

**ÁCIDO SALICÍLICO E METIONINA MITIGAM OS EFEITOS  
DELETÉRIOS DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM FEIJÃO-CAUPI**

**AUTA PAULINA DA SILVA OLIVEIRA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**

**CAMPINA GRANDE-PB**

**AGOSTO-2020**

# **ÁCIDO SALICÍLICO E METIONINA MITIGAM OS EFEITOS DELETÉRIOS DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM FEIJÃO-CAUPI**

**AUTA PAULINA DA SILVA OLIVEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias/Área de Concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar.

**Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo**

**Coorientador: Prof. Dr. Yuri Lima Melo**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**AGOSTO – 2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

O48a Oliveira, Auta Paulina da Silva.  
Ácido salicílico e metionina mitigam os efeitos deletérios da restrição hídrica em feijão-caupi [manuscrito] / Auta Paulina da Silva Oliveira. - 2020.  
70 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2020.  
"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Departamento de Biologia - CCBS."  
"Coorientação: Prof. Dr. Yuri Lima Melo, Departamento de Biologia - CCBS."  
1. Déficit hídrico. 2. Osmorregulação. 3. Antioxidantes enzimáticos. 4. *Vigna unguiculata* (L.) Walp. I. Título  
21. ed. CDD 635.652

# ÁCIDO SALICÍLICO E METIONINA MITIGAM OS EFEITOS DELETÉRIOS DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM FEIJÃO-CAUPI

**AUTA PAULINA DA SILVA OLIVEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de Concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar.

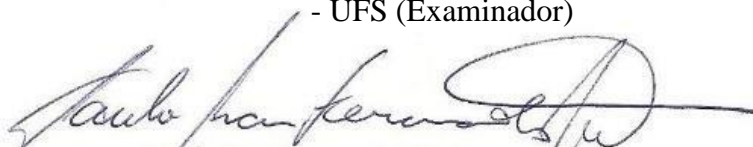
Aprovada em: 27 de agosto de 2020

Banca examinadora:



---

Profº Dr. Pedro Roberto Almeida Viégas (D.Sc.Fitotecnia)  
- UFS (Examinador)



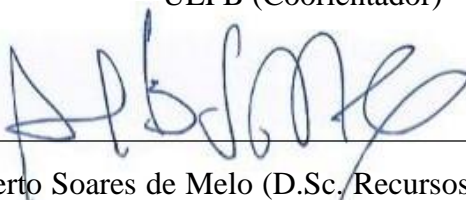
---

Profº Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior (D. Sc Agronomia) – Embrapa  
Semiárido (Examinador)



---

Profº Dr. Yuri Lima Melo (D.Sc.Fitotecnia) -  
UEPB (Coorientador)



---

Profº Dr. Alberto Soares de Melo (D.Sc./Recursos Naturais) -  
UEPB (Orientador)

A todos que emanaram energias positivas para  
minha conclusão do mestrado,

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me proporcionado forças para permanecer firme na fé para concluir esta etapa da minha vida acadêmica.

Aos meus pais Maria de Fátima da Silva e Paulo Rodrigues de Oliveira por serem meu alicerce, meu porto seguro e por todo apoio, esforço e compreensão durante a minha jornada.

Aos meus amigos (as) que estiveram comigo durante a minha jornada.

Aos meus orientadores Dr. Alberto Soares de Melo e Dr. Yuri Lima Melo pelos ensinamentos e pela confiança depositada em mim.

Aos membros do Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB): Anderson, Louise, Igor, Venâncio, Guilherme, Ferraz, Rayanne e Deibson.

A minha irmã por ser luz nos meus dias mais escuros e por todo apoio.

Ao meu noivo por todo apoio, carinho e compreensão.

Aos funcionários do Horto Florestal da Universidade Estadual da Paraíba, em especial a Adalberto (Beto) por tornar os dias de trabalho em campo mais leves e descontraídos.

Ao técnico Robson da UEPB pela liberação e auxílio no uso de equipamentos pertencentes ao herbário.

A Embrapa Algodão, na pessoa da Dr<sup>a</sup>. Liziane Maria de Lima pela concessão de equipamentos para análises de proteínas e a Embrapa Semiárido, na pessoa do Dr. Paulo Ivan pela concessão das sementes para realização do experimento.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias e aos colegas e amigos que construí durante o curso: Joan, Larissa, Samuel, Sabrina, Rayanne, Bruna Cavalcante, Bruna Lais, Djailton, Jutahy, Vanderléia, Marília, Luana Apoena, Raphael, Jucelino e Valdeir.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado que foi fundamental para a conclusão da minha pesquisa e término do mestrado.

A Universidade Estadual da Paraíba por disponibilizar a infraestrutura e ótimos profissionais (professores, técnicos e funcionários da limpeza) prestativos e responsáveis.

## SUMÁRIO

Lista de tabelas.....	vi
Lista de figuras.....	vii
Lista de abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xiii
Abstract .....	xv
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivo geral.....	2
1.2 Objetivos específicos.....	3
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1 A cultura do feijão-caupi e importância socioeconômica.....	4
2.2 Deficiência hídrica nos vegetais.....	6
2.3 Mecanismos de tolerância à estresses abióticos.....	7
2.4 Antioxidantes enzimáticos.....	8
2.5 Osmoprotetores.....	9
2.6 Ácido salicílico.....	10
2.7 Metionina.....	11
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>13</b>
3.1 Localização da área de pesquisa.....	13
3.2 Fatores em Estudo.....	13
3.3 Instalação e condução do experimento.....	14
3.4 Variáveis de status hídrico e crescimento das plantas.....	18
3.4.1 Potencial hídrico do pecíolo.....	18
3.4.2 Conteúdo relativo de água (CRA).....	19
3.4.3 Área foliar e determinação de massa fresca total.....	19
3.5 Ajustamento osmótico.....	19
3.5.1 Açúcares Solúveis Totais (AST).....	19
3.5.2 Prolina (PRO).....	20
3.5.3 Aminoácidos Livres Totais (AALT).....	21
3.5.4 Proteínas solúveis totais.....	21
3.6 Mecanismo antioxidante.....	22
3.6.1 Peróxido de hidrogênio.....	22
3.6.2 Superóxido Dismutase (SOD).....	22
3.6.3 Catalase (CAT).....	23
3.6.4 Ascorbato peroxidase (APX) .....	23
3.6.5 Fotossíntese e trocas gasosas.....	24
3.7 Análise estatística.....	24
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>25</b>
4.1 Variáveis de status hídrico e crescimento das plantas.....	25
4.1.1 Potencial hídrico e conteúdo relativo de água (CRA).....	25
4.1.2 Área foliar (AF) e Massa fresca (MF).....	28
4.2 Ajustamento osmótico.....	32
4.2.1 Açúcares Solúveis Totais (AST).....	32
4.2.2 Prolina (PRO).....	33
4.2.3 Aminoácidos Livres Totais (AALT).....	35
4.2.4 Proteínas solúveis totais (PST).....	37

4.3 Mecanismo antioxidante.....	39
4.3.1 Peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	39
4.3.2 Superóxido dismutase (SOD).....	41
4.3.3 Ascorbato peroxidase (APX).....	43
4.3.4 Catalase(CAT).....	45
4.4 Fotossíntese e trocas gasosas.....	47
5 CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS.....	53



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Fases e subfases do ciclo vegetativo e reprodutivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) segundo a classificação de Moura et al. (2012).....4
- Tabela 2.** Principais características das cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera utilizadas no experimento no período de outubro a dezembro de 2019. Campina Grande, PB, 2020.....14
- Tabela 3.** Características físico-químicas do solo utilizado durante o experimento no período de outubro a dezembro de 2019. Campina Grande, 2020.....15
- Tabela 4.** Terminologia usada no experimento para expor o estágio de desenvolvimento das plantas de feijão-caupi, durante a aplicação dos tratamentos. Campina Grande, PB, 2020.....18

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Cultivares de feijão-caupi utilizadas no experimento: BRS Novaera (A) e BRS Pajeú (B). Campina Grande, PB, 2019.....14
- Figura 2.** A) Disposição dos vasos na área experimental em delineamento inteiramente casualizado (DIC) espaçamento entre linhas (0,6 m) e vasos (0,8 m), usados durante a condução do experimento. B) covas para semeadura com profundidade de 2 centímetros. Campina Grande, PB, 2019.....16
- Figura 3.** A) Irrigação manual diária realizada com auxílio de regadores no período das 7 às 8 horas da manhã durante todo o experimento. B) Pesagem diária dos vasos para reposição hídrica referente a 100 e 50% da capacidade de campo do vaso. Campina Grande, PB, 2019.....17
- Figura 4.** Potencial hídrico do pecíolo ( $\Psi_w$ ) (A e B) e conteúdo relativo de água (C e D) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A e C) e 16 (B e D) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....26
- Figura 5.** Área foliar (A e B) e massa fresca (C e D) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A e C) e 16 (B e D) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....29

**Figura 6.** Açúcares solúveis totais das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....33

**Figura 7.** Prolina livre das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....34

**Figura 8.** Aminoácidos livres totais das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....36

**Figura 9.** Proteínas solúveis totais das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....38

**Figura 10.** Concentrações de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS

(ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....40

**Figura 11.** Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....41

**Figura 12.** Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....43

**Figura 13.** Atividade da enzima Catalase (CAT) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student,  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....45

**Figura 14.** Fotossíntese (A), transpiração (B), condutância estomática (C) e carbono interno (D) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 16 dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.....48

## LISTA DE ABREVIATURAS

AALT - aminoácidos livres totais

AF - área foliar

AS - ácido salicílico

ATP - trifosfato de adenosina

AST - açúcares solúveis totais

APX - ascorbato peroxidase

CAT - catalase

CGS - cistationa gama-sintase

CRA - conteúdo relativo de água

CO<sub>2</sub> - gás carbônico

DAS - dias após a submissão dos tratamentos com duas aplicações das substâncias

DNA - ácido desoxirribonucleico

EDTA - etilenodiaminotetracético.

EROs - espécies reativas de oxigênio

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - peróxido de hidrogênio

IRGA - Infra-redGas Analyzer

KCN - cianeto de potássio

MAP – fosfatomonamônico

mRNA - ácido ribonucleico mensageiro

MFT - massa fresca total

MET - metionina

MFD - massa fresca dos discos

Min - minutos

mg - miligrama

mL - mililitros

mM - milimolar

MPa - megapascal

MTD - massa turgida dos discos

MSD - massa seca dos discos

NBT - cloreto de nitrotetrazólio azul

Nm - nanômetro

O<sub>2</sub> - gás oxigênio

<sup>1</sup>O<sub>2</sub> - oxigênio singlete

OH• - radical hidroxila

O<sub>2</sub>•- - ânion superóxido

OGM - organismos geneticamente modificados

PRO - prolina

PST - proteínas solúveis totais

PVP - polivinilpirrolidona

Rpm - rotações por minuto

SAM - S-adenosil-Lmetionina

SOD - superóxido dismutase

TCA - ácido tricloroacético

VE - extravasamento de eletrólitos

Ψ<sub>w</sub> - potencial hídrico

μL - microlitros

μM - micromol

## RESUMO

OLIVEIRA, AUTA PAULINA DA SILVA. M.Sc. Universidade Estadual da Paraíba/ Embrapa Algodão, agosto de 2020. **Ácido salicílico e metionina mitigam os efeitos deletérios da restrição hídrica em feijão-caupi**. Campina Grande, PB, 2020. P 85. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Coorientador: Prof. Dr. Yuri Lima Melo.

