo, pela compreensão e amparo nos diversos momentos desses anos;

E, sobretudo, a Deus, pela vida e saúde dadas.

O valor fundamental da vida depende da percepção e do poder de contemplação ao invés da mera sobrevivência.

Aristóteles

Resumo

Diversos estudos mostram que o aumento de radiação UVB pode ser prejudicial às plantas agrícolas dependendo de suas espécies e cultivares. Também pode afetar a fotossíntese e bioquímica delas, sendo capaz de alterar sua produtividade comercial. No presente estudo, plantas de berinjela (*Solanum melongena* L.) foram usadas com o objetivo de investigar as alterações ocorridas nas folhas após a exposição à radiação UVB. Mudanças com 40 dias de idade foram colocadas em gabinete com luz fluorescente branca (40 w) para o controle e, para o tratamento, a luz branca foi suplementada com lâmpada de radiação UVB (8 w, 306 nm) com exposição por 6 horas diárias durante 49 dias. Foram realizadas medidas de trocas gasosas, fluorescência da clorofila, anatomia e quantificação de enzimas antioxidantes ao final do experimento. Dentro dessas análises foram avaliadas a fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E), concentração intercelular de CO_2 (Ci) e eficiência de carboxilação (A/Ci). Os parâmetros da fluorescência foram: a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (PSII) (Fv/Fm), o rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), rendimento quântico da dissipação não fotoquímica não regulado (Φ_{NO}), o rendimento quântico da dissipação não fotoquímica regulado (Φ_{NPQ}) e a taxa de transporte de elétrons (ETR). Para a anatomia foliar foi medido a espessura do limbo foliar, espessura da epiderme da face abaxial, espessura da epiderme da face adaxial, espessura do parênquima paliçádico, espessura do parênquima esponjoso, proporção entre parênquima paliçádico e parênquima esponjoso, proporção do espaço intercelular do parênquima paliçádico, proporção do espaço intercelular do parênquima esponjoso, largura do cloroplastídeo do parênquima paliçádico, comprimento do cloroplastídeo do parênquima paliçádico, largura do cloroplastídeo do parênquima esponjoso, comprimento do cloroplastídeo do parênquima esponjoso, número de cloroplastídeo no parênquima paliçádico e número de cloroplastídeo no parênquima esponjoso. Foi quantificada a atividade das enzimas antioxidantes, SOD, CAT e APX e peroxidação lipídica. Houve decaimento na taxa fotossintética e na eficiência de carboxilação nas plantas tratadas com UVB, não havendo modificação na condutância estomática e transpiração e obtendo acúmulo de CO_2 nas folhas. Pela análise de fluorescência, as folhas apresentaram menor taxa de transporte de elétrons e houve diminuição da eficiência dos fotossistemas na conversão da energia para produtos fotoquímicos. A epiderme abaxial ficou muito degradada. O parênquima paliçádico se tornou a primeira barreira contra a radiação UVB, se tornando menor e mais compacto a fim de diminuir a incidência sobre o parênquima esponjoso e assim continuar a sua atividade fotossintética. O acúmulo de CO_2 indica que as enzimas fixadoras, perderam sua capacidade de carboxilação, dado pela queda de 80% na eficiência de carboxilação. O excesso de elétrons provocado pelos danos nos fotossistemas e a falta de carboxilação, leva-se a acreditar que geraram EROs. Houve um aumento de SOD e APX e uma diminuição de CAT. Por conta do decréscimo da atividade de CAT, a APX teve que compensar sua falta. Afirma-se que a radiação UVB, mesmo em baixa dose, afetou negativamente as plantas de berinjelas. Portanto, conclui-se que o aumento da incidência de UVB, irá ser prejudicial à produção econômica de plantas de berinjela, com menores biomassas e como consequência menor produtividade.

Palavras-chave: *Solanum melongena*, UVB, trocas gasosas, fluorescência da clorofila, anatomia foliar, enzimas antioxidantes

Abstract

Several studies show that the increase of UVB radiation can be harmful to agricultural plants depending on their species and cultivars. It can also affect the photosynthesis and biochemistry of them, being able to change their commercial productivity. In the present study, eggplant plants (*Solanum melongena* L.) were used to investigate changes in leaves after exposure to UVB radiation. 40 days old seedlings were placed in a white fluorescent cabinet (40 w) for control and for treatment the white light was supplemented with a UVB (8 w, 306 nm) lamp with exposure for 6 hours daily for 49 days. Measurements of gas exchange, chlorophyll fluorescence, anatomy and quantification of antioxidant enzymes were performed at the end of the experiment. Within these analyzes were evaluated liquid photosynthesis (A), stomatal conductance (gs), transpiration (E), intercellular CO₂ concentration (Ci) and carboxylation efficiency (A/Ci). The fluorescence parameters were: the maximum photochemical efficiency of photosystem II (PSII) (Fv / Fm), the effective quantum yield of PSII (Φ PSII), quantum yield of non-photochemical dissipation (Φ NO), quantum yield of non-photochemical regulated dissipation (Φ NPQ) and the electron transport rate (ETR). For the leaf anatomy, the thickness of the leaf limb, thickness of the epidermis of the abaxial face, thickness of the epidermis of the adaxial face, thickness of the palisade parenchyma, thickness of the spongy parenchyma, proportion of palisade parenchyma and spongy parenchyma, proportion of the intercellular space of the parenchyma palisade parenchyma width, chloroplast length of the palisade parenchyma, width of the chloroplast of the spongy parenchyma, length of the chloroplast of the spongy parenchyma, number of chloroplast in the palisade parenchyma and number of chloroplast in the parenchyma spongy. The activity of antioxidant enzymes, SOD, CAT and APX and lipid peroxidation were quantified. There was a decrease in the photosynthetic rate and in the efficiency of carboxylation in plants treated with UVB, with no change in stomatal conductance and transpiration and obtaining CO₂ accumulation in the leaves. By the fluorescence analysis, the leaves presented a lower rate of electron transport and there was a decrease in the efficiency of the photosystems in the conversion of energy to photochemical products. The adaxial epidermis was much degraded. The palisade parenchyma became the first barrier against UVB radiation, becoming smaller and more compact in order to decrease the incidence on the spongy parenchyma and thus continue its photosynthetic activity. The accumulation of CO₂ indicates that the fixing enzymes have lost their carboxylation capacity, given by the 80% drop in the carboxylation efficiency. The excess of electrons caused by the damages in the photosystems and the lack of carboxylation, leads one to believe that they generated EROs. There was an increase in SOD and APX and a decrease in CAT. Due to the decrease in CAT activity, APX had to compensate for its lack. It is stated that UVB radiation, even at low dose, negatively affected the vitality of the eggplants. Therefore, it is concluded that the increase in UVB incidence will be detrimental to the economical production of eggplant plants, with lower biomass and consequently lower productivity.

Key-words: *Solanum melongena*, UVB, photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence, leaf anatomy, antioxidant enzymes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- Φ PSII - Rendimento quântico efetivo do fotossistema II
- Φ NO - Rendimento quântico da dissipação não fotoquímico não regulado
- Φ NPQ - Rendimento quântico da dissipação não fotoquímico regulado
- ETR - Taxa de transporte de elétrons
- Fo - Fluorescência inicial
- Fm - Fluorescência máxima
- Fv/Fm - Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II
- NPQ - Quenching não-fotoquímico
- PE – Parênquima esponjoso
- PP – Parênquima paliçádico
- PSII – Fotossistema II
- qP - Quenching fotoquímico
- UVB - Ultravioleta B

Sumário

Capítulo 1	11
1. Introdução.....	11
2. Revisão de literatura	11
2.1 <i>Solanum melongena</i> L.	11
2.2 Radiação ultravioleta e as mudanças climáticas.....	13
2.3 Impactos do aumento da radiação ultravioleta sobre os vegetais.....	14
3. Justificativa.....	19
4. Objetivos gerais e específicos.....	19
5. Referências Bibliográficas	19
Capítulo 2.....	24
Introduction.....	26
Materials and Methods	27
Gas exchanges and chlorophyll a fluorescence.....	28
Biochemical activity.....	29
Leaf anatomy	29
Statistical analysis.....	30
Results	30
Discussion	35
Conclusion.....	37
Acknowledgements	37
References	38

Capítulo 1

1. Introdução

As mudanças ocorridas no meio ambiente afetam severamente o metabolismo das plantas, podendo causar estresses ou não. Isso irá depender da tolerância que a planta possui para suportar as alterações no ambiente. Estudos desde 1960 mostram que a camada de ozônio está sendo destruída (BAIS et al. 2015), e assim provocando uma maior incidência de radiação ultravioleta B na superfície terrestre (BALLARÉ et al., 2011).