No semiárido nordestino a restrição hídrica é um fator negativo para os vegetais, o qual reduz a produtividade e altera o metabolismo das plantas. Apesar da resistência a esse estresse abiótico, o feijão-caupi apresenta modificações na sua anatomia e fisiologia para se adequar às condições edafoclimáticas dessa região, as quais são atenuadas pelo uso de substâncias endógenas ou exógenas como o ácido salicílico e a metionina. Com base nessa informação, objetivou-se avaliar a aplicação foliar de ácido salicílico e metionina nas cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera, visando mitigar os efeitos deletérios da restrição hídrica. No experimento foram estudadas as cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera, ambas submetidas a 5 aplicações de substâncias eliciadoras: controle (referente a 100% da capacidade de campo do vaso, sem aplicação de eliciador); estresse (referente a 50% da capacidade de campo do vaso, sem aplicação de eliciador); estresse + aplicação de ácido salicílico (1,5 mM); estresse + aplicação de metionina (6 mM); estresse + ácido salicílico (1,5 mM) + metionina (6 mM). O delineamento inteiramente foi o casualizado, em esquema fatorial 2x5, com 5 (cinco) repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ), as condições de cultivos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) e as cultivares comparadas pelo teste t-student ( $P \leq 0,05$ ) com o programa computacional Sisvar 5.6. A restrição hídrica reduziu o status hídrico das plantas e aumentou o conteúdo de moléculas elicitoras como prolina, aminoácido e açúcares solúveis totais. A aplicação exógena de ácido salicílico e de metionina atenuaram os efeitos deletérios da restrição hídrica, auxiliando na manutenção do status hídrico do feijão-caupi. A ação antioxidante de APX, CAT e SOD foram potencializadas pela aplicação de ácido salicílico e metionina, estes elicitores induziram ao aumento da resistência contra os danos oxidativos proporcionados pelas espécies reativas de oxigênio. Entre as cultivares estudadas, a BRS Novaera se destaca pelo aumento de proteínas, aminoácidos e conteúdo interno de carbono, proporcionado pela aplicação de ácido salicílico e metionina.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Déficit hídrico. Osmorregulação. Antioxidantes enzimáticos.



## ABSTRACT

OLIVEIRA, AUTA PAULINA DA SILVA. M.Sc. Paraíba State University / Embrapa Cotton, august 2020. **Salicylic acid and methionine mitigate the deleterious effects of water restriction on cowpea**. Campina Grande, PB, 2020. P 85. Dissertation (Postgraduate Program in Agrarian Sciences). Advisor: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Coorientator: Prof. Dr. Yuri Lima Melo.

In the northeastern semiarid, water restriction is a negative factor for vegetables, which reduces productivity and alters plant metabolism. Despite resistance to this abiotic stress, cowpea has modifications in its anatomy and physiology to adapt to the edaphoclimatic conditions of this region, which are attenuated by the use of endogenous or exogenous substances such as salicylic acid and methionine. Based on this, the objective of this research was evaluate foliar application of salicylic acid and methionine in cultivars BRS Pajeu and BRS Nova Era, aiming to mitigate the deleterious effects of water restriction. In the experiment the cultivars BRS Pajeú and BRS Novaera were studied, both submitted to 5 applications of eliciting substances: control (referring to 100% of the pot's field capacity, without eliciting application); stress (referring to 50% of the vessel's field capacity, without the application of an elicitor); stress + application of salicylic acid (1.5 mM); stress + application of methionine (6 mM); stress + salicylic acid (1.5 Mm) + methionine (6 mM). The design was completely randomized, in a 2x5 factorial scheme, with 5 (five) replications. The data were submitted to analysis of variance by F test ( $P \leq 0.05$ ), cultivation conditions were compared by Tukey test ( $P \leq 0.05$ ), and cultivars were compared by t-student test ( $P \leq 0, 05$ ) by Sisvar statistical programme 5.6. Water restriction reduced the water status of plants and increased the content of elicitor molecules such as proline, amino acid and total soluble sugars. The exogenous application of salicylic acid and methionine decreased the deleterious effects of water restriction, helping to maintain the water status of cowpea plants. Also, the antioxidant action of APX, CAT, and SOD were enhanced by the application of salicylic acid and methionine, these elicitors induced an increase in resistance against oxidative damage provided by reactive oxygen species. Between the cultivars, BRS Novaera stands out for the increase in proteins, amino acids, and internal carbon content, provided by the application of salicylic acid and methionine.

**Key words:** *Vigna unguiculata* L. Walp. Water deficit. Osmoregulation. Enzymatic antioxidants.

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], pertence à família Fabaceae e apresenta ampla distribuição mundial. Esta espécie é em regiões tropicais e subtropicais, cujas características climáticas assemelham-se ao seu local de origem, a África (SILVA, 2016; FREITAS et al., 2017). Atualmente, o feijão-caupi apresenta grande variabilidade genética e é cultivado em sistemas de produção tradicionais e modernos (SILVA et al., 2010).

Marini et al. (2012) e Torres et al. (2015) afirmaram que o Brasil é o terceiro maior produtor mundial, e apesar da sua importância, o feijão-caupi apresenta baixa produtividade média devido às reduzidas disponibilidades hídrica e de nutrientes no solo. No entanto, a região Nordeste tem destaque na produção, a qual apresenta 377,3 mil hectares para plantio, e os estados da Bahia e Piauí tiveram produtividade prevista para os meses de maio a junho de 2020 de 90,1 e 65,9 mil toneladas, respectivamente (CONAB, 2020).

A baixa disponibilidade hídrica é uma característica marcante da região semiárida brasileira e acarreta danos fisiológicos e metabólicos aos vegetais, devido às alterações edafoclimáticas. Nessas condições, o aumento da transpiração e da permeabilidade do CO<sub>2</sub> no mesófilo foliar são intensificados (RIVAS et al. 2016). As plantas expostas ao déficit hídrico alteram rotas de sinalização, síntese e degradação de substâncias, propiciando o aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs) e de osmoprotetores (CARVALHO et al., 2019).

De forma natural, o combate das EROs por complexos enzimáticos é ativado, em que a enzima superóxido dismutase (SOD) atua dismutando radicais superóxido em peróxido de hidrogênio, o qual, por sua vez, é convertido a oxigênio e água por peroxidases (MEWARD et al. 2018). Para o feijão-caupi, a restrição hídrica foi responsável pela redução da área foliar de plântulas das cultivares BR14 Mulato e BR17 Gurguéia (BASTOS et al. 2012), do comprimento de raízes (COLMAN et al., 2014) e das reduções no potencial hídrico entre -1,15 e -0,85 MPa (NASCIMENTO et al. 2011).

Como mecanismo de defesa da ‘BRS Guariba’, sob restrição hídrica induzida pelo PEG 6000, Araújo et al. (2018) verificaram o aumento de prolina superior à 50%. Já para Dutra et al. (2017), a restrição hídrica ativou o mecanismo de defesa antioxidante e proporcionou

incrementos no teor da enzima superóxido dismutase de 87,42%, para o potencial osmótico de - 0,6 MPa.

Como meios alternativos de intensificar a proteção vegetal às condições adversas, nos últimos anos tem aumentado o uso de eliciadores exógenos (MEWARD et al., 2018). Dentre as diferentes substâncias aplicadas de forma exógena nos vegetais, destacam-se o ácido salicílico (AS), composto fenólico de origem natural das plantas, que atua em diversos processos fundamentais para a vitalidade dos vegetais, e a metionina (MET), aminoácido produzido por organismos vegetais e animais.

O efeito benéfico do AS já foi demonstrando em diferentes culturas sob restrição hídrica. A aplicação exógena do AS proporcionou aumentos de 24,78% na altura de plântulas em feijão-caupi (ARAÚJO et al., 2018); aumento nos teores de CAT em brotos de gergelim (SILVA et al., 2017) e incrementos nos pigmentos fotossintéticos na cultura do milho (MAZZUCHELLI et al., 2014).

A metionina, primeiro aminoácido a ser formado para composição de enzimas e proteínas, em baixas concentrações, limita a qualidade nutricional dos vegetais (SAINT-MACARY et al., 2015). Sua aplicação exógena intensifica a proteção sobre estresses (HACHAN et al., 2017) e auxilia no crescimento e desenvolvimento de alfafa (GOLAN et al., 2005) e em feijão-caupi (MEWARD et al., 2018).

Mediante o exposto, é de suma importância a compreensão dos processos de tolerância e de adaptação de cultivares de feijão-caupi ao déficit hídrico, associados a aplicação exógena de substâncias eliciadoras. É indispensável entender os processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos nos danos causados por tal estresse, cujo entendimento é de extrema relevância para a agricultura (SILVA et al., 2014).

## **1.1 Objetivo geral**

Avaliar a aplicação foliar de ácido salicílico e metionina em cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera, visando mitigar os efeitos deletérios da restrição hídrica.

## 1.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar o status hídrico e o aparato fotossintético de cultivares de feijão-caupi submetidos à restrição hídrica do solo, com e sem aplicação exógena de ácido salicílico e metionina;
- b) Determinar os níveis de solutos compatíveis (proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis totais e os níveis de prolina livre), concentração de peróxido de hidrogênio e quantificar a atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase), em folhas de cultivares de feijão-caupi submetidas à restrição hídrica do solo e com e sem a aplicação exógena de ácido salicílico e metionina;
- c) Identificar qual cultivar foi mais responsiva a aplicação de ácido salicílico ou metionina sob restrição hídrica do solo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do feijão-caupi e sua importância socioeconômica

O feijão-caupi é uma leguminosa de ciclo fotossintético C3, pertencente à família Fabaceae com grande importância na alimentação humana. É cultivado por grandes, médios e pequenos produtores devido à sua plasticidade sob restrição hídrica (VALE et al. 2012; PESSÔA, et al., 2017; RIVAS et al. 2016). O cultivo é feito principalmente nas regiões de clima tropical cujas temperaturas ideais para o cultivo variam entre 18 e 34 °C, porém as condições climáticas promovem limitações no crescimento e desenvolvimento da cultura, a qual exige melhorias no cultivo, a fim de aumentar sua produtividade (PESSÔA et al., 2017).

O feijão-caupi, durante seu ciclo de vida, possui duas etapas bem distintas: a fase vegetativa e a reprodutiva. A fase vegetativa é subdividida em 10 fases e a reprodutiva em 5 subfases (Tabela 1).

**Tabela 1.** Fases e subfases do ciclo vegetativo e reprodutivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) segundo a classificação de Moura et al. (2012).

Fases	Subfases	Características
	V0	Semeadura.
	V1	Os cotilédones encontram-se emergidos na superfície do solo;
	V2	As folhas unifolioladas encontram-se completamente abertas, suas duas margens estão completamente separadas;
	V3	A primeira folha trifoliolada encontra-se com os folíolos separados e completamente abertos;
	V4	A segunda folha trifoliolada encontrasse com os folíolos separados e completamente abertos;
<b>Vegetativa</b>	V5	A terceira folha trifoliolada encontra-se com os folíolos separados e completamente abertos;
	V6	Os primórdios do ramo secundário surgem nas axilas das folhas unifolioladas ou nas axilas das primeiras folhas trifolioladas;
	V7	A primeira folha do ramo secundário encontra-se completamente aberta;
	V8	A segunda folha do ramo secundário encontra-se completamente aberta;
	V9	A terceira folha do ramo secundário encontra-se completamente

Tabela 1, Cont.;

		aberta;
<b>Reprodutiva</b>	R1	Surgem os primórdios do primeiro botão floral no ramo principal;
	R2	Antese da primeira flor, geralmente oriunda do primeiro botão floral;
	R3	Início da maturidade da primeira vagem, geralmente oriunda da primeira flor (início da mudança de coloração das vagens – secagem);
	R4	Maturidade de 50% das vagens da planta;
	R5	Maturidade de 90% das vagens da planta;

Fonte: Moura et al. (2012).

Para Sadeghipour (2017) e Camara et al. (2018) o feijão-caupi é moderadamente tolerante ao déficit hídrico e ao estresse salino. Contudo, a sua área foliar tende a se reduzir em tais condições, como reportam Bastos et al. (2012), os quais, ao estudarem as cultivares BR14 Mulato e BR17 Gurguéia verificaram áreas foliares variando de 3 a 3,4 cm, 47 dias após a semeadura, sob diferentes lâminas de irrigação. Adicionalmente, Colman et al. (2014) também observaram em feijão-caupi reduções na área foliar, raiz e comprimento total das plântulas, ao utilizar diferentes potenciais osmóticos induzidos pelo PEG 6000, cujo potencial de -1,2 MPa foi o mais deletério às plantas.

Colman et al. (2014) e Medeiros et al. (2017) ressaltaram que a adaptação às condições de estiagem, baixos custos para produção, o curto tempo necessário para conclusão do ciclo e a produção em solos e ambientes com condições adversas são relevantes para a economia. O cultivo do feijão-caupi é de extrema importância por proporcionar empregabilidade, ofertar de mão-de-obra no campo e gerar lucros para pequenos e médios produtores (CAMARA et al., 2018). No entanto, a produtividade da cultura também é fortemente afetada pelo déficit hídrico. Bezerra et al. (2003) constataram reduções de 59% na produção de grãos nos tratamentos com déficit hídrico em todos os estádios fenológicos da cultura, comparados ao controle (100% da capacidade de campo).

Apesar da adaptabilidade e da resistência apresentadas pelo feijão-caupi, a cultura tem seus processos fisiológicos afetados por estresses abióticos. Em pesquisas com feijão-caupi e déficit hídrico, Bastos et al. (2012) observaram redução no potencial hídrico (-1,3 MPa), já Nascimento et al. (2011) observaram reduções entre -1,15 e -0,85 MPa. Todavia, Sousa et al. (2015) reportaram que a disponibilidade hídrica no solo acima de 50% não afeta o crescimento e o desenvolvimento do feijoeiro caupi.

## 2.2 Deficiência hídrica nos vegetais

As condições climáticas do semiárido não são favoráveis para o bom desenvolvimento das culturas, as precipitações médias anuais são inferiores à 800 mm, com temperaturas médias anuais de 23° a 27° C, insolação média de 2800h ano<sup>-1</sup>, evaporação de 2.000 mm ano<sup>-1</sup> e umidade relativa do ar média em torno de 50%, o que pode causar diferentes estresses abióticos nas plantas (MOURA et al., 2007).

Um estresse pode ser caracterizado como um fator de origem interna ou externa e que pode influenciar negativamente a fisiologia do vegetal. Pode-se associar estresse à resistência natural ou adquirida por meio da plasticidade fenotípica ou uso de substâncias atenuadoras de estresses (silício, ácido salicílico, metionina, por exemplo), circunstâncias pelas quais as plantas conseguem responder às diferentes condições e ambientes limitantes (TAIZ et al., 2017).

Dentre os estresses abióticos que mais afetam as plantas, a restrição hídrica apresenta-se como o fator deletério mais comum, principalmente no semiárido por causar perda na produtividade e afetar o setor econômico (PEREIRA et al., 2012; SILVA et al., 2014; FEITOSA et al., 2016). Nesse sentido, Mofokeng e Mashingaidze (2019) relataram que apenas 16% das áreas cultiváveis do mundo são potencialmente aráveis, fator intensificado pela deficiência hídrica, que pode tornar-se mais severa e conseqüentemente dobrar os danos causados ao meio ambiente até o ano de 2050.

Segundo Nascimento et al. (2011), as faixas de potencial hídrico letais para as plantas variam entre -1,4 e -6,0 MPa, todavia, para o feijão-caupi, os valores oscilam entre -1,4 e -2,5 MPa. Neste contexto, os indicadores de condições hídricas na planta estão relacionados à temperatura foliar e sua relação com a temperatura do ar, os quais, em situações de deficiência hídrica, a temperatura da folha tende a ser maior do que a do ambiente (NASCIMENTO et al., 2011).

Em outra pesquisa realizada por Feitosa et al. (2016), foi observado, com o aumento do déficit hídrico em *Sesamum indicum* L., que os danos metabólicos se agravaram; estes dados estão de acordo com os trabalhos de Fioreze et al. (2011), que averiguaram diminuição significativa do conteúdo relativo de água (CRA) em genótipos de soja sob condições de estresse. Adicionalmente, Dutra et al. (2012) observaram que o déficit hídrico reduziu o CRA (60%), o que ocasionou menor redução na área foliar, número de folhas, matéria seca do caule e da raiz em feijão-caupi.

A restrição hídrica também induz a produção de moléculas osmoprotetoras. Santos, Lima e Morgado (2010) observaram aumentos nos teores de carboidratos de 33,82%, 13,81%, 13,50%, 6,48% e 3,82% (comparados ao controle) para os genótipos de ciclo intermediários TE 90-180-5F, TE 90-169-4F, T-28 mediante irrigação de 271 mm. Araújo et al. (2017) relataram aumentos nos níveis de prolina nas cultivares BRS Potengi, BRS Aracê e BRS Itaim de feijão-caupi, submetidos a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.

Por fim, constata-se que, dentre os fatores climáticos que assolam as plantas, a água destaca-se como fator primordial para um bom desenvolvimento das funções vitais. A deficiência hídrica pode afetar quanti e qualitativamente as espécies. Neste sentido, discussões entre a redução do consumo de água potável para fins agrônômicos e a necessidade do seu uso para o bom desenvolvimento e desempenho das plantas, tornam-se um dos maiores desafios da humanidade (RAMOS et al., 2014).

### **2.3 Mecanismos de tolerância à estresses abióticos**

O desenvolvimento de diferentes culturas no campo geralmente está associado à presença de estresses bióticos e abióticos, como deficiência hídrica, presença de parasitas, altas intensidades luminosas, bem como altas temperaturas. A interação entre eles altera a anatomia e a fisiologia das plantas, bem como a expressão ou a repressão de genes. Entretanto, apesar do metabolismo alterado, as plantas conseguem desenvolver sistemas sensoriais que lhes permitem a adaptação em ambientes com condições adversas (SILVA et al., 2012; HOSSAIN et al., 2018).

A alteração metabólica sob estresses moderados e severos induz as plantas ao processo de aclimatação, o qual trata-se de uma alteração fenotípica devido às diferentes tensões ambientais, que envolvem processos moleculares, fisiológicos e anatômicos (WILLADINO E CAMARA, 2010). De acordo com Mozgova et al. (2019), a tolerância e a resistência aos fatores adversos podem ocorrer de forma natural ou através da indução de alterações epigenéticas. As alterações na resistência e adaptação também ocorrem mediante a associação com microrganismos ou aplicações exógenas de substâncias.

Sob restrição hídrica Andrade et al. (2020) constataram que aplicação de ácido salicílico e *Bradyrhizobium*, melhora o desenvolvimento do feijão-caupi e ativa o complexo antioxidante das enzimas APX, SOD e CAT. Já Fialho et al. (2019) ao aplicar ácido acetilsalicílico em sementes de *Annona squamosa* averiguaram aumento na porcentagem de germinação. Mendes et al. (2018) relataram que o ácido acetilsalicílico aumentou a emergência de sementes de



*Handroanthusochraceus* (Cham.) Mattos, cujos maiores percentuais de emergência foram encontrados nos tratamentos com 100 mg do composto com irrigações diária e alternada.

Algumas culturas são alvo de muitas pesquisas com aplicação exógena de compostos a fim de atenuar os efeitos do déficit hídrico e melhorar as relações edafoclimáticas. Para Umebese e Bankole (2013), a aplicação exógena de AS (3 e 5 mM), em condições de déficit hídrico, proporcionou aumento de 27% no potencial hídrico e 75% para área foliar de feijão-caupi. Para Noreem et al. (2017) a aplicação do AS em trigo, aumentou o teor de aminoácidos livres totais em 17,28%, comparado ao tratamento sem a substância, já Gorni (2018), para mesma variável, registrou incrementos de mais de 130% e salienta que o AS auxilia as plantas na síntese de proteínas e de compostos osmorregulatórios, como a prolina.

## 2.4 Antioxidantes enzimáticos

A exposição aos estresses ambientais aumenta a quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas, as quais alteram a fisiologia e a morfologia vegetal. Dentre as principais EROs destacam-se: os radicais superóxidos ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Tais substâncias são produzidas naturalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, as quais podem provocar um estresse oxidativo associado ao déficit hídrico, estresses térmico e salino (NUNES-JUNIOR et al., 2017).

Para Barbosa et al. (2014), as plantas apresentam complexos antioxidantes de defesa enzimáticos e não enzimáticos, que proporcionam a desintoxicação das células e amenizam os danos fitotóxicos. Enzimas como a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e glutathiona redutase (GR) atuam nessa defesa. A SOD é a primeira enzima atuante do complexo, responsável pela dismutação do  $\text{O}_2^\bullet$ , formando o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A CAT e a APX são responsáveis pela conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio e, a GR, retira os  $\text{H}_2\text{O}_2$  de diversos compartimentos celulares (MEWARD, et al., 2018).

Jadoski et al. (2015) em pesquisa com feijão, o aumento das enzimas catalase e superóxido dismutase nas tensões de água no solo de -30 e -40 kPa durante 7 dias, constituem a primeira linha de defesa contra as EROS e suas alterações em atividades e quantidades caracterizam-se como indicadores de mudança do estado redox em plantas, sob condições de seca. Diferente do observado por Silva-Junio et al. (2018) sementes de *Jatropha curcas* L. em três estádios de maturação, os autores averiguaram reduções para catalase, peroxidase de

guaiacol e ascorbato peroxidase reduziram nos três estádios de maturação, com exceção da SOD, enzima que tem ação aumentada no início e no fim do processo de maturação da semente.

Maia et al. (2012) também constataram alterações no complexo enzimático antioxidantes em plantas submetidas ao estresse salino; nessa pesquisa o NaCl foi responsável por reduzir o conteúdo de APX e CAT em 10% na cultivar Pitiúba de feijão-caupi. Contudo, Dutra et al. (2017) ao proporcionarem diferentes potenciais osmóticos, induzidos pelo PEG 6000 às plantas de feijão-caupi (BRS Guariba) e aplicar o AS (1mM), observaram incrementos de 33,29% a (-0,4 MPa), 87,42% (-0,6 MPa); e 82,62% (-0,8 MPa) na enzima SOD, comparados ao controle.

## 2.5 Osmoprotetores

Como resposta dos organismos vegetais às condições adversas impostas por estresses abióticos, o acúmulo de solutos compatíveis é comumente discutido na literatura (NASCIMENTO et al., 2015). Tais solutos podem apresentar-se como moléculas ou íons atóxicos que se acumulam no citoplasma celular, estabilizando proteínas e outras estruturas que garantem a manutenção do turgor das células (NASCIMENTO-SILVA et al., 2009). O ajuste osmótico é uma das estratégias desempenhadas pelos vegetais para amenizar os efeitos do déficit hídrico. Tal mecanismo possibilita a síntese e o acúmulo de solutos orgânicos no citosol celular, que aumenta seu potencial turgescer (SOUZA et al., 2013; SILVEIRA et al., 2016).

Em plantas de sorgo, Souza et al. (2013) observaram o ajustamento osmótico mediante o aumento de carboidratos solúveis totais sob déficit hídrico. Já para Araújo et al. (2018), incrementos de prolina (51,4%) foram constatados no potencial de -0,8 MPa, como mecanismo de defesa da 'BRS Guariba' à restrição hídrica induzida pelo PEG 6000. Carlin e Santos (2009) também observaram em cana-de-açúcar um acúmulo de 26,4% nos teores de glicina betaína equivalente a  $2,35 \mu\text{mol g}^{-1}$  com o aumento na restrição hídrica.

Silveira et al. (2016) explicaram que o aumento de osmoprotetores ocorre pela ação estabilizadora das macromoléculas sob desidratação e consideram a glicina betaína um excelente osmoprotetor. Por fim, Willadino e Camara (2010) explicam que os solutos compatíveis, presentes na osmorregulação, têm natureza química distinta e podem estar associados à resistência aos estresses, aos simples sintomas dos distúrbios metabólicos das plantas e a proteção contra EROs.

## 2.6 Ácido salicílico

O ácido salicílico (AS) é um composto de ocorrência natural nas plantas, o qual pode ser sintetizado através de duas rotas enzimáticas distintas, a rota da fenilalanina e a rota do isicorismato. A rota da fenilalanina inicia-se através do fenilpropanóide pela ação enzimática da fenilalanina amônia-liase, a qual converte-se em ácido trans-cinâmico que formará o ácido benzoico e este, por sua vez, é convertido em AS pela enzima ácido benzóico-2-hidroxilase (Duarte, 2018). Contudo, na rota do isicorismato, o corismato converte-se em isocorismato pela isocorismato sintase e é transformado em AS pela atuação enzimática da isocorismato piruvato liase (FAVARO, 2017).

O AS é um composto fenólico que apresenta funções de regulação no metabolismo vegetal, atuando na promoção de resistência e de adaptação (SÁNCHEZ et al., 2010; ANDRADE, 2018). Segundo Barros et al. (2010), o AS atua em sincronia com outros fitormônios como a citocinina, giberelina e ácido jasmônico ; também está envolvido na codificação de enzimas como a superóxido dismutase e as peroxidases (BARROS et al., 2010; LISBOA et al., 2017).