A maior incidência de radiação UVB pode causar alterações nas plantas trazendo o benefício ou prejuízo (THOMAS & PUTHUR, 2017), principalmente em plantas de cultura, no qual se tem o interesse em produtos econômicos e a UVB pode causar danos à produção de diversas espécies agrícolas (WANG & FREI, 2011).

A berinjela é cultivada mundialmente, principalmente nos países asiáticos, onde é originária (JAVED, 2017). O maior interesse em frutos de berinjela surgiu após a medicina popular afirmar que ela possui diversos benefícios para a saúde humana e assim estudos atuais realmente mostram que sua produção de metabolitos secundários é importante para nossa saúde (KAUSHIK et al., 2017; RAO & KUMAR, 2017). Como então a produção de berinjela tem aumentado nos últimos anos, procurou-se investigar a partir dessa pesquisa os efeitos que o possível estresse por radiação ultravioleta B poderia causar em plantas de berinjela, para saber como a planta se aclimataria em um futuro com uma alta incidência de UVB.

2. Revisão de literatura

2.1 *Solanum melongena* L.

Solanum melongena L., conhecida como berinjela, é uma espécie pertencente à família da Solanaceae, assim como outras espécies agrícolas pimentão, jiló, tomate, batata, tabaco e *Physalis* (HINNAH, 2014). A espécie é

originária na Índia, mas foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2008).

As folhas de berinjela são simples, com limbo foliar de formato ovado ou oblongo-ovado, e, dependendo da espécie, pode apresentar espinhos (SILVA et al., 2012). A planta possui ramificações bem desenvolvidas, sistema radicular pivotante e profundo, com flores hermafroditas e baixa incidência de polinização cruzada. Os frutos são bagas carnosas, de formato e cores variadas, dependendo da espécie, mas a mais conhecida e vendida é a roxo-escura com cálice verde e formato alongado (BOSCO et al, 2009).

As plantas híbridas são as mais utilizadas pelo mercado brasileiro, por conta da sua alta vigorosidade, maior produtividade e tolerância às pragas e doenças, uniformidade das plantas e frutos e maior adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (ANTONINI et al., 2002; EMBRAPA HORTALIÇAS, 2017). Os híbridos F1000, Super F100, Nápoli e Ciça têm sido os mais cultivados no Brasil atualmente (WEBER et al, 2013).

A berinjela é uma cultura olerícola muito importante no Brasil e no mundo, sendo sua produção de grande relevância em regiões tropicais e subtropicais. Ela é cultivada principalmente em países como Índia, Bangladesh, Paquistão, China, Filipinas, Egito, França, Itália e Estados Unidos (RAO & KUMAR, 2017). Cerca de 50% da produção mundial se encontra no sudeste asiático e é muito utilizada para alimentação de pessoas de várias classes sociais, onde a queda de sua produção pode levar a sérios prejuízos para a economia e para a população (JAVED, 2017).

O aumento do interesse nos frutos da berinjela se deve aos nutrientes que a fruta contém. Na medicina popular é usada por conter substâncias que ajudam a combater o colesterol e com propriedades bioativas derivadas de altos conteúdos de compostos fenólicos (KAUSHIK et al., 2017).

Em 2016, de acordo com o Instituto de Economia Agrícola, no estado de São Paulo, os sistemas de produção de berinjela ocuparam uma área de 1.477,40 ha, e produziram cerca de 49 t de berinjela no ano.

2.2 Radiação ultravioleta e as mudanças climáticas

O Sol emite energia em praticamente todos os comprimentos de onda do espectro eletromagnético. Aproximadamente 44% de toda essa energia emitida se concentram entre 400 e 700 nm, denominado como espectro visível de energia (INPE, 2015). No espectro eletromagnético, a radiação ultravioleta (UV) é a parte referente a os comprimentos de onda entre 100 e 400 nm e pode ser divididos em três intervalos: UV A (400 – 320 nm), UV B (320 – 280 nm) e UV C (280 – 100 nm) (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

A camada de ozônio está localizada na altitude entre os 25 e 35 km da estratosfera da Terra (OKUNO & VILELA, 2005). O ozônio (O_3) é formado através da junção de um a molécula de O_2 (oxigênio) com um átomo de O e este último, é formado a partir da quebra de uma molécula de O_2 por um fóton de UV com comprimento de onda menor que 242 μm . A destruição do O_3 provém de um fóton de comprimento de onda menor que 315 μm , onde é dissociado em O_2 e O.

Portanto, na camada de ozônio ocorre o equilíbrio entre a destruição e a formação das moléculas de ozônio (O_3), fazendo com que haja a absorção de todo o UVC e parte da UVB que chega à superfície da Terra (MMA, 2015).

O aumento de substâncias que degradam o ozônio (ODSs), como os clorofluorcarbonetos e hidrocarbonetos que chegam à estratosfera, interagem com o O_3 , e degrada seu acúmulo na camada, ou seja, há uma diminuição na espessura da camada e assim uma maior incidência de radiação UVB chega à superfície da Terra (CHOUDHARY & AGRAWAL, 2017). Esse aumento de radiação ultravioleta é mostrado por satélites e modelos matemáticos entre os anos de 1979 e 2008, em todas as latitudes, mas principalmente nas latitudes médias e altas do hemisfério sul (BALLARÉ et al., 2011).

Em 1987, foi criado o Protocolo de Montreal, o qual visa à proteção da camada de ozônio e assim, a diminuição da incidência de radiação UV na superfície terrestre, na tentativa de vários países eliminarem a emissão dos CFCs, HCFCs e outras DOSs de seus rejeitos industriais (PREVIDI & POLVANI, 2017). Pode-se dizer que o tratado teve um bom resultado, evidenciando-se que os esforços feitos pelos países que assinaram o tratado,

provocaram um controle significativo no decréscimo das DOSs e conseqüentemente, uma melhora no clima local, como a menor intensidade dos ciclones tropicais e a menor quantidade de substâncias do efeito estufa na atmosfera (NEPPE UNITED, 2017; PREVIDI & POLVANI, 2017).

Apesar das diferenças positivas encontradas em pesquisas recentes, as mudanças na nebulosidade, nos padrões de circulação atmosférica, a influência das mudanças climáticas e a variabilidade da atmosfera tornam os dados imprecisos para ter a certeza de que a coluna total de ozônio está mesmo se recuperando. Em pesquisa feita pela análise de gelo, concluiu-se que quatro novas substâncias estão sendo geradas em substituição aos já conhecidos CFCs e HCFCs e que possuem potencial de continuar o processo de depleção da camada de ozônio. Portanto, vários fatores podem causar a maior incidência de UVB na Terra, induzindo assim a falta de certezas sobre o futuro da climatologia da UV (APHOLO et al., 2015; BAIS et. al, 2014; LAUBE et al., 2014).

2.3 Impactos do aumento da radiação ultravioleta sobre os vegetais

Com o aumento da atividade humana, diversos estresses abióticos estão se tornando cada vez mais graves e perigosos para as plantas que recebem diretamente todo o efeito delas, e assim há uma grande preocupação com a produção de alimentos, pois é calculado que até 2050 haverá cerca de 9 bilhões de pessoas no mundo (THOMAS & PUTHUR, 2017).

Muitos estudos mostram que diversas espécies, de culturas e florestais podem ter sensibilidade ou não à radiação UV, porém isso é variável de acordo com a espécie, a cultivar e as condições de crescimento (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014). Além disso, pesquisas mais recentes estão aprofundando os estudos em relação às diferenças específicas, como a maior sensibilidade de eudicotiledôneas em comparação com monocotiledôneas (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014), entre indivíduos machos e fêmeas em que as modificações pelo aumento de UVB são baseadas nas diferenças sexuais (CHEN et al., 2016).

Em diversas plantas, pode-se utilizar a UVB para estimular o fornecimento de metabólitos secundários, muito utilizados em espécies

medicinais, e que se usadas em baixa dose, não traz prejuízos à planta, somente o acréscimo do metabólito necessário (ZHANG & BJÖRN, 2009).