Para Lopes (2017), o AS apresenta função de defesa contra déficit hídrico, alterando o conteúdo dos pigmentos fotossintetizantes, massa seca da parte aérea e radicular, além de estimular o acúmulo de osmoprotetores como glicina-betaína e prolina. Mediante a aplicação do AS (1 mM), Araújo et al. (2018) constataram aumentos de 24,78% na altura de plântulas e maiores teores de clorofila ( $504,24 \mu\text{mol m}^{-2}$ ) na 'BRS Aracê' de feijão-caupi.

Para Dutra et al. (2017), o AS desempenha um papel importante na modulação das respostas contra o estresse hídrico. Os pesquisadores verificaram aumento da atividade antioxidante em feijão-caupi com embebição de sementes à 1 mM de AS. Nessas condições, houve incremento celular de CAT, no potencial osmótico -6,0 MPa para a BRS Itaim, cujos aumentos foram de 2,42 e 3,01 vezes superiores aos tratamentos sem embebição e embebidos em água, respectivamente.

Silva et al. (2017) comprovaram um aumento nos brotos das plântulas de gergelim com aplicação do AS, principalmente pelo aumento na atividade de catalase e superóxido dismutase nos potenciais mais severos do estresse hídrico (-0,8 MPa), promovido pelo polietilenoglicol 6000. A indução da tolerância à deficiência hídrica também foi observada por Mazzuchelli et al. (2014) na cultura do milho, cujos autores observaram incrementos de pigmentos fotossintéticos.

A busca pela compreensão de como o AS atua em diversos estresses e diferentes culturas têm crescido nos últimos anos. A função atenuadora desse elicitor foi comprovada em trigo mediante o uso de herbicida (Flumioxazin) (Dias et al., 2017); angico vermelho associado a irrigação alternada (Gastl-Filho et al., 2019); e feijão-caupi associado à *Bradyrhizobium* e déficit hídrico (Andrade et al., 2020).

## 2.7 Metionina

A metionina (MET) é um aminoácido fundamental para a síntese proteica e sua ausência inviabiliza o processo de transcrição do mRNA. A expressão da enzima cistationina gama-sintase (CGS) é a principal responsável pelo conteúdo de (MET) nas plantas (ALI et al., 2018). A MET também está associada à produção antifúngica (pela presença de enxofre), processos celulares e rotas metabólicas cujo seu principal produto é o S-adenosilmetionina, o qual atua como doador do grupo metil, além dos processos de divisão da célula, síntese de membranas, clorofilas, paredes celulares e etileno (SAINT-MACARY et al., 2015; HACHAN et al., 2017; ALI et al., 2018).

A MET é essencial à vida; é precursora da cisteína e pode ser sintetizada a partir de carboidratos, nitrogênio orgânico ou inorgânico, devido ao enxofre e às ligações dissulfeto que estabilizam as membranas das proteínas (WILKE, 2014). Estresses ambientais induzem a atuação do gene da S-adenosil-L-metionina sintase (SAMS), desencadeando a biossíntese de S-adenosil-L-metionina (SAM) que é um doador de metila a partir da metionina e do ATP (DING et al., 2019). Quando metilado, o SAM é imprescindível para biomoléculas como proteínas, esteróis, lipídios, DNA e RNA, porque desempenha papel importante na regulação do desenvolvimento das plantas (DING et al., 2019).

A função mitigadora do aminoácido foi observada por Ali et al. (2018), em seu estudo com lichia. A aplicação exógena de metionina reduziu o escurecimento do pericarpo dos frutos, o conteúdo de malondialdeído, peróxido de hidrogênio, vazamento de eletrólitos, peroxidase e atividades de polifenol oxidase com antocianinas de pericarpo, maiores teores de ácido ascórbico, fenólicos totais, atividades de ascorbato peroxidase, catalase e enzimas superóxido dismutase.

Ravanel et al. (1998) relataram a ação benéfica do tratamento com MET em *Arapdopsis thaliana*, com uso do aminoácido em concentração de 2 mM, estes pesquisadores observaram maior regeneração do crescimento quando comparadas aos tratamentos com efeitos inibidores

ocasionados por lisina e treonina. Para Merwad et al. (2018) a aplicação exógena de metionina, prolina e silício em plantas de feijão-caupi com irrigação deficitária, mostraram que, ao aplicar metionina (4 mM), as plantas de feijão-caupi tiveram crescimento e atributos de rendimento aumentados, além da diminuição do conteúdo relativo de água, aumento no extravasamento de eletrólitos e maior atividade da enzima catalase, em situação de maior deficiência hídrica.

Por se tratar de um aminoácido com a presença de enxofre, Ding et al. (2019) afirmaram que a metionina é suscetível a oxidação por espécies reativas de oxigênio. Dessa forma, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que visem a compreensão da atuação da metionina no metabolismo das plantas, quando aplicado de forma exógena, pois o aumento do aminoácido na alimentação humana e animal atenua efeitos deletérios à saúde dos organismos, tornando-se assim, um desafio para os pesquisadores na atualidade.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Localização da área de pesquisa

O experimento foi conduzido na área experimental situada no Horto Florestal (extensão do complexo de pesquisa Três Marias), pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, no período de agosto a dezembro de 2019. A preparação e a organização dos materiais usados, bem como as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB). Os lugares mencionados localizam-se no Bairro de Bodocongó, Campina Grande-PB, Brasil (07° 13' 50" de latitude, 35° 52' 52" de longitude e 551 m de altitude), cuja região semiárida apresenta precipitação média anual inferior à 800 mm, temperaturas médias anuais entre 23 e 27°C, evaporação de 2.000 mm ano<sup>-1</sup> e umidade relativa do ar variando em torno de 50% (MOURA et al., 2007).

#### 3.2 Fatores em Estudo

No experimento foram estudadas as cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera (Figura 1/ Tabela 1), ambas submetidas aos seguintes tratamentos experimentais: controle (referente a 100% da reposição hídrica da evapotranspiração, sem aplicação de eliciador); estresse (referente a 50% da reposição hídrica da evapotranspiração, sem aplicação de eliciador); estresse + aplicação de ácido salicílico - AS (0,015 mol L<sup>-1</sup>); estresse + aplicação de metionina - MET (0,06 mol L<sup>-1</sup>); estresse + AS (0,015 mol L<sup>-1</sup>) + MET (0,06 mol L<sup>-1</sup>).

**Figura 1.** Cultivares de feijão-caupi BRS Novaera (A) e BRS Pajeú (B). Campina Grande, PB, 2019.



**Fonte:** Autor, 2020.

**Tabela 2.** Principais características das cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera utilizadas no experimento no período de outubro a dezembro de 2019. Campina Grande, 2020.

<b>Principais características das cultivares de feijão-caupi</b>					
<b>Cultivares</b>	<b>Porte</b>	<b>Crescimento</b>	<b>Ciclo (dias)</b>	<b>Tipo de grão</b>	<b>Ano de lançamento</b>
BRS Novaera	Semi-ereto	Indeterminado	65-70	Branco, grandes e reniformes	2000
BRS Pajeú	Semi-prostado	Indeterminado	70- 75	Mulato claro, bem formados	2009

**Fonte:** Portal Embrapa, JANEIRO, 2020.

A pesquisa foi executada no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5, com 5 repetições. As concentrações de AS e MET foram determinadas a partir dos estudos de Andrade et al. (2020) e Merwad et al. (2018), respectivamente. A combinação desses fatores resultou em 50 unidades experimentais, cujas parcelas úteis foram representadas por um vaso contendo duas plantas (após o desbaste).

### 3.3 Instalação e condução do experimento

O solo foi analisado (Tabela 3) e caracterizado como franco argilo-arenoso. Foi realizada a correção com calcário dolomítico e (3,5g em cada vaso contendo 2kg de solo), ficando em

repouso por 30 dias. Quarenta e oito horas antes da instalação do experimento, as sementes foram selecionadas e padronizadas, mediante eliminação daquelas que apresentavam danos físicos, biológicos deformações. Após a seleção, as sementes foram pesadas e transferidas para um rolo giratório para aplicação do fungicida Captan<sup>®</sup>, na dosagem de 0,11 g 100 g<sup>-1</sup> de sementes, o rolo foi mantido em rotação por 5 minutos. Em seguida, as sementes permaneceram em repouso por 24 horas (BRASIL, 2009).

Antes da sementeira, o solo foi adicionado ao vaso com brita na base para facilitar a drenagem, posteriormente, foi realizada a saturação desse solo com água por um período de 48 horas, no intuito de deixá-lo na capacidade de campo do vaso no dia da sementeira (FEITOSA et al. 2016).

**Tabela 3.** Características físico-químicas do solo utilizado para o preenchimento dos vasos. Campina Grande, PB, 2019.

Características físicas									
Granulometria (g/kg)			Ct	Ds (g/cm <sup>3</sup> )	Dp	Pt	CE (nmhos/cm)		
Areia	Silte	Argila							
659	101	240	Franco argilo arenosa	1,38	2,63	0,48	-		
Características químicas									
Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	S	H <sup>+</sup>	Al	MO (g/kg)	pH	
2,38	1,66	0,23	14,14	-	5,69	5,69	20,38	4,8	

**Fonte:** Setor de Ciência do Solo da Universidade Federal da Paraíba, 2019.

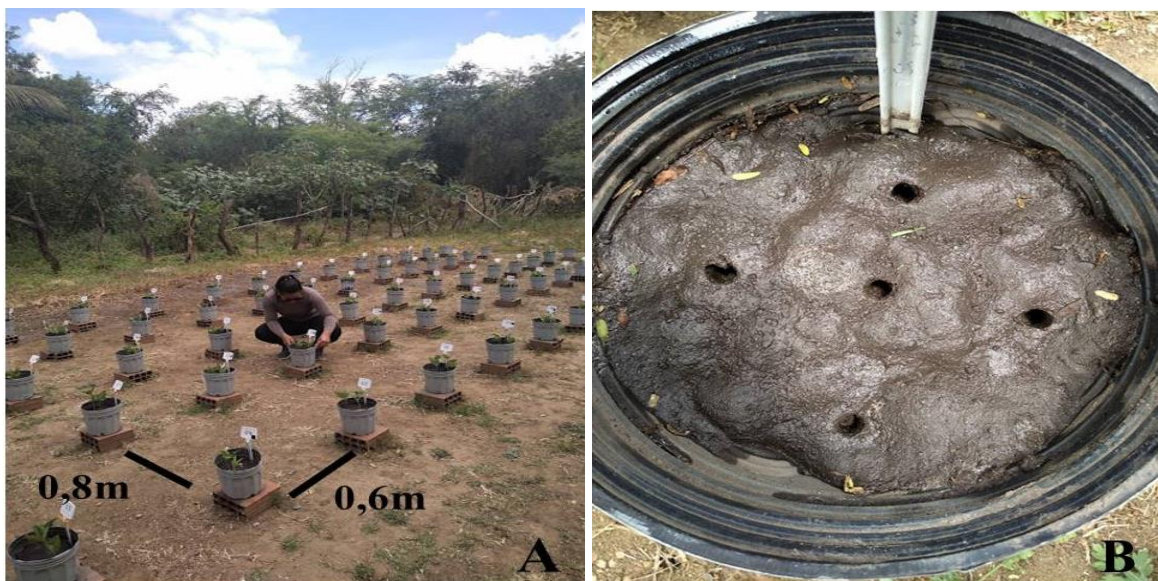
Os vasos tinham a capacidade de 3,6 litros e foram dispostos em 5 fileiras com 10 vasos cada e distanciadas de 0,8 m entre linhas e 0,6 m entre os vasos (Figura 2 A). Externamente, os vasos possuíam cor prata, a fim de refletirem a luz solar e evitar o aquecimento do substrato (RODRIGUES, 2015). A sementeira foi realizada com a distribuição de cinco sementes por vaso, equidistantes, com profundidade média de dois centímetros (Figura 2 B). 17 dias após a emergência, realizou-se o desbaste, deixando-se apenas 2 plantas por vaso para evitar a competição intraespecífica (CAMARA et al., 2018).

Desde a sementeira até a imposição dos tratamentos com déficit hídrico, a reposição hídrica foi realizada diariamente, de forma manual, com o auxílio de Becker e regadores (Figura 3 A), no período das 7:00 às 8:00 horas da manhã. A reposição hídrica ocorreu de acordo com o volume de água evapotranspirada em cada vaso, onde realizou-se a irrigação com 100 e 50% do



volume de água evapotranspirada para o tratamento controle e demais tratamentos (estresse, estresse + AS, estresse + MET e estresse + AS + MET), respectivamente.

**Figura 2.** Disposição dos vasos na área experimental em delineamento inteiramente casualizado (DIC) espaçamento entre linhas (0,6 m) e vasos (0,8 m) (A); aberturas para semeadura com profundidade de 2 centímetros (B), usados durante a condução do experimento. Campina Grande, PB, 2019.



**Fonte:** Autor, 2019.

O controle da reposição hídrica foi realizado diariamente por meio da pesagem dos vasos (Figura 3 B) e calculou-se a quantidade de água a ser repostada a partir da diferença entre o armazenamento máximo – AM (saturação do solo com água e drenagem completa verificada pela estabilização do peso) e o armazenamento atual – AT, segundo Casaroli e Van Lier (2008), através da fórmula:

$$I = AM - AT$$

Em que:

I – irrigação necessária, L vaso<sup>-1</sup>;

AM – capacidade de água disponível no vaso, L vaso<sup>-1</sup>;

AT – armazenamento atual, L vaso<sup>-1</sup>.

No 26º dia após a semeadura, realizou-se a aplicação de fertilizante foliar Agross, classe A (Composição: Boro (0,2%), cálcio (1%), cobre (0,2%), Carbono orgânico- total (6%), enxofre (0,8%), potássio- $P_2O_5$  (8%), Magnésio (0,5%), Manganês (0,6%), Nitrogênio (5%), Potássio  $K_2O$  (5%), Zinco (1%)) + surfactante com o auxílio do pulverizador costal, com capacidade de 5 litros. Aos 30º, 47º e 52º dias após a semeadura foi realizada a adubação de fundação com DripSol MAP- Fosfato Monoamônico (Solubilidade em água: Nitrogênio (12%);  $P_2O_5$ (65%) e  $K_2O$  (0%)), via irrigação, com base na análise do solo.

**Figura 3.** Irrigação manual diária realizada com auxílio de Becker e regadores no período das 7 às 8 horas da manhã, durante todo o experimento (A). Pesagem diária dos vasos referente a 100 e 50% da reposição hídrica do volume evapotranspirado (B).



**Fonte:** Autor, 2019.

Quando as plantas atingiram o final do estágio de desenvolvimento V8 (55 DAS) (Tabela 4), realizou-se a primeira aplicação das substâncias eliciadoras, numa quantidade de 20 mL por planta (na primeira aplicação haviam duas plantas no vaso, totalizando 40 mL por vaso), para cada solução (AS e MET, de forma isolada e conjunta), até o ponto de escoamento da solução, direcionado às regiões abaxial e adaxial das folhas.

Aos 63 DAS (8 dias após a aplicação dos tratamentos) quando as plantas encontravam-se no estágio de desenvolvimento R1 (Tabela 4), uma planta por vaso foi analisada quanto à sua altura (régua milimetrada), diâmetro do caule (paquímetro digital) e sua parte aérea coletada (corte realizado na base do caule) e transportadas em caixa térmica com gelo para posterior análise do status hídrico, massa fresca e indicadores bioquímicos em laboratório, acondicionadas em freezer -20 °C, para subseqüente análises.

**Tabela 4.** Terminologia usada no experimento para expor o estágio de desenvolvimento das plantas de feijão-caupi, durante a aplicação dos tratamentos. Campina Grande, PB, 2020.

<b>Estádios de desenvolvimento</b>	<b>Dias após a sementeira</b>
Final da fase V8	55 dias
Início da fase R1	63 dias

**Fonte:** Moura et al. (2012).

No décimo sexto dia após aplicação dos tratamentos, realizou-se uma segunda coleta, para serem analisadas as mesmas análises propostas para a primeira coleta, acrescentando-se as análises de trocas gasosas (Fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e carbono interno).

### **3.4 Variáveis de status hídrico e crescimento das plantas.**

#### **3.4.1 Potencial hídrico do pecíolo**

O potencial hídrico foliar do pecíolo ( $\Psi_w$ ) das plantas foi avaliado através do uso de uma câmara de pressão do tipo Scholander modelo 3005F01 da “Soil Moisture Corp” (Santa Bárbara, Califórnia, EUA) e expressos na unidade MPa (Scholander et al., 1965). As análises destrutivas ocorreram no oitavo e décimo sexto dias (em apenas uma planta), após a submissão ao déficit hídrico, no período da antemã, das 3:00 às 5:00 horas. Para esta análise foram usados pecíolos com folhas totalmente expandidas, sem danos e situadas na região mediana da planta (FREITAS et al., 2017).

### 3.4.2 Conteúdo relativo de água (CRA)

O CRA foi avaliado a partir de três discos de folhas frescas. Os discos foram obtidos através de cortes, auxiliados por um perfurador de cobre. Após a retirada dos discos, a pesagem foi realizada para obtenção da massa fresca (MFD) e, em seguida, foram imersos em 10 mL de água destilada, por um período de 24 horas. Após o tempo previsto, os discos foram pesados novamente, para obtenção da massa túrgida (MTD). Posteriormente, os discos foram submetidos a uma temperatura de 80 °C, em uma estufa de circulação de ar forçada por mais 24 horas, para aferição da sua massa seca (MSD). Dessa forma, o CRA (%) foi calculado baseado na seguinte equação proposta por Smart e Bingham (1974):

$$\text{CRA (\%)} = [(MFD - MSD)/(MTD - MSD) * 100]$$

Em que:

CRA (%) = conteúdo relativo de água em porcentagem.

MFD = massa fresca dos discos.

MTD = massa túrgida dos discos.

MSD = massa seca dos discos.

### 3.4.3 Área foliar e determinação de massa fresca total

A aferição da área foliar (AF) ocorreu mediante a separação de todos os folíolos das folhas presentes nas plantas coletadas, as quais foram dispostas no planímetro (LI-3100, USA) e expressas em cm<sup>2</sup> por planta. A determinação de massa fresca total (MFT) da parte aérea ocorreu mediante a pesagem do material coletado (logo após a coleta), em balança analítica de precisão, com quatro casas decimais (ARAÚJO, 2017).

## 3.5 Ajustamento osmótico

### 3.5.1 Açúcares Solúveis Totais (AST)

O extrato para aferição de AST foi obtido a partir de 200 mg da massa fresca de folhas, maceradas em 2 mL de etanol 80% (v/v). Após a maceração, os tubos de centrífuga com capacidade para 2mL, foram submetidos ao banho-maria (60 °C), por 30 minutos, e transferidos

à centrífuga (2.000 força g) para obtenção e coleta do sobrenadante. Retirado o sobrenadante, ao mesmo tempo, foram adicionados mais 2 mL de etanol (80%), para uma nova extração, seguido de novo aquecimento em banho-maria e posterior transferência para a centrífuga. Os sobrenadantes das duas lavagens foram misturados em tubos tipo Falcon e armazenados em dois tubos de centrífuga, com capacidade para 2mL, totalizando 4 mL do extrato por amostra.

A concentração de AST foi realizada pelo método de “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956). Para realização do ensaio, alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  da amostra foram adicionadas a tubos de ensaio, completados com 400  $\mu\text{L}$  de água destilada (diluição de 5 vezes), acrescido de 500  $\mu\text{L}$  de Fenol (5%), com posterior agitação. Para iniciar a reação, foram adicionados 2500  $\mu\text{L}$  (2,5 mL) de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Logo após, os tubos foram agitados novamente para homogeneização da reação. Posteriormente os tubos permaneceram por 20 minutos em temperatura ambiente para posterior leitura, em espectrofotômetro a 490 nm de absorvância. A concentração de AST foi quantificada de acordo com a curva padrão de glicose, com resultados expressos em  $\text{mg AST g}^{-1} \text{MF}$ .

### 3.5.2 Prolina (PRO)

A concentração de prolina livre foi determinada pelo método colorimétrico, proposto por Bates et al. (1973). Foram pesados 0,25 g de tecido foliar fresco e macerados em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL), o qual foi centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi retirado e armazenado em tubos para centrífuga de 2 mL, para posterior determinação da concentração de PRO. Na sequência, tubos de ensaio rosqueáveis foram usados para adição da mistura: extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1:1 (volume total 3 mL). Após a mistura das substâncias, os tubos foram submetidos ao banho-maria por 1 h (100 °C), para o desenvolvimento da cor rosa/vermelha (dependendo da concentração de prolina no extrato).

Em seguida, os mesmos tubos foram resfriados em banho de gelo para estabilizar a reação e posteriormente foram adicionados 2 mL do reagente tolueno. Na sequência, os tubos foram agitados em vórtex por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos, até a separação da solução em duas fases (cromóforo e translúcida). A leitura do sobrenadante ocorreu em espectrofotômetro (520 nm) e o tolueno puro foi usado como branco, para zerar o aparelho. A concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L- prolina e expressa em  $\mu\text{mol g de matéria fresca}^{-1}$ .

### 3.5.3 Aminoácidos Livres Totais (AALT)

A concentração de AALT foi determinada segundo o método descrito por Peoples et al. (1989), com algumas modificações. O extrato para aferição de AALT foi obtido a partir da maceração de 250 mg de massa fresca de folhas das plantas, em 5 mL de ácido sulfosalicílico (3%) e centrifugação a 2000 rpm, por um período de 10 minutos. O sobrenadante foi retirado e armazenado a -20 °C em *freezer* para posterior mensuração.

Alíquotas de 200 µL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio, acrescidas de 300 µL de água destilada. Em seguida, foram adicionados aos tubos 250 µL de solução de Tampão Citrato (200 mM e pH 5,0) e 250 µL de reagente de ninhidrina (1,0 mL de KCN a 0,01 mol L<sup>-1</sup> e 0,5 g de ninhidrina em 59 mL de etilenoglicol monoetil éter puro). Os tubos de ensaio contendo a reação foram hermeticamente fechados com borrachas e papel filme, agitados e levados ao banho-maria a 100 °C, por 15 minutos. Logo após, a reação da solução foi interrompida imediatamente com banho de gelo, para posterior adição de 1,5 mL de Etanol a 50% (v/v). Após nova agitação, os tubos permaneceram por 20 minutos em temperatura ambiente, para posterior leitura em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância. A concentração de AALT foi quantificada de acordo com a curva padrão de glutamina e expressa em µmol AALT g<sup>-1</sup> MF.

### 3.5.4 Proteínas solúveis totais (PST)

Para extração de proteínas solúveis totais (PST) foram utilizados 200 mg da massa fresca de folhas, seguindo os seguintes passos para extração: o material vegetal foi macerado com o auxílio de gral e pistilo gelados, onde foram adicionados 3,0 mL de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,0 + EDTA 1 mM) e, em seguida, colocado em tubos do tipo *ependorf* para posterior centrifugação (5000 força g), por um período de 10 minutos, em centrífuga refrigerada (4 °C).

Por fim, o precipitado foi descartado e o sobrenadante armazenado em *freezer* (-20 °C) para realização das análises no mesmo dia. Após a extração, a concentração de PST foi determinada segundo a metodologia de Bradford (1976), as alíquotas dos extratos proteicos foram colocadas em cubeta de quartzo, acrescidas do reagente de Bradford. A proporção de volume para a quantificação foi de 22,7 µL do extrato e 700 µL reagente de Bradford. Em seguida, a solução foi agitada manualmente de forma delicada, para evitar a desnaturação das

proteínas, e por fim realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm de absorvância, utilizando a curva padrão de albumina como referência com os dados expressos em mg PST g<sup>-1</sup> MF.

### **3.6 Mecanismo antioxidante**

Para o processo de obtenção do extrato enzimático, seguiu-se a mesma metodologia adotada para extração de proteínas solúveis totais.