Modificações foliares

A folha é o principal órgão dos vegetais, responsável pela aclimação frente às modificações ocorridas no meio ambiente (ESPOSITO-POLEZI et al., 2011). Cerca de 10% da radiação UVB que atinge a folha é refletido e a transmissão de radiação pela epiderme fica entre 0 a 40%. Alterações ópticas na superfície das folhas podem atenuar a refletância de UVB, a fim de evitar uma maior absorção de UVB pelas folhas (KAKANI et al., 2003a). Dependendo da sensibilidade que a espécie vegetal apresenta à radiação, diferentes defesas são desenvolvidas para evitar os danos da alta energia da UVB.

Com o intuito de proteção e aclimação das plantas sob a radiação, a folha pode mudar sua curvatura para minimizar a incidência de radiação, aumentar sua epiderme e redistribuir as cloro filas localizadas na face adaxial das folhas (JANSEN; GABA; GREENBERG, 1998).

São observadas em plantas com exposição à UV, depósitos de ceras e substâncias epicuticulares de reflexão da radiação na superfície das folhas (SEMERDJIEVA et al., 2003), indução do acréscimo de pigmentos protetores, aumento ou diminuição da espessura foliar (SANTOS et al., 2004) e distribuição de metabólitos secundários protetores contra alta radiação, conhecidos como compostos fenólicos e flavonoides que se acumulam na epiderme da folha (KAKANI et al., 2003b). Semerdjieva e colaboradores (2003) concluíram que as substâncias que absorvem UVB estavam localizadas nos tricomas e serviram como defesa para atenuação dos efeitos de radiação nas folhas de variedades de mirtilo (Ericaceae).

Quanto à modificação nos estômatos das folhas, alguns estudos mostram que não houve diferenças para os tratamentos com exposição à UVB, porém outros mostram que as plantas-alvo apresentaram diminuições significativas, alterando a condutância estomática (KAKANI et al., 2003b). Zu et al. (2010) encontraram maiores densidades estomáticas, mas houve queda na condutância estomática em folhas de *Taxus chinensis* na presença de UVB.

Atividade fotossintética

Em ótimas condições do ambiente, a taxa fotossintética é alta, a concentração intercelular de CO_2 (C_i) é encontrada em menores quantidades no mesofilo, pois há um rápido e alto consumo de CO_2 . Com a diminuição de CO_2 no mesofilo foliar, ocorre a abertura dos estômatos, observada pela condutância estomática (g_s) e transpiração (E) e conseqüente a esses processos, há o aumento da eficiência de carboxilação (A/C_i) (LEMOS NETO et al., 2017).

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* fornecem dados da capacidade de conversão da energia luminosa em produtos bioquímicos pela fotossíntese, principalmente as reações do PSII, assim mostrando alterações no crescimento e modificações do ambiente pelas plantas. É uma técnica vantajosa, na qual é realizada por aparelhos portáteis, que podem ser levados a campo e que não destroem as folhas (MATHUR & JAJOO, 2015).

As variáveis fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m) e a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m) são as medidas realizadas no escuro, a partir de um pulso saturante. F_o representa a fluorescência mínima obtida quando a Q_a (quinona receptora primária de elétrons do PSII) está oxidada e o sistema PSII está aberto, ou seja, com capacidade de ativação fotoquímica total. F_m é a fluorescência máxima quando a Q_a está reduzida e conseqüentemente o sistema PSII fechado, ou seja, está incapacitada de ativar mais reações fotoquímicas nos centros de reação. A diferença entre F_m e F_o é denominada de fluorescência variável (F_v), utilizada no cálculo de F_v/F_m , que é o máximo de luz absorvida pelo PSII e que está se transformando em energia química (BAKER & ROSENQVIST, 2004; KONRAD et al., 2005).

De acordo com Klughammer e Schreiber (2008), o Φ_{PSII} é a fração de energia que é convertida para compostos fotoquímicos. A energia que não é convertida, é dissipada pelos *quenchings* Φ_{NPQ} e Φ_{NO} , totalizando 1 a partir da soma dos três parâmetros. Φ_{NPQ} é a fração que é dissipada por calor através do mecanismo fotoregulador, a partir da medida do ciclo das xantofilas.

Φ NO é a fração que é passivamente dissipada em forma de calor e fluorescência, por conta do fechamento dos centros de reação PSII, ela descreve as combinações de vias não-radiativas sobre reações de desexcitação, que não conduzem a conversão em energia fotoquímica e não envolvem o *quenching* não-fotoquímico. Portanto, quando o Φ NPQ apresenta valores altos indica que a planta apresenta uma alta capacidade de fotoproteção. Em contrapartida altos valores de Φ NO mostram a baixa capacidade do vegetal em se proteger contra danos por excesso de luminosidade.

A taxa de transporte de elétrons (ETR) indica como está o transporte de elétrons no PSII. Se a ETR estiver alta significa que o transporte de elétrons está ocorrendo normalmente. Se o valor for baixo, quer dizer que o excesso de luz danificou o sistema fotossintético (FREITAS, 2016).

O aumento de UVB afeta o aparato fotossintético todo, mas principalmente o fotossistema II (PSII) dos cloroplastídeos, causando degradação nas proteínas de membrana D1 e D2 (JANSEN; GABA; GREENBERG, 1998), redução da atividade da enzima fixadora de CO₂, ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase, também chamada de Rubisco, utilizada no Ciclo de Calvin (KAKANI et al., 2003b; ZU et al., 2010) e destruição dos pigmentos fotossintéticos, clorofilas e carotenoides (SURABHI; REDDY; SINGH, 2009).

Um dos principais efeitos da radiação ultravioleta nas plantas são as menores taxas de biomassa foliar. Em áreas como o sul da América do Sul, que teve um aumento de 20% na incidência de UV no período do verão em 2008, as plantas diminuíram cerca de 6% do total em comparação com o ano de 1979 (BALLARÉ et al., 2011). Essa queda da biomassa em folhas se deve principalmente às alterações na fotossíntese, pois a UVB pode causar danos ao aparato fotossintético e assim diminuir a taxa fotossintética e conseqüentemente a produção de biomassa (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014).

Sistema antioxidante

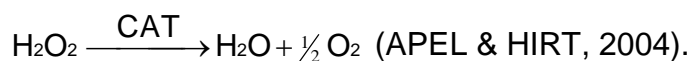
Diversos processos com a presença do oxigênio podem gerar naturalmente as chamadas Espécies Reativas de O₂ (EROs) que são formas de oxigênio altamente reativas e tóxicas que são capazes de reagir com constituintes celulares e oxidá-los. Os mais comuns são o superóxido (O₂⁻), oxigênio singlete (¹O₂), radicais hidroxila (OH) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Porém, o equilíbrio entre a produção e a eliminação de EROS pode ser perturbado por vários fatores de estresse bióticos e abióticos, como a salinidade, radiação UV, seca, metais pesados, temperaturas extremas, deficiência de nutrientes, poluição do ar, herbicidas e ataques de patógenos (GILL & TUTEJA, 2010; TAIZ et al., 2017; TAKSHAK & AGRAWAL, 2014).

Nas plantas, há a produção de diversas enzimas antioxidantes que juntas auxiliam o combate ao efeito tóxico dessas substâncias e incluem a dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT), glutathione redutase (GR), entre outras (NOCTOR & FOYER, 1998). O O₂⁻ e H₂O₂ são os mais gerados em reações celulares, e ocorrem principalmente nos peroxissomos, cloroplastídeos e mitocôndrias (GILL & TUTEJA, 2010).

A UVB pode causar uma inativação do transporte de elétrons e danos à proteína D1 no PSII (HIGED et al., 2002). O estresse provoca a limitação da carboxilação no Ciclo de Calvin, onde o elétron da ferredoxina que seria transferido para formar o NADPH vai para o O₂ e forma o O₂⁻ (BARBOSA et al., 2014) e quando ocorre a fotoinibição do PSII causada pela UV, pode ocorrer o aumento de O₂⁻ nas folhas (ASADA, 2006).