#### **3.6.1 Peróxido de Hidrogênio**

O extrato para aferição do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi obtida através da maceração de 100 mg de material vegetal fresco em 2 mL ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. Após a maceração, o conteúdo extraído passou por centrifugação a 2000 rpm, por 10 minutos, para obtenção do sobrenadante. Ao obtermos o sobrenadante, a solução de leitura foi preparada usando iodeto de potássio (1 M) e tampão fosfato pH 7,0. Em tubos de ensaio, adicionou-se: 1000 µL do extrato + 100 µL de iodeto de potássio + 900 µL do tampão fosfato de potássio (a solução foi submetida a uma temperatura de 30 °C, por 10 minutos, em banho-maria). Posteriormente, os tubos foram submetidos a temperatura ambiente, para posterior leitura. As leituras foram realizadas a 390 nm de absorvância, utilizando como referência a curva padrão de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> umol mL<sup>-1</sup>, cuja concentração de peróxido foi expressa em µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> MF (VELIKOVA et al., 2000).

#### **3.6.2 Superóxido Dismutase (SOD)**

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base na capacidade de inibição da fotorredução do cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT), pela enzima presente no extrato vegetal. Alíquotas de 50 µL do extrato enzimático foram adicionados em tubos de ensaio, protegidos da luz (tubos cobertos com material na cor preta), contendo o meio de reação (1,5 mL), composto por tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7) e acrescido de EDTA (0,1 mM), metionina (13 mM), e NBT (75 µM). Em seguida, a reação foi iniciada pela adição de riboflavina (7 µM).

Após um período de 15 min, ocorreram as leituras do branco da reação (branco do escuro) e posteriormente as mesmas soluções foram transferidas para tubos transparentes, e



alocados em uma caixa de reação vedada, com iluminação interna (35 watts) e temperatura ambiente, por 15 minutos. Posteriormente, as leituras do branco do claro foram realizadas (os quais representam 100% da redução do NBT). Todas as leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro regulado em 560 nm de absorvância, cuja atividade foi expressa em  $U \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971).

### 3.6.3 Catalase (CAT)

A atividade da enzima CAT foi quantificada de acordo com Kar e Mishra (1976), a qual é definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pela enzima presente no extrato. A reação teve início pela adição do extrato enzimático (150  $\mu\text{L}$ ) na cubeta de quartzo, contendo o meio de reação (2,95 mL), composto por tampão fosfato de potássio (50 mM com pH 7) e acrescido de peróxido de hidrogênio (20 mM). Após uma leve agitação, a solução foi levada ao espectrofotômetro, regulado em 240 nm, cujos decréscimos da absorvância foram observados durante 2 min e as leituras realizadas a cada 10 segundos. A equação de Lambert-Beer ( $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ ), onde  $A$  = diminuição da absorvância (média em triplicata);  $\epsilon$  = coeficiente de extinção molar (39,4  $\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );  $b$  = comprimento do caminho óptico (1 cm);  $c$  = concentração da enzima expressa em  $\text{mol L}^{-1}$ , foi usada. A atividade da CAT foi expressa em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

### 3.6.4 Ascorbato peroxidase (APX)

A atividade da enzima APX foi calculada com base no consumo do ascorbato, através do monitoramento do decréscimo da absorvância a 290 nm em cubeta de quartzo. Foram misturados 100  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático ao meio de reação (2,7 mL) composto por tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 6,0) e acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). Em seguida, a reação foi iniciada pela adição de 200  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (2 mM), à qual foi monitorada pelo decréscimo da absorvância, durante 1 min, com a realização das leituras a cada 10 segundos. A equação de Lambert-Beer ( $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ ), onde  $A$  = diminuição da absorvância (média em triplicata);  $\epsilon$  = coeficiente de extinção molar (2,8  $\text{mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );  $b$  = comprimento do caminho óptico (1 cm);  $c$  = concentração da enzima expressa em  $\text{mol L}^{-1}$ , foi usada. A atividade final de CAT foi expressa em  $\text{nmol de ascorbato min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína (NAKANO e ASADA, 1981).



### 3.6.5 Fotossíntese e trocas gasosas

As variáveis de trocas gasosas da planta, fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), transpiração ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e concentração interna de  $\text{CO}_2$  (ppm) foram analisadas no dia da segunda coleta, 15 dias após a submissão das plantas de feijão-caupi aos diferentes tratamentos, na ausência e presença de déficit hídrico e dos eliciadores, no período das 8:00 às 12:00 horas. As avaliações foram realizadas em folhas completamente expandidas, na porção mediana da planta, com auxílio do analisador de gás infravermelho - IRGA (Infra-red Gas Analyzer) - GFS 3000 FL.

### 3.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ), as condições de cultivos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) e as cultivares comparadas pelo teste t-student ( $P \leq 0,05$ ) por meio do programa computacional Sisvar 5.6.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

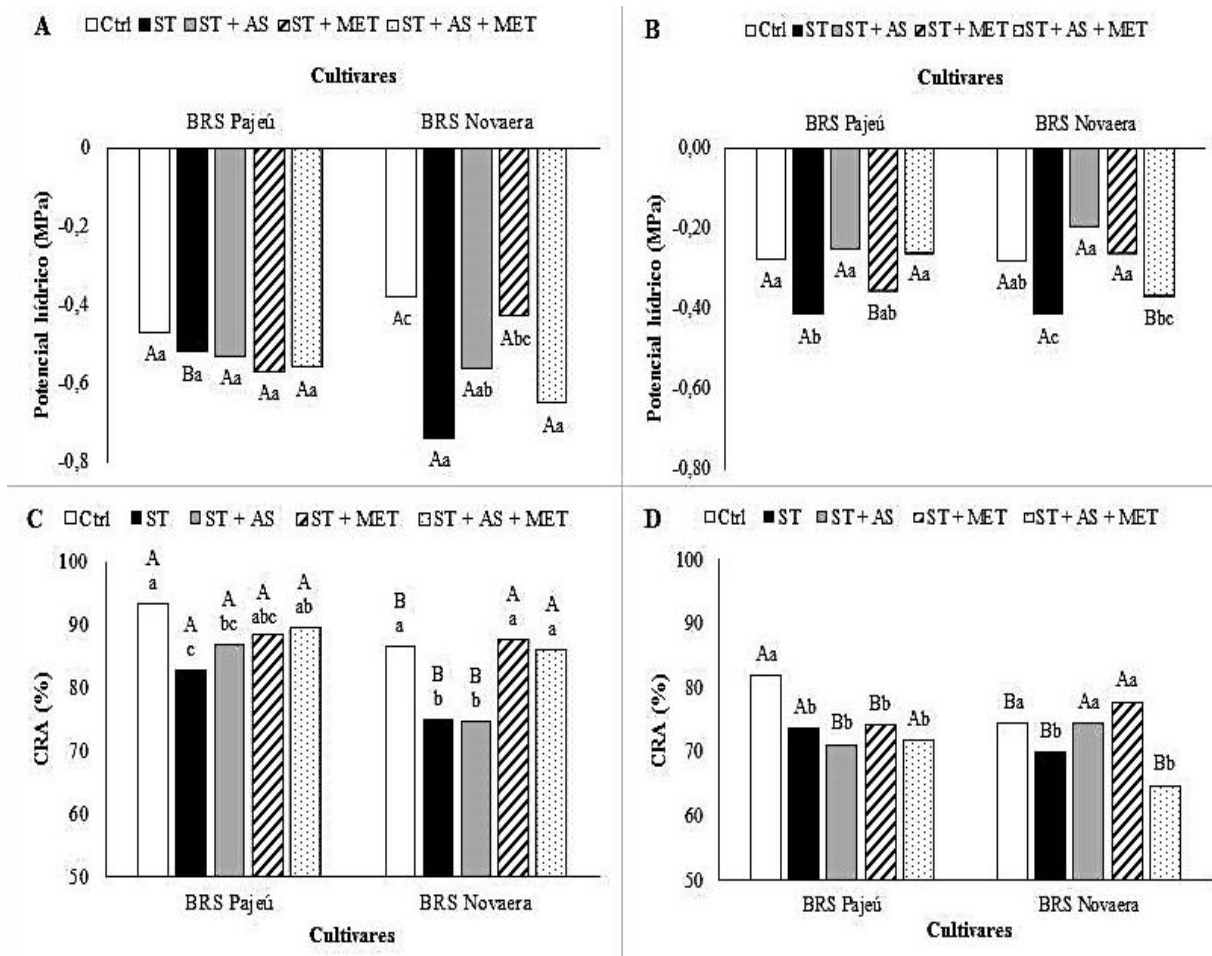
### 4.1 Variáveis de status hídrico e crescimento das plantas

Foram avaliados os efeitos dos tratamentos em relação às variáveis de status hídrico e de crescimento: potencial hídrico ( $\Psi_w$ ), conteúdo relativo de água (CRA), área foliar (AF) e massa fresca (MF).

#### 4.1.1 Potencial hídrico e CRA

Quando avaliado o potencial hídrico em condições de restrição hídrica, observou-se redução significativa apenas na cultivar BRS Novaera (94%), comparado ao tratamento controle, após 8 dias das aplicações foliares (DAS) (Figura 4 A). Nesse mesmo período, em condição de estresse, verificou-se que a cultivar BRS Pajeú apresentou o maior potencial hídrico (-0,52 MPa), comparado à cultivar BRS Novaera (-0,74 MPa), não diferindo do seu controle (-0,47 MPa) (Figura 4 A). Após 16DAS, houve reduções (50%) no potencial hídrico na condição de estresse, tanto para cultivar BRS Pajeú, quanto para ‘BRS Novaera’, comparadas aos respectivos controles (Figura 4 B).

O CRA reduziu em ambas cultivares, independente do período de submissão ao déficit hídrico (Figura 4 C e D). Após 8 DAS, a maior redução no CRA foi observada na ‘BRS Novaera’ (13,74%) (Figura 4 C). Após 16 DAS a BRS Pajeú apresentou redução de 20% no CRA (Figura 4 D).



**Figura 4.** Potencial hídrico do pecíolo ( $\Psi_w$ ) (A e B) e conteúdo relativo de água (C e D) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Nova Era submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A e C) e 16 (B e D) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Maiores valores de  $\Psi_w$  verificados nos controles da BRS Pajeú (-0,47 e -0,28) e BRS Novaera (-0,38 e -0,28), nos períodos avaliados, respectivamente, refletem que as plantas com maior disponibilidade hídrica no solo conseguiram se desenvolver bem e mantiveram a turgescência celular. Nessas situações as plantas mantêm os processos metabólicos vitais, diferente do que acontece quando são submetidas a situações de estresse (VIEIRA et al., 2011).

Sob condições de déficit hídrico, distúrbios fisiológicos, principalmente aqueles relacionadas à redução do potencial hídrico foliar e do conteúdo relativo de água, levam ao aumento da temperatura foliar, reduções na condutância estomática, área foliar, matéria seca total, transpiração, concentrações internas de  $\text{CO}_2$  e danos aos processos fotossintéticos, os quais

limitam o enchimento dos grãos e, conseqüentemente, o rendimento vegetal (ANDRADE et al., 2020).

Quanto ao CRA, embora a sua manutenção pelas plantas de feijão-caupi seja considerada estratégia de tolerância ao déficit hídrico, houve redução (11%) aos 16DAS, quando comparado ao período de 8DAS. Esse resultado foi obtido, provavelmente porque o estágio de desenvolvimento do feijoeiro estava próximo ao reprodutivo, o qual necessita de maior demanda de água na produção de fotoassimilados e enchimento de grãos (SOUSA, 2015) e pela maior exposição ao déficit hídrico.

Neste estudo, o CRA teve a função de indicar o estado de água nas plantas, o qual esteve diretamente relacionado à captação de água e as taxas transpiratórias, assim como descrito por Sadeghipour (2017), pois seus valores acompanharam as alterações no potencial hídrico foliar. Reduções no CRA em vegetais sob restrição hídrica no solo também foram averiguadas por Fioreze et al. (2011) no genótipo CD 217 de soja (40%), no início do período reprodutivo e por Almeida-Silva et al. (2014) em cana-de-açúcar (87,09%).

Reduções do  $\Psi_w$  em diferentes variedades de feijão-caupi sob déficit hídrico foram observadas por Nascimento et al. (2011), cujos valores variaram entre -1,15 e -0,85 MPa. Os pesquisadores ressaltaram que o  $\Psi_w$  hídrico foliar pode ter variações conforme a cultivar, estágio de desenvolvimento e das condições edafoclimáticas. Também é atribuído para esta cultura valores letais de  $\Psi_w$  em uma escala de -1,5 a -2,5 MPa (NASCIMENTO et al. 2011; AYALA et al. 2013).

Sob déficit hídrico, a aplicação foliar de AS (1,5 mM) aumentou o potencial hídrico da cultivar BRS Pajeú, após 16DAS (68%), e da 'BRS Novaera', após 8 (32,14%) e 16 dias (110%) (Figura 4 A e B). Aumentos de 5% e 7% também foram observados no CRA após aplicação do AS no cultivar BRS Pajeú, após 8 dias, e no BRS Nova Era, após 16 dias, respectivamente, comparados às parcelas sem aplicação foliar de AS (Figura 4 C e D). Adicionalmente, os aumentos no potencial hídrico em ambos os períodos avaliados, bem como o aumento do CRA após 16 dias de imposição ao estresse, sugerem que a cultivar BRS Novaera foi mais responsiva à aplicação do AS com comparada com a 'BRS Pajeú'.

No entanto, após 16DAS o AS proporcionou aumento no potencial hídrico nas cultivares pesquisadas, supostamente devido à função do eliciador ao favorecer a produção de moléculas que atuam no ajustamento osmótico das plantas (ANDRADE et al., 2020) e por ser antioxidante não-enzimático envolvido na ativação da defesa vegetal sob estresse (VIEIRA, 2011). A manutenção do status hídrico de feijão-caupi foi observada por Dutra et al. (2017) nas cultivares

‘BRS Guariba’, ‘BR 17 Gurguéia’, ‘BRS Aracê’, ‘BRS Marataoã’, ‘BRS Itaim’ e ‘BRS Potengi’, estudando a aplicação do AS sobre os efeitos da restrição hídrica.

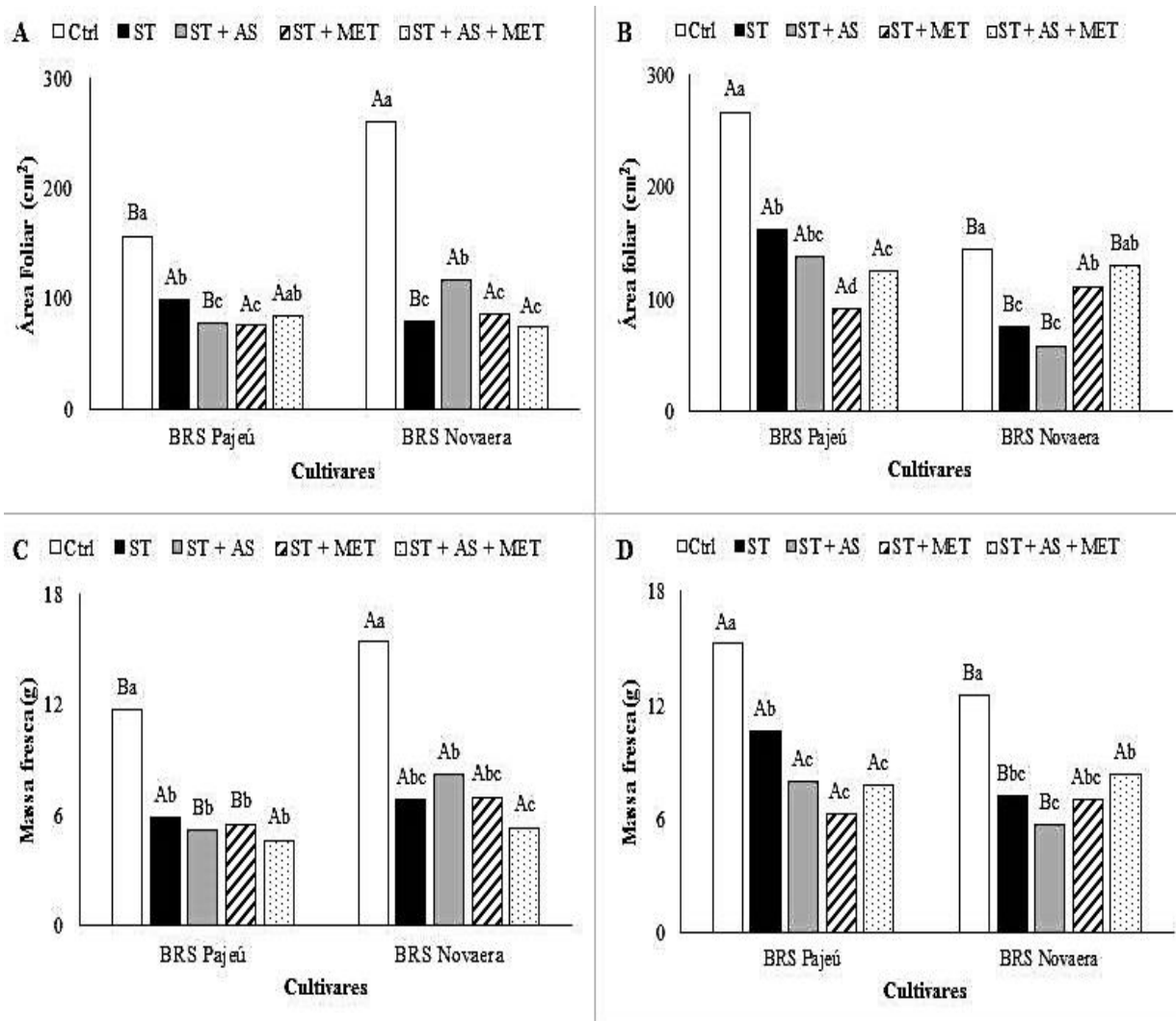
Acrescente-se que o AS é capaz de manter a absorção de água e a turgidez celular em níveis suficientes para que as plantas se mantenham vivas (COELHO et al., 2017). Em condições de déficit hídrico, o AS proporcionou aumento do  $\Psi_w$  em feijão-caupi de 27% em relação ao controle em estudo de Umebese e Bankole (2013), e nas cultivares BRS Rouxinol e BRS Marataoã (ANDRADE et al., 2020). Para os pesquisadores e pelos resultados desta pesquisa, o uso exógeno do AS em feijão-caupi, sob deficiência hídrica, induz melhoria no uso da água pelas plantas, as quais ajustam as trocas gasosas e com isso os eventos osmoregulatórios são ativados em conjunto aos complexos enzimáticos de defesa antioxidantes.

A aplicação de metionina de forma isolada aumentou o potencial hídrico da cultivar BRS Nova Era, após 8 (72%) e 16 dias (61%) de submissão aos tratamentos, comparados aos seus respectivos tratamentos com estresse (ST) (Figura 4 A e B). Já para o CRA, observou-se aumentos nos valores médios de ambas cultivares, independente do período avaliado, mas superior na BRS Nova Era, com aumentos de 17% e 11%, após 8 e 16 dias, respectivamente, comparados aos tratamentos ST (Figura 4 C e D). A aplicação conjunta de AS e MET não apresentou efeito significativo quando comparado às aplicações isoladas, independente da cultivar e do tempo de aplicação.

Apesar das alterações no status hídrico (Figura 4) observadas neste estudo, as plantas tiveram efeitos deletérios atenuados mediante a aplicação de substâncias eliciadoras (AS e MET), cujo AS é responsável pela mitigação do déficit hídrico (MAZZUCHELLI et al., 2014), já a MET atua doando grupos metila que são importantes na regulação do desenvolvimento das plantas (DING et al., 2019).

#### **4.1.2 Área foliar (AF) e Massa fresca (MF)**

Houve reduções da área foliar (AF) das cultivares de feijão-caupi no déficit hídrico (ST), quando comparado ao controle, após 8 DAS (Figura 5 A). Verifica-se, no ST que a ‘BRS Pajeú’ apresentou maior AF (98,91 cm<sup>2</sup> por planta) ao ser comparada a ‘BRS Novaera’ (79,55 cm<sup>2</sup> por planta). Ao confrontar os sistemas de cultivos após 16 DAS, foi observada a redução da AF, tanto na ‘BRS Pajeú’ (40%), quanto na ‘BRS Novaera’ (48%) (Figura 5 B).



**Figura 5.** Área foliar (A e B) e massa fresca (C e D) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A e C) e 16 (B e D) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares ( $t$ -student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Assim como a AF, a biomassa fresca (MF) das cultivares foi reduzida sob déficit hídrico (8 DAS) (Figura 5 C). Nesse período, no ST, a BRS Novaera (6,84 g de MF/planta) foi superior à ‘BRS Pajeú’ (5,89 g de MF). Após 16 DAS a tendência de redução de MF no ST foi mantida, sendo 30,44% na ‘BRS Pajeú’ e 67% na ‘BRS Novaera’.

A redução observada da AF e da MF no déficit hídrico corroboram os potenciais hídricos mais negativos (Figura 4 A e B). A redução de AF interfere diretamente na realização da fotossíntese, e, de acordo com Lago et al. (2011), menores áreas disponíveis para captação de luz

reduzem a quantidade de carbono interno, bem como, as taxas transpiratórias, aumentando a condutância estomática das folhas e, conseqüentemente, a redução na expansão celular.

Bastos et al. (2012) afirmaram que a redução da AF é estratégia de sobrevivência do feijão-caupi por meio da diminuição da taxa de transpiração. Para Padilha et al. (2016), a redução de AF pode alterar a produção e o transporte de fotoassimilados para as áreas de crescimento, como mecanismo de defesa. A redução da AF foi averiguada por outros pesquisadores sob condição de déficit hídrico: Sousa e Lima (2012) em *Phaseolus vulgaris* L.; Almeida-Silva et al. (2015) em cana-de-açúcar; Pereira et al. (2016) em meloeiro e Souza et al. (2016) em feijão-caupi.

Sousa et al. (2015) registraram que, valores de disponibilidade de água no solo acima de 50% nas plantas de feijão-caupi não têm seus crescimento e produção afetados, o que comprova os melhores índices de AF e MF constatados nesta pesquisa (Figura 5). Para Andrade (2018), a redução de AF sob restrição hídrica, por conseguinte reduziu a biomassa fresca também. De acordo com Padilha et al. (2016), essa sincronia de AF com MF tem relação com a quantidade de água disponível e os níveis de fotoassimilados gerados, em que menores áreas foliares implicam em menor teor de carboidrato produzido.

Reduções da MF da parte aérea sob déficit hídrico também foram observadas por Morales et al. (2010) em tomateiro; Santos et al. (2012) em trigo; Oliveira et al. (2014) em *Phaseolus lunatus* L. e Souza et al. (2016) na BRS Pujante de feijão-caupi. Morales et al. (2010) reportaram que aumentos na MF em plantas sem o déficit hídrico, são responsáveis por maiores taxas transpiratórias como reflexo da quantidade de água disponível no solo. Diferentemente do observado no estresse, este pode ocasionar abscisão foliar, redução da AF e redução da transpiração como mecanismos de defesa vegetal.

Aplicando o AS de forma isolada, observou-se que a substância proporcionou incrementos de AF (47%) e MF (21%), aos 8 DAS, para 'BRS Novaera' (Figuras 5 A e C). Nesse mesmo período, a 'BRS Pajeú' não diferiu do ST tanto para AF, quanto para MF. Contudo, aos 16DAS não foram observadas diferenças em relação ao ST sob a AF, sugerindo-se que os efeitos benéficos do AS sob essa variável foram similares aos de ocorrência natural ou não teve efeito.

Para Mazzuchelli et al. (2014), por ser um hormônio vegetal, o AS atua diretamente com outros fitormônios na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas. Os incrementos de AF e MF observados após aplicação do AS na 'BRS Novaera' aos 8 DAS são atribuídos a atuação desse composto em manter o status hídrico dos vegetais, bem como a síntese de

metabólitos e expansão dos tecidos (ANDRADE et al., 2020). O aumento da AF mediante a aplicação de AS também foi observado por Nazar et al. (2015) em plantas de mostarda, Andrade et al. (2020) em diferentes genótipos de feijão-caupi e Mazzuchelli et al. (2014) em mudas de eucalipto, ao aplicar 300 mg L<sup>-1</sup> de AS.

Andrade et al. (2020), ao estudarem quatro cultivares de feijão-caupi ('BRS Marataoã', 'BR 17 Gurguéia', 'BRS Aracê' e 'BRS Rouxinol'), observaram efeitos benéficos do AS ao aplicá-lo em plantas sob déficit hídrico, ressaltando comportamento de AF similar à reposição hídrica na condição controle. Todavia, ao estudar diferentes lâminas de irrigação em feijão-caupi, Bastos et al. (2012) constataram que menores lâminas de irrigação estão associadas a menores índices de AF e que o aumento do suprimento de água, conseqüentemente aumentou a AF das cultivares BRS Paraguaçu' e BRS Guariba.