A primeira linha de defesa contra o O₂⁻ é a SOD (GILL & TUTEJA, 2010). Ela dismuta o O₂⁻ em H₂O₂ pela reação de $O_2^- \xrightarrow{SOD} H_2O_2$ (APEL & HIRT, 2004). O substrato mais importante para a redução do H₂O₂ é o ácido ascórbico (NOCTOR & FOYER, 1998), utilizado pela enzima APX para redução do H₂O₂ em água pela seguinte reação $H_2O_2 + \text{Ascorbato} \xrightarrow{APX} H_2O + MDA$ (APEL e HIRT, 2004). A CAT é a enzima que reduz o H₂O₂ em água e O₂ sem a

necessidade de um substrato (GILL & TUTEJA, 2010), sua reação é dada por



3. Justificativa

A depleção da camada de ozônio é um problema atual e constante, no qual diversas plantas cultiváveis já estudadas apresentam efeitos negativos sobre diversas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas dos vegetais agrícolas e em consequência dessas modificações, há a menor produtividade econômica. Berinjela é uma planta C3 com uma alta produção mundial, principalmente no sudeste asiático e com grande relevância no Brasil. Apesar da importância dessa cultura, não existem estudos sobre os efeitos da radiação ultravioleta B em sua fotossíntese, anatomia e bioquímica foliares, fator que poderá afetar a produtividade com o contínuo aumento da incidência de radiação UVB na Terra.

4. Objetivos gerais e específicos

O objetivo geral foi avaliar os efeitos que o aumento da radiação ultravioleta B causado pela depleção da camada de ozônio podem causar em plantas de berinjelas.

Os objetivos específicos foram avaliar as alterações da UVB suplementar nas folhas de berinjela sobre a atividade fotossintética, através das análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, as modificações na anatomia foliar e a capacidade de resposta do sistema antioxidante, quantificando a atividade das enzimas APX, CAT e SOD e a peroxidação lipídica.

5. Referências Bibliográficas

ANTONINI, A. C. C. et al. Capacidade produtiva de cultivares de berinjela. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 646-648, 2002.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

APHALO, P. J. et al. Ultraviolet radiation research: from the field to the laboratory and back. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 5, p. 853-855, 2015.

ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 391-396, 2006.

BAIS, A. F. et al. Ozone depletion and climate change: impacts on UV radiation. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 14, n. 1, p.19-52, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4pp90032d>.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.

BALLARÉ, C. L. et al. Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 10, n. 2, p. 226-241, 2011.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, 2014.

BOSCO, M. G. O, et al. Efeito do NaCl sobre o crescimento, fotossíntese e relações hídricas de plantas de berinjela. **Revista Ceres**, v. 56, n. 3, 2009.

CHEN, M. et al. Effects of enhanced UV-B radiation on morphology, physiology, biomass, leaf anatomy and ultrastructure in male and female mulberry (*Morus alba*) saplings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 129, p. 85-93, 2016.

CHOUDHARY, K. K.; AGRAWAL, S. B. Effect of UV-B Radiation on Leguminous Plants. In: **Sustainable Agriculture Reviews**. Springer International Publishing, p. 115-162, 2017. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-48006-0_5

EMBRAPA HORTALIÇAS. **A cultura da berinjela**. Versão eletrônica. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/hortalicas/berinjela/como-produzir-berinjela>>. Acesso em 23 de outubro de 2017.

ESPOSITO-POLESI, N. P.; RIBEIRO RODRIGUES, Ricardo; ALMEIDA, Marcílio de. Anatomia ecológica da folha de *Eugenia glazioviana* Kiaersk (Myrtaceae). **Revista Árvore**, v. 35, n. 2, 2011.

FREITAS, F. M. et al. **Respostas ecofisiológicas de *Cybistax antisiphilitica* Mart.(Ipê verde) em função das alterações na intensidade de luz**. 2016. 37f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

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.

HIDEG, É. et al. Detection of singlet oxygen and superoxide with fluorescent sensors in leaves under stress by photoinhibition or UV radiation. **Plant and Cell Physiology**, v. 43, n. 10, p. 1154-1164, 2002.

HINNAH, D. H. et al. Estimativa da área foliar da berinjela em função das dimensões foliares. **Bragantia**, v. 73, p. 213-218, 2014.

IEA. **Instituto de Economia Agrícola**. Disponível em: <http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/subjetiva.aspx?cod_sis=1&idioma=1>. Acesso em 23 de outubro de 2017.

INPE Instituto nacional de pesquisas espaciais. **Índice ultravioleta**. Disponível em: <<http://satelite.cptec.inpe.br/uv/#>>. Acesso em 02 de jul. de 2015.

JANSEN, M. A. K. ; GABA, V.; GREENBERG, B. M. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. **Trends in plant science**, v. 3, n. 4, p. 131-135, 1998.

JAVED, H. et al. Management of eggplant shoot and fruit borer (*Leucinodes orbonalis Guenee*) by integrating different non-chemical approaches. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 54, n. 1, p. 65-70, 2017.

KAKANI, V. G. et al. Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. **Annals of Botany**, v. 91, n. 7, p. 817-826, 2003a.

KAKANI, V. G. et al. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 120, n. 1, p. 191-218, 2003b.

KATARIA, S.; JAJOO, A.; GURUPRASAD, K. N. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 137, p. 55-66, 2014.

KAUSHIK, P., et al. Phenolics content, fruit flesh colour and browning in cultivated eggplant, wild relatives and interspecific hybrids and implications for fruit quality breeding. **Food Research International**, 2017.
<http://doi:10.1016/j.foodres.2017.09.028>

KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM Application Notes**, v. 1, n. 2, 2008.

KONRAD, M. L. F. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 339-347, 2005.

LAUBE, J., C. et al. Newly detected ozone-depleting substances in the atmosphere. **Nature Geoscience**, v. 7, n. 4, p.266-269, 9 mar. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ngeo2109>.

LEMOS NETO, H. de S. et al. Productive and physiological performance of lettuce cultivars at different planting densities in the Brazilian Semi-arid region. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 10, p. 771-779, 2017.

MARQUES, L. J. P. et al. Weed interference in eggplant crops. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 866-875, 2017.

MATHUR, S.; JAJOO, A. Investigating deleterious effects of ultraviolet (UV) radiations on wheat by a quick method. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 6, p. 1-7, 2015.

MMA Ministério do Meio Ambiente. **Proteção da camada de ozônio**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/clima/protecao-da-camada-de-ozonio>>. Acesso em 02 de jul. 2015.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual review of plant biology**, v. 49, n. 1, p. 249-279, 1998.

OKUNO, E. e VILELA, M. A. C. **Radiação ultravioleta: características e efeitos**. 1. ed. São Paulo: Editora Livraria da Física. 2005.

PREVIDI, M.; POLVANI, L. M. Impact of the Montreal Protocol on Antarctic surface mass balance and implications for global sea level rise. **Journal of Climate**, v. 30, n. 18, p. 7247-7253, 2017.

RAO, G. P.; KUMAR, Manish. World status of phytoplasma diseases associated with eggplant. **Crop Protection**, v. 96, p. 22-29, 2017.

SANTOS, I. et al. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. **Plant Science**, v. 167, n. 4, p. 925-935, 2004.

SEMERDJIEVA, S. I. et al. Surface morphology, leaf and cuticle thickness of four dwarf shrubs from a sub-Arctic heath following long-term exposure to enhanced levels of UV-B. **Physiologia Plantarum**, v. 117, n. 2, p. 289-294, 2003.

SILVA, F. G., et al. **Comportamento fisiológico da berinjela cultivada em ambiente protegido sob taxas de reposição hídrica**. 2012. 45f. Trabalho de conclusão de curso (Ciências Agrárias). Universidade Estadual da Paraíba, Catolé do Rocha, 2012.

SURABHI, Giridara-Kumar; REDDY, K. Raja; SINGH, Shardendu Kumar. Photosynthesis, fluorescence, shoot biomass and seed weight responses of three cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars with contrasting sensitivity

to UV-B radiation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 2, p. 160-171, 2009.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. PortoAlegre: ARTMED, 2017.

TAKSHAK, S.; AGRAWAL, S. B. Effect of ultraviolet-B radiation on biomass production, lipid peroxidation, reactive oxygen species, and antioxidants in *Withania somnifera*. **Biologia plantarum**, v. 58, n. 2, p. 328-334, 2014.

TATAGIBA, S. D. et al. Limitações fotossintéticas em folhas de plantas de tomateiro submetidas a crescentes concentrações salinas. **Revista Engenharia na Agricultura**, v. 22, n. 2, p. 138, 2014.

THOMAS T.T., Dhanya; PUTHUR, Jos T. UV radiation priming: A means of amplifying the inherent potential for abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental and Experimental Botany**. 2017.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.03.003>

UNITED, Nations Environment Programme Environmental Effects; ASSESSMENT, Panel. Environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change: Progress report, 2016. **Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 16, n. 2, p. 107, 2017.

WANG, Y.; FREI, M. Stressed food—The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 141, n. 3, p. 271-286, 2011.

WEBER L.C. et al. Produção e qualidade de sementes híbridas de berinjela em função do número de frutos por planta. **Horticultura Brasileira**, v.31, p. 461-466, 2013.

ZHANG, W. J.; BJÖRN, L. O. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. **Fitoterapia**, v. 80, n. 4, p. 207-218, 2009.

ZU, Y. et al. Responses in the morphology, physiology and biochemistry of *Taxus chinensis* var. *mairei* grown under supplementary UV-B radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 98, n. 2, p. 152-158, 2010.

Capítulo 2

Limitation to photosynthesis in leaves of eggplant under UVB according to anatomical changes and alterations on the antioxidant system

Artigo redigido conforme norma da Revista Scientia Horticulturae

Limitation to photosynthesis in leaves of eggplant under UVB according to anatomical changes and alterations on the antioxidant system

Authors: ROMANATTI, P.V.^a; ROCHA, G.A.^a, JÚNIOR VERONEZE, V.^a; SOUZA, T. C.^a; PEREIRA, F.J.^a; POLO, M.^a

^aFederal University of Alfenas, Institute of Natural Sciences, Alfenas, Brazil.

Abstract

The effects from increased ultraviolet radiation B (UVB) on the metabolism of agricultural plants, depending on the species and its level of tolerance, can change their photosynthesis and biochemistry, and thus lower its commercial production. This work aims at investigating leaf changes from gas exchanges, chlorophyll *a* fluorescence, anatomy and the response of activities of antioxidant enzymes SOD, CAT and APX in *Solanum melongena* L. after exposed to UVB radiation. Eggplants of the variety Nápoli were subjected to two treatments, with and without UVB. After 49 days, photosynthesis levels decreased by more than 50% and carboxylation rate by 80% in plants under UVB. UVB radiation induced the decrease on the rate of electrons transportation and the efficiency of photosystems to convert energy to photochemical products. Adaxial epidermis was hardly degraded. Palisade parenchyma became the first barrier against UVB radiation by becoming smaller and more compressed in order to decrease the incidence of the radiation in the spongy parenchyma and thus keep with its photosynthetic activity. SOD and APX activities were increased while CAT was decreased and according to the lipid peroxidation there was no destruction of cells, confirming an effective biochemical system. UVB affected several essential parameters eggplants need to survive and the increased incidence of UVB in earth's surface will affect their commercial production.

Keywords: *Solanum melongena*, UVB, gas exchanges, chlorophyll *a* fluorescence, leaf anatomy, antioxidant enzyme.

Introduction

Over recent years, the environment has been drastically affected by human activities. One of the main changes is the increased ultraviolet radiation B on earth's surface, due to the depletion of the ozone layer that damages mainly plants (BALLARÉ et al., 2011; KRIZEK, 2004).

Under high exposure to UVB, plants can be considered either tolerant or sensitive, by different responses to such condition (NEPPE UNITED, 2017). Several previous studies pointed that even surviving, plants may present changes in growth, morphology and biomass (KITTAŠ et al., 2006; RAGHUVANSHI et al., 2015; SMITH et al., 2000), as well as a decrease on both photosynthesis and EROs production which depicts oxidative stress (CZÉGÉNY et al., 2014). It is important to point out that adaptative responses may vary according to the specie once UVB is increased (SINGH et al., 2014), therefore there must be studies on a greater number of plants.

Much investment has been done to uncover how economically important plants respond to the depletion of the ozone layer (MATHUR & JAJOO, 2015), because the increased incidence of UVB radiation may impair the productivity and chemical composition of agricultural species and consequently the quality of the products (WANG & FREI, 2011), thus, studies focused on planning strategies in order to avoid damages caused by such stress are so important to be improved.

Leaves are the first structures to get in contact with UVB radiation and its reflectance when the radiation is low, however the plant may change its structures in order to adapt to changes of the environment (SEERDJIEVA et al., 2003).

Several studies using ultraviolet light in plants have been accomplished, although there was no work around the specie *Solanum melongena* L. once submitted to UVB radiation. Therefore, the search aimed to evaluate the effects that ultraviolet radiation B has on the photosynthetic activity, the anatomy and the response capacity of the antioxidant system in leaves of eggplant.

Materials and Methods

20 eggplants were used (*Solanum melongena* L.) variety “Nápoli”, divided into control and treatment to perform the experiment. When the plants were 40 days old, they were potted into plastic containers of 2L, containing substrate composed of latosol soil and vegetal organic matter in the ratio of 3:1 (v/v) supplemented with chemical fertilizer (NPK 4:14:8) in the ratio of 1 kg/m³. By the time of transplanting, the plants showed from 3 to 4 expanded leaves. Plants were kept within greenhouse in The Medicinal and Botanical Garden of UNIFAL-MG under natural light using white filter for 15 days until the beginning of the treatments. Both temperature and relative humidity of the air were monitored during the experiment by thermo-hygrometer (J. Prolab), which varies between 12° and 35°C and between 55 and 88%, respectively. O experiment took place from September to November 2016.

The experiment had two treatments, with and without a UVB light bulb. The plants from both treatments remained under similar conditions during the whole experiment. The plants were allocated into a chamber of two slots measuring 120x90x90cm, and it was opened above so that the plants could get natural light. Natural light was supplemented by fluorescent white bulbs in both slots (NSK FL 16T8-6; 16W). Plants under the treatment with UVB got radiation by UVB bulb (306 nm; USHIO G8TSE; 8W). The bulbs, with irradiance of 14,15 W/m² for white bulbs and 7,07 W/m² for UVB bulb, were kept 30 cm away from the plants. The distribution of the spectrum of the UVB bulb is shown in Figure 1. Maximum natural light irradiation was 700 W/m² at noon.

A photoperiod of 12 hours was kept with white bulbs, accompanied with the natural light period. They were exposed to UVB radiation for 6 hours a day (from 09:00 a.m. to 3:00 p.m.), for 49 days. Each plant was daily watered with 100 mL of water and randomly put into another place to avoid the influence of the site.

By the end of the 49 days, the physiological analyses were conducted and the material was collected for biochemical and anatomical analyses. Both physiological and biochemical analyses were performed with leaves from the 6th

node and anatomical ones with those from the 7th node of each plant, counting from its base. Such leaves had their ontogenesis during the experiment.

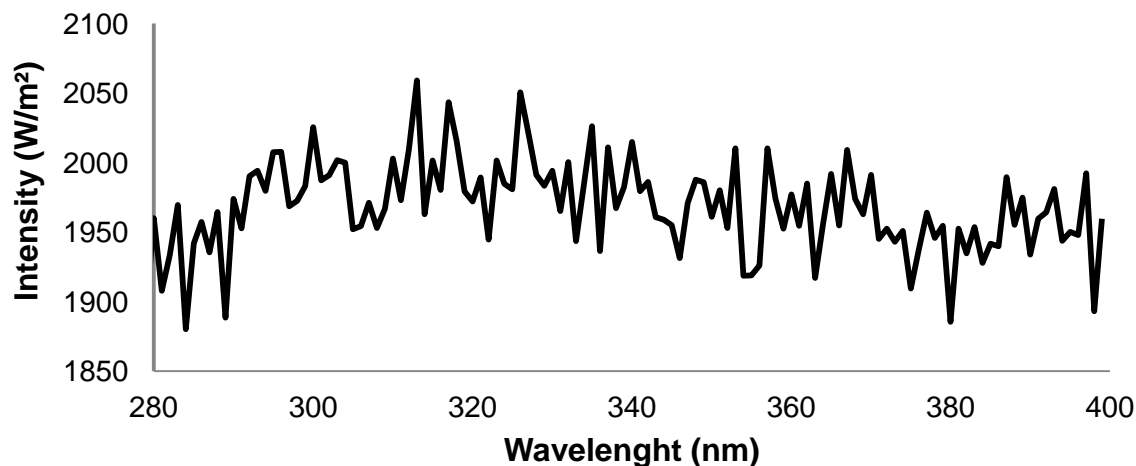


Figure 1 – Spectral distribution of the UVB bulb used in the experiment.