A resposta do AS no feijão-caupi é dependente da cultivar ou genótipo, da concentração da substância aplicada de forma exógena, bem como, sua interação com o ambiente. Senso assim, em pesquisas relacionadas às condições de restrição hídrica, há registros da ação benéfica do AS, tais como as de Umebese e Bankole (2018) que verificam aumento de 75% para AF ao aplicar 3 e 5 mM em feijão-caupi, Gomes et al. (2018) em milho e Gorni (2018) em *Achillea millefolium* L. Por outro lado Gastl-Filho et al. (2017) constataram efeito negativo do AS na matéria fresca de pepino na concentração de 3,5 mM.

Aplicação isolada da metionina promoveu aumentos de 7% (8 DAS) e 48,4% (16 DAS) na AF da cultivar 'BRS Novaera' (Figuras 5 A e B), seguindo a mesma tendência observada no potencial hídrico e CRA (Figuras 4 B e D). Para MF, não se observou diferença da aplicação foliar de MET sob as cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera cultivadas no ST. Após 16DAS a mesma cultivar não diferiu, significativamente, do ST, nem teve seu valor médio da MF alterado (Figura 5 C e D).

A MET exógena (6 mM) foi responsável por incrementos de AF e MF, nas cultivares estudadas, apesar de ser um aminoácido limitante na cultura do feijão-caupi (GONÇALVES et al., 2016). Sua atuação nos vegetais foi averiguada por Meward et al. (2018) que, usando 4 mM da substância constataram o efeito benéfico nos parâmetros de crescimento. Já Golan et al. (2005), estudando alfafa transgênica observaram melhorias no desenvolvimento das plantas, assim como o acúmulo de zeína, o que demonstra que o aminoácido exógeno em concentrações diferentes, atua de forma benéfica tanto em feijão-caupi, quanto em outras culturas.



## 4.2 Ajustamento osmótico

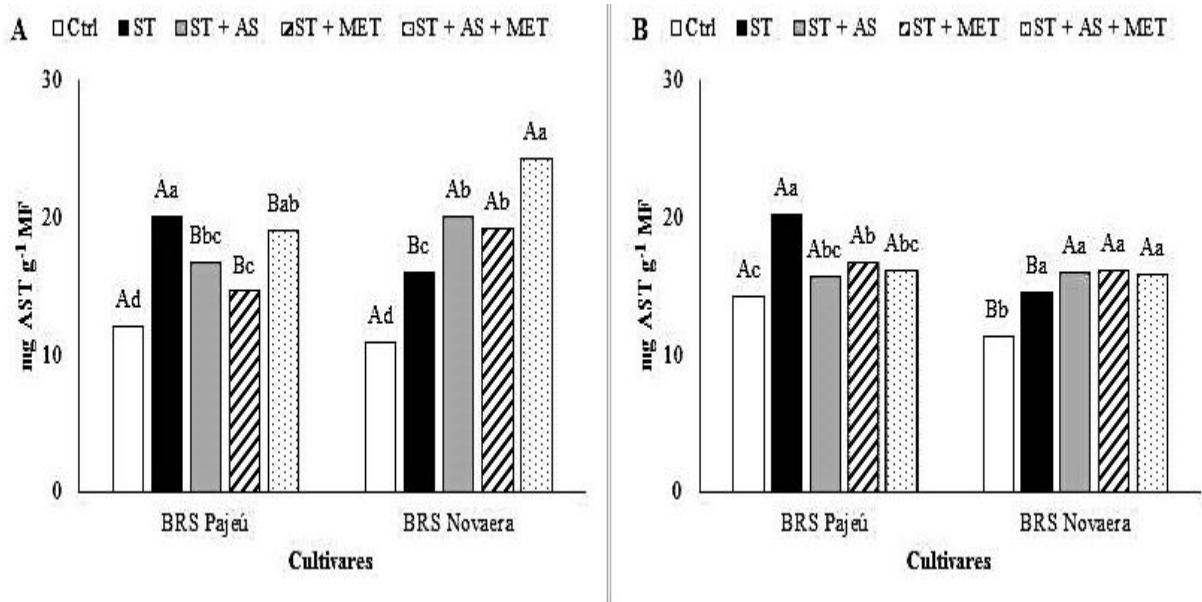
### 4.2.1 Açúcares Solúveis Totais (AST)

Houve aumentos de AST no ST em ‘BRS Pajeú’ (66%) e em ‘BRS Novaera’ (41,4%) aos 8 e 16 DAS, respectivamente, comparados aos respectivos controles (Figuras 6 A e B). Esses aumentos estão associados à manutenção do status hídrico no mesmo período e a ação osmorregulatória, com retenção de água para as células, devido ao seu baixo peso molecular (GALDINO et al., 2018). Aumento de AST sob déficit hídrico, também foi averiguado por Macêdo et al. (2019) nos genótipos BRS Seridó e BRS 286 de algodoeiro, cujos autores associam este aumento com a garantia de processos fotossintéticos e a adaptabilidade da cultura às condições adversas.

Contudo, a alteração no conteúdo de AST nas culturas é relativa à cada espécie. Segundo Santos et al. (2014), esses solutos podem apresentar-se em grandes quantidades, como constatado na cultura do milho, sorgo e braquiária sob déficit hídrico, equivalente a 86; 98 e 40% de aumento em relação ao controle, respectivamente; ou reduzem, como citam Paixão et al. (2014), que estudaram o girassol sob déficit hídrico e constataram reduções de 23,2% ao décimo primeiro dia e de 32% no décimo quinto dia de exposição.

Para a aplicação isolada do AS (1,5 mM) os níveis de AST foram reduzidos na ‘BRS Pajeú’ (16,2% e 22,25%) e aumentados na ‘BRS Novaera’ (26 e 11%) nos dois períodos avaliados, respectivamente, em relação ao ST. O aumento na ‘BRS Novaera’ (26%) foi consequência de maiores AF e MF no mesmo período (Figura 6), pois as plantas apresentaram maiores áreas para realização da fotossíntese, e por consequência maior produção de moléculas orgânicas. Adicionalmente, tais aumentos auxiliaram na mitigação dos efeitos deletérios da restrição hídrica no solo.

Incrementos de açúcares proporcionados pelo AS também foram evidenciados por Gorni (2018) em *A. millefolium* L. em condições de campo, cujos aumentos de AST foram superiores a 40%. Para Mo et al. (2008), a aplicação de AS (0,44 mM), aumentou o conteúdo de AST em pinha em 19,72% em relação ao tratamento sem AS. Segundo os autores o AS aumenta a resposta antioxidantes das plantas, protegendo-as contra o efeito deletério das EROs.



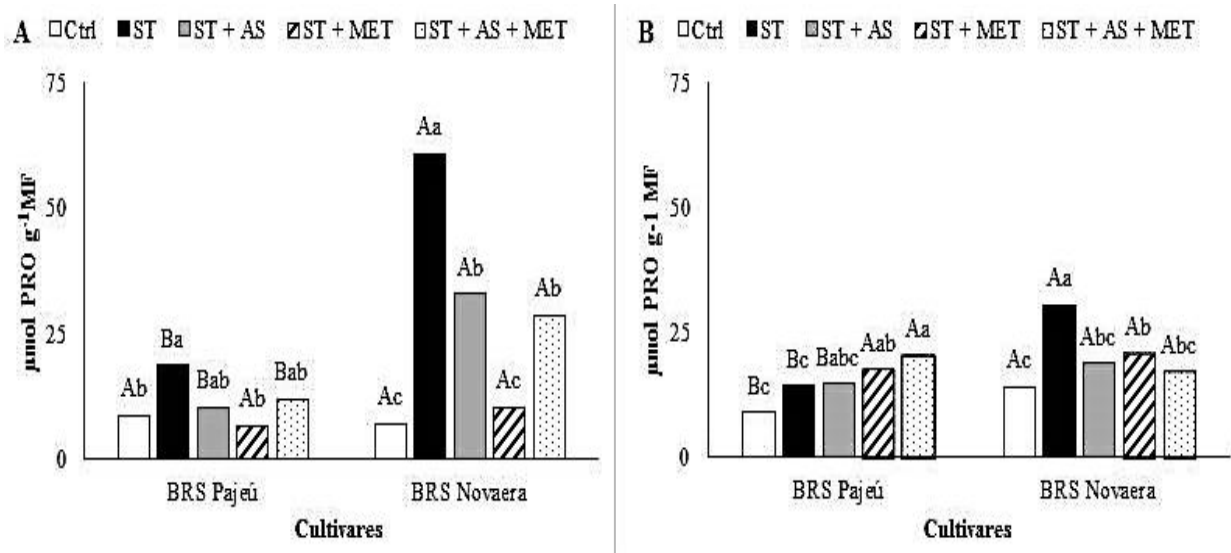
**Figura 6.** Açúcares solúveis totais das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Para a aplicação isolada da metionina (6mM) aumentou em 20,5% e 11,24% o conteúdo de AST na ‘BRS Novaera’ nos dois períodos avaliados, respectivamente, auxiliando na manutenção do status hídrico, e no aumento do  $\Psi_w$  e do CRA comparados ao ST. Essa constatação deve à função da MET de incorporar compostos de carbono nos organismos vegetais (TAIZ et al., 2017), pelo auxílio da molécula ao melhor uso da água (Figuras 4 A e B), pelo acúmulo de AST nos tecidos e pela doação de grupo metil para síntese do carbono, composto fundamental para composição de açúcares (MEWARD et al., 2018).

#### 4.2.2 Prolina (PRO)

A prolina atuou no ajuste osmótico da ‘BRS Pajeú’ aos 8DAS, e manteve o status hídrico nessa etapa inicial de restrição da água no solo (Figura 4 A). Aumentos de 774,78% e 115,28% foram averiguados para a variável na ‘BRS Novaera’, após 8 e 16 DAS, respectivamente, comparados ao controle (Figura 7 A e B). Esse aumento se deveu à redução no potencial hídrico

e no CRA nos mesmos períodos, o qual comprova que, essas alterações foram fundamentais para emissão dos sinais do estresse nas plantas, aumentando, assim, o conteúdo de prolina.



**Figura 7.** Prolina livre das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Araújo et al. (2017) também verificaram aumentos de PRO nas cultivares de feijão-caupi BRS Potengi, BRS Aracê e BRS Itaim, submetidos a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG 600 e aplicação de nitrato de potássio. Os pesquisadores reportaram que o acúmulo desse soluto se associa ao nível do dano e que a PRO trata-se de um indicador tanto de déficit hídrico quanto de estresse salino.

Altos índices de PRO também foram observados por Macêdo et al., (2019) em diferentes genótipos de algodoeiro, sob irrigação deficitária, cujos aumentos chegaram a ser 5 vezes maior do que o controle. Meward et al. (2018) também observaram aumentos de PRO em feijão-caupi em deficit hídrico, cuja explicação para o aumento corrobora resultados de Macêdo et al. (2019). Segundo os pesquisadores, o acúmulo de PRO permite maior absorção de água do solo além da proteção das células e a contribuição no estoque de carbono e nitrogênio para o vegetal.

A aplicação isolada do AS possibilitou reduções nos teores de PRO nas cultivares estudadas independente do período avaliado, com destaque para ‘BRS Novaera’ de 46% aos 8

DAS e de 38% aos 16DAS, comparadas ao ST. Para essas reduções é atribuída a função atenuadora do AS, pois sua aplicação melhorou o status hídrico das cultivares, porque reduziu a ação de moléculas sinalizadoras como a PRO.

A ação do AS em relação ao aumento da PRO, pode variar de acordo com a cultura, genótipo e condições de cultivo, sendo assim, contrariamente ao observado nesse estudo, Araújo et al. (2018) e Umebese e Bankole (2013), observaram altas concentrações de PRO, após aplicação exógena do AS, o que favoreceu a sobrevivência das plantas de feijão-caupi com pouca água. Para os autores tal essa constatação sugere uma resposta anti-estresse do composto e aumentar os níveis de PRO.

Para a aplicação isolada da MET (6 mM