Gas exchanges and chlorophyll a fluorescence

The measurements of gas exchanges were determined through the portable photosynthesis (IRGA, model LI-XT6400, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) with chamber with artificial light source (LI-6400-02B RedBlue, Li-Cor). The measurements were performed in a leaf area of 6 cm², with CO₂ flow in a concentration of 390 μmol mol⁻¹, temperature held at 28°C and active photosynthetic radiation intensity of 700 μmol m⁻² s⁻¹. Photosynthesis (A), stomatal conductance (g_s), transpiration (E), intercellular CO₂ concentration (C_i) and a carboxylation efficiency (A/C_i) were evaluated.

Fluorescence emission was measured by portable modulated fluorometer MINI-PAM-II (Walz, Germany). Before starting the analyses, the leaves were kept in the dark for 30 minutes. Minimum fluorescence (F_o) was determined with sufficiently low light to avoid photochemical reactions and maximum fluorescence (F_m) was also measured, applying a light pulse of 7000 μm of photons m⁻² s⁻¹ for 0.8 seconds. For samples adapted in the dark, a maximum photosynthetic efficiency (PSII) was calculated by the ratio F_v/F_m, where F_v= (F_m-F_o). Afterwards, the leaves received light from actinic light with intensity of 1500 μmol of photons m⁻² s⁻¹ for 10 minutes. Then, the rate constant

of fluorescence (F) was obtained and right after another pulse of light was applied for 1 s to obtain the maximum fluorescence emitted by the leaves (F_m'). Actinic light was removed and the leaves were irradiated by distant red light to obtain F_o adapted to light (F_o'). All other parameters were obtained according to the device through the following calculations: $\Phi_{NO} = F/F_m'$, $\Phi_{NPQ} = (F - F_m')/(F - F_m)$, $\Phi_{PSII} = (F_m' - F)/F_m'$, where $\Phi_{NO} + \Phi_{NPQ} + \Phi_{PSII} = 1$ (KLUGHAMMER & SCHREIBER, 2008) and $ETR = (\Phi_{PSII} \times PAR \times 0,5 \times 0,84)$, where PAR (Photosynthetically active radiation) was measured by the sensor adapted to the device.

Biochemical activity

Biochemical activities were performed with the same leaves which both gas exchanges and chlorophyll fluorescence were evaluated. Fully expanded leaves were collected by the end of the experiment in the morning and then frozen in liquid nitrogen and conserved in a freezer at -80°C until the when the analyses were conducted. For enzymatic extraction, 0.2g of leaves was macerated in liquid nitrogen with polyvinylpolypyrrolidone (PVPP). After homogenization in 1500 μL in extraction buffer, the enzymatic extract was centrifuged at 13000 rpm, for 10 minutes, at 4°C and the supernatant was collected according to the methodology of Biemelt et al. (1998). For lipid peroxidation, the method of Cakmak and Horst (1991) was used. The determination of superoxide dismutase (SOD) activity as well as, ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT) activities were conducted. All the enzymes from the antioxidant system were quantified by the method of García-Limones et al. (2002) and they were measured through spectrophotometer (Biochrom, modelo Libra S22).

Leaf anatomy

For anatomical analyses, the leaves were kept in formaldeide, acetic acid and ethanol 70% (F.A.A.70) solution for 72 hours, and later conserved in ethanol 70% (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Fragments of leaf limb from the area close to the petiole were selected and packed in resin (Leica HistoResin). The whole process of infiltration and packing were conducted according to instructions from the manufacturer. The cuts were performed in rotatory microtome (Leica, RM 2235) e the sections were conducted with 10 μm of thickness and colored with toloum chloride 1%. 10 cuts from each treatment were selected. Cuts were photographed by a digital camera (Moticam 2300 MOTIC, Xiamen, China), attached to the binocular microscope Nikon eclipse E200 (Spectrum Bioengenharia Médica Hospitalar Ltda, São Paulo, Brasil) and measured through software to analyze the images Image J. thickness of leaf limb, thickness of epidermis from abaxial, thickness of epidermis from adaxial, thickness of palisade parenchyma, thickness of spongy parenchyma, proportion between palisade parenchyma and spongy parenchyma (PP/SP), proportion of Intercellular space of palisade parenchyma, proportion of intercellular space of spongy parenchyma, width of chloroplast of palisade parenchyma, length of chloroplast of palisade parenchyma, width of chloroplast of spongy parenchyma, length of chloroplast of spongy parenchyma, number of chloroplast present in palisade parenchyma and number of chloroplast present in spongy parenchyma.

Statistical analysis

The experiment was conducted by completely randomized design (CRD). For statistical analysis, the software BioEstat 5.0 was used. The results were submitted to the Analysis of Variance at 5% of significance, followed by the test of Tukey for data about photosynthesis and biochemistry and Analysis of Variance at 1% of significance for data about anatomy followed by the test of Tukey.

Results

The results pointed that for surviving under UVB treatment, eggplants showed several changes in their morphology and physiology to acclimatize to new conditions of the environment.

It could be observed that in the first weeks of exposure to UVB the oldest leaves suffered from abscission and the new leaves showing different morphological features started developing, smaller in size, bearing more curved edges and a darker color (Figure 2).



Figure 2. Morphological differences in leaves of eggplants in the fourth week of the experiment. (a) Leaf under natural and white fluorescent light and (b) Leaf under natural and white fluorescent light and UVB radiation.

Data obtained from gas exchanges is presented in Table 1. It can be observed that there has been a decrease ($p < 0,01$) of 56% in the rate of liquid photosynthesis (A) when UVB is present and in spite of such reduction the plants were still able to survive. For stomatal conductance (g_s) and transpiration (E) there was no significant difference between the treatments. In C_i , it was observed significant difference ($p < 0,001$) demonstrating that UVB caused CO_2 concentration to increase by 15% in the leaves. In carboxylation efficiency (A/ C_i) there was a significant decrease of 80% for treatment with UVB ($p < 0,001$).

Table 1. Means of data from gas exchange in leaves of eggplant submitted to UVB radiation. Data are presented as means \pm standard deviation.

	Without UV	UVB
A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	15.11 \pm 3.24	6.60 \pm 3.03*
E ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	5.18 \pm 0.83	4.68 \pm 1.28
g_s ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	0.38 \pm 0.10	0.35 \pm 0.13
C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	298.13 \pm 11.73	340.97 \pm 31.83*
A/ C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$).($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	0.05 \pm 0.01	0.01 \pm 0.009*

Means marked with * presented statistical differences through Tukey Test at 5% of significance.

Fluorescence data is presented in Table 2. It can be observed that the effective quantum yield of PSII (Φ_{PSII}) for plants from UVB treatment decreased ($p=0,036$), and consequently their regulated and unregulated power supply had an increase in dissipating the energy. The unregulated and non photochemical quantum yield of dissipation (Φ_{NO}) of leaves under UVB increased significantly ($p=0,039$) by 13%, while the regulated photochemical quantum yield of dissipation (Φ_{NPQ}) increased ($p=0,049$) by 33%. For the electron transport rate (ETR) there has been significant difference of the treatment with control ($p=0,036$), as when UVB was present it caused a lower electron transference of PSII by 27%.

Table 2. Means of chlorophyll fluorescence parameters in leaves of eggplants under UVB radiation. Data is presented as means \pm standard deviation.

	Without UVB	UVB
ETR	34.87 \pm 4.68	25.44 \pm 10.78*
Φ_{PSII}	0.45 \pm 0.05	0.32 \pm 0.13*
Φ_{NPQ}	0.33 \pm 0.06	0.44 \pm 0.11*
Φ_{NO}	0.22 \pm 0.02	0.25 \pm 0.01*
Fv/Fm	0.84 \pm 0.05	0.77 \pm 0.07*

Means marked with * presented statistical differences through Tukey Test at 5% of significance

The anatomical parameters analyzed showed significant statistical difference ($p<0,001$) between the two treatments. According to Table 3, all measurements of anatomical parameters of leaves kept under UVB decreased if compared to those under white light, but the thickness of spongy parenchyma.

The adaxial surface of the leaf, which was directly exposed to radiation, showed severe deformation with a decrease of 65% of its epidermis, to not enable UVB to get to PP, which showed a smaller area if compared to SP, and to not reach the chloroplasts located in their cells, which also obtained lower means of quantity and size than plants without UVB. The total leaf thickness and the thickness of both parenchyma had a decrease as well as their intercellular spaces. The smaller intercellular space of PP shows that there has been a compression among their cells.

Table 3. Means of anatomical features in leaves of eggplants under UVB radiation. Data is presented as means \pm standard deviation. PP= palisade parenchyma. SP= Spongy Parenchyma.

	Without UVB	UVB
Leaf Thickness (μm)	189.30 \pm 16,27	157,05 \pm 18,06*
Palisade Thickness (μm)	80.50 \pm 9.17	58.54 \pm 7.20*
Spongy Thickness (μm)	82.82 \pm 9.56	87.31 \pm 15.55
Proportion PP/SP	0.98 \pm 0.11	0.66 \pm 0.16*
Intercellular Space Proportion PP	11.24 \pm 5.45	6.83 \pm 3.94*
Intercellular Space Proportion SP	32.90 \pm 8.16	20.15 \pm 6.13*
Adaxial Epidermis Thickness (μm)	20.60 \pm 3.21	7.29 \pm 1.98*
Abaxial Epidermis Thickness (μm)	13.79 \pm 2.21	12.07 \pm 2.12*
Chloroplast Width PP (μm)	3.58 \pm 0.38	2.76 \pm 0.40*
Chloroplast Length PP (μm)	4.95 \pm 0.59	3.75 \pm 0.47*
Chloroplast Width SP (μm)	3.89 \pm 0.43	3.26 \pm 0.34*
Chloroplast Length SP (μm)	5.02 \pm 0.61	4.45 \pm 0.44*
Number of Chloroplasts PP per cell	16.78 \pm 3.53	10.33 \pm 3.28*
Number of Chloroplast SP per cell	9.53 \pm 2.56	8.87 \pm 1.41

Means marked with * presented statistical differences through Tukey Test at 1% of significance

In Figure 3 it can be observed that the position of chloroplasts from the cells of PP has changes for leaves that received UVB. Once UVB is present, chloroplasts positions to the next spongy parenchyma, thus the space close to the layer of adaxial epidermis lacks the presence of such organelles.

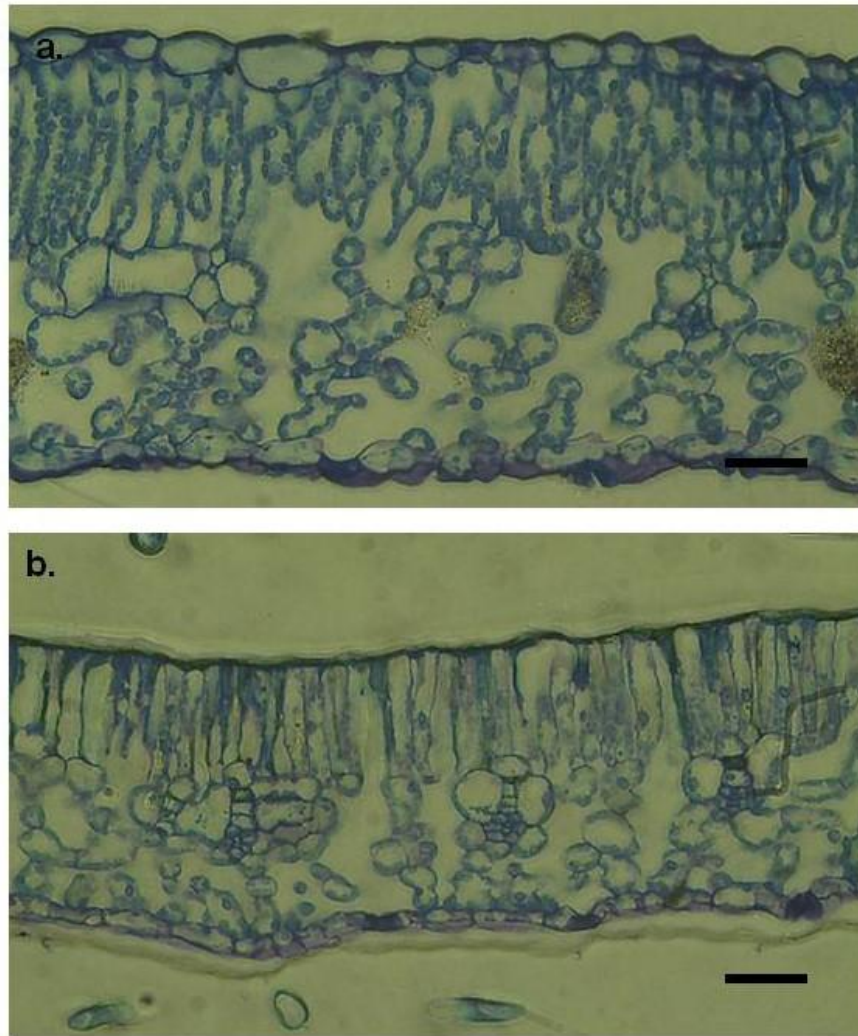


Figure 3. Anatomy of the leaf limb of eggplants under UVB radiation. Leaf without radiation UVB (a) and leaf with UVB radiation (b). Bars = 50 µm.

The antioxidant enzymes APX, CAT e SOD showed statistical difference ($p < 0,01$, $p = 0,04$ and $p = 0,03$, respectively) if compared to those from the treatments (Table 4). There has been a decrease of 46% of CAT enzyme in the treatment with UVB, however there has been an increase of SOD enzyme of more than 50% and of APX enzyme of more than 300% under UVB. For lipid peroxidation there was no significant difference between the treatments.

Table 4. Means of units of antioxidant APX enzymes (ascorbate peroxidase), CAT (catalase) and SOD (superoxide dismutase) and lipid peroxidation in leaves of eggplants under UVB radiation. Data is presented as means \pm standard deviation.

	Without UVB	UVB
Lipid Peroxidation (μM of MDA g^{-1} MF)	22.07 \pm 7.00	23.45 \pm 5.33
APX ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ protein min^{-1})	76.15 \pm 38.8	349.39 \pm 226.7*
CAT ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ protein min^{-1})	52.49 \pm 34.4	24.37 \pm 18.9*
SOD (U mg^{-1} protein)	57.26 \pm 29.2	86.45 \pm 22.4*

Means marked with * presented statistical differences through Tukey Test at 5% of significance

Discussion

In spite of what many works show, that low doses of ultraviolet radiation may benefit agricultural species by improving their defense against pathogens and a larger productivity (THOMAS & PUTHUR, 2017), the results from this search show a plant very sensitive to UVB radiation.

The smaller leaf area, slope of leaves and a greater curve observed in new leaves formed under UVB, are common defense changes among vegetables to decrease the incidence of radiation as well as the different position of their chloroplasts observed in cells from palisade parenchyma (JANSEN; GABA; GREENBERG, 1998).

As almost all the epidermis of the adaxial surface was degraded by the presence of UVB, so it caused the palisade parenchyma to become the first barrier of exposure to radiation. The greater compression of its cells, indicated by the decrease of around 40% of its proportion of intercellular spaces of PP was a way of stopping the incidence on SP, lessening the effects on it. Once the protection of leaves was on account of the barrier formed by PP, the photosynthetic function of PP was relocated to SP, which had its thickness increased and did not change its number of chloroplasts, enabling the photosynthetic production to happen. Weston et al. (2000) found that *Arabidopsis thaliana* under high levels of radiation had the ad of some layers of cells in the palisade parenchyma to protect tissues located below it, protecting the photosynthetic production of such tissues (KAKANI et al., 2003a).

Similar results for a lesser thickness of the leaf and of the two chlorophyll, parenchyma after exposure to UVB was also found in leaves of two

genotypes of bilberries (*Vaccinium corymbosum* L.) (INOSTROZA-BLANCHETEAU et al., 2014) and in leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) (KAKANI et al., 2003b). The leaves of bilberries also had their adaxial and abaxial epidermis affected, although leaves from cotton had no significant difference if compared to its control.

The decrease of the leaf thickness of chloroplasts in both parenchyma restricted photosystems II (PSII), leading it to the decreased flow of electrons in leaves (ETR) and influenced the falling of Fv/Fm and Φ PSII, such changes may cause the total biomass of the plants to decrease, affecting the productivity of plants of culture. (KATARIA; JAJOO; GURUPRASAD, 2014). The falling of Fv/Fm can be also related to the limited capacity of reoxidation of the first acceptor of electrons of PSII, the Plastoquinone (Qa), resulting in lower transportation of electron from PSII to PSI (KUMAR & PRASAD, 2015).

The decrease of 28% when measuring Φ PSII confirms that UVB harmed the photosynthetic apparatus which stops the allocation of energy to PSII and, thus, it is eliminating the excess of energy through non-photochemical *quenching* Φ NPQ and Φ NO (KUMAR & PRASAD, 2015).

It can be noticed that once the abaxial epidermis is not in directly contact with UVB, it is slightly affected. The small difference of 12% found in the abaxial epidermis, if compared to control, was not enough to change the workings of the stomas what is also affirmed for the similarity between control and UVB if compared to E and g_s , which confirms that the accumulation of CO₂ found inside the leaves (Ci) is related to other factors.

From the accumulation of CO₂ on leaves and the decrease of ETR values, it can be inferred that the enzyme which fixes CO₂, Rubisco (d-ribulose-1,5-biphosphate carboxylase-oxygenase), has been harmed by UVB, inhibiting its carboxilation activity and consequently, the consume of NADPH₂ (BAKER & ROSENQVIST, 2004). Due to that, photosynthetic activity was reduced by more than 50% and its carboxilation efficiency by 80%. The low activity of Rubisco when UVB is present has already been seen on previous searches (LINDON & RAMALHO, 2011). Wheat, cotton, sorghum and amaranth plants, both C3 and C4 plants, obtained the increase on the activity of Rubisco when solar UVB solar was eliminated through filters (KATARIA et al., 2013).

From damages in PSII, a change on the transportation of electrons may have happened and instead of occurring the formation of NADPH₂, they are transferred to free O₂, promoting the production of species reactive of O₂ (ROs) and therefore, in order to fight against its excess, the enzymatic antioxidant system was activated. The superoxide dismutase enzyme (SOD) is the first defense line of plants to limit the toxic effects from the increased EROs caused by environmental stress (GILL & TUTEJA, 2010). UVB radiation may have caused SOD to increase, because together with the stress it is noticed the increase of superoxide (O₂⁻), substrate in which SOD degrades into hydrogen peroxide (H₂O₂) (APEL & HIRT, 2004).

The high activity of ascorbate peroxidase enzyme (APX) shows that the plants were under stress. From such increase it can be said that it was enough to inhibit H₂O₂ in excess which was produced on account of the stress in leaves, because there was no destruction of cells which is confirmed by the lipid peroxidation and only with its activity it did not need to activate the CAT enzyme to neutralize EROs and so its low activity.

Conclusion

It could be concluded that eggplants are very sensitive to UVB radiation, once there have been many physiological and leaf anatomical changes to stay alive, bearing an allocation of energy in order to survive and not to produce fruits. Therefore, the presence of UVB radiation affected the capacity of producing photoassimilates, being harmful to the economical production of eggplants.

Acknowledgements

We are grateful to Antônio Neto and Caroline Reis for the valuable help with the greenhouse work, and to Peter E. Gibbs for the English revision.

References

- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 391-396, 2006.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.
- BALLARÉ, C. L. et al. Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 10, n. 2, p. 226-241, 2011.
- BIEMELT, S.; KEETMAN; ALBRECHT. Re-aeration following or anoxia leads to activation on the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v.116, n.2, p.651-658, 1998.
- CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 3, p. 463-468, 1991.
- CZÉGÉNY, G. et al. Hydrogen peroxide contributes to the ultraviolet-B (280–315 nm) induced oxidative stress of plant leaves through multiple pathways. **FEBS letters**, v. 588, n. 14, p. 2255-2261, 2014.
- FOYER, Christine H.; NOCTOR, Graham. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia plantarum**, v. 119, n. 3, p. 355-364, 2003.
- FOYER, Christine H.; SHIGEOKA, Shigeru. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. **Plant physiology**, v. 155, n. 1, p. 93-100, 2010.
- GARCÍA-LIMONES, C. et al. Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 61, n. 6, p. 325-337, 2002.
- 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.

INOSTROZA-BLANCHETEAU, C. et al. Effects of UV-B radiation on anatomical characteristics, phenolic compounds and gene expression of the phenylpropanoid pathway in highbush blueberry leaves. **Plant physiology and biochemistry**, v. 85, p. 85-95, 2014.

JANSEN, M. A. K. ; GABA, V.; GREENBERG, B. M. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. **Trends in plant science**, v. 3, n. 4, p. 131-135, 1998.

JAVED, H. et al. Management of eggplant shoot and fruit borer (*Leucinodes orbonalis Guenee*) by integrating different non-chemical approaches. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 54, n. 1, p. 65-70, 2017.

KAKANI, V. G. et al. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 120, n. 1, p. 191-218, 2003a.

KAKANI, V. G., et al. Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. **Annals of Botany**, v. 91, n. 7, p. 817-826, 2003b.

KATARIA, S. et al. Enhancement of growth, photosynthetic performance and yield by exclusion of ambient UV components in C 3 and C 4 plants. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 127, p. 140-152, 2013.

KATARIA, S.; JAJOO, A.; GURUPRASAD, K. N. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 137, p. 55-66, 2014.

KITTAS, C. et al. Effect of two UV-absorbing greenhouse-covering films on growth and yield of an eggplant soilless crop. **Scientia Horticulturae**, v. 110, n. 1, p. 30-37, 2006.

KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM Application Notes**, v. 1, n. 2, 2008.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, Marcos. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur, 1997.

KRIZEK, D. T. Influence of PAR and UV-A in determining plant sensitivity and photomorphogenic responses to UV-B radiation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 79, n. 4, p. 307-315, 2004.

- KUMAR, A.; PRASAD, M. N. V. Lead-induced toxicity and interference in chlorophyll fluorescence in *Talinum triangulare* grown hydroponically. **Photosynthetica**, v. 53, n. 1, p. 66-71, 2015.
- LIDON, F. C.; RAMALHO, J. C. Impact of UV-B irradiation on photosynthetic performance and chloroplast membrane components in *Oryza sativa* L. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 104, n. 3, p. 457-466, 2011.
- MARQUELLI, W. A., et al. Irrigação na cultura da berinjela. Brasília, DF: Embrapa. 2014. 24p. Circular técnica.
- MATHUR, S.; JAJOO, A. Investigating deleterious effects of ultraviolet (UV) radiations on wheat by a quick method. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 6, p. 1-7, 2015.
- RAGHUVANSHI, R.; SHARMA, R. K. Response of two cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. (French beans) plants exposed to enhanced UV-B radiation under mountain ecosystem. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 1, p. 831-842, 2016.
- SINGH, S. et al. Impact of ambient and supplemental ultraviolet-B stress on kidney bean plants: an insight into oxidative stress management. **Protoplasma**, v. 251, n. 6, p. 1395-1405, 2014.
- SMITH, J. L.; BURRITT, D. J.; BANNISTER, P. Shoot dry weight, chlorophyll and UV-B-absorbing compounds as indicators of a plant's sensitivity to UV-B radiation. **Annals of Botany**, v. 86, n. 6, p. 1057-1063, 2000.
- TAKSHAK, S.; AGRAWAL, S. B. Effect of ultraviolet-B radiation on biomass production, lipid peroxidation, reactive oxygen species, and antioxidants in *Withania somnifera*. **Biologia plantarum**, v. 58, n. 2, p. 328-334, 2014.
- THOMAS T. T. D.; PUTHUR, J. T. UV radiation priming: A means of amplifying the inherent potential for abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental and Experimental Botany**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.03.003>
- UNITED, Nations Environment Programme Environmental Effects; ASSESSMENT, Panel. Environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change: Progress report, 2016. **Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 16, n. 2, p. 107, 2017.
- WANG, Y.; FREI, M. Stressed food—The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 141, n. 3, p. 271-286, 2011.

WESTON, E. et al. Light quantity controls leaf-cell and chloroplast development in *Arabidopsis thaliana* wild type and blue-light-perception mutants. **Planta**, v. 211, n. 6, p. 807-815, 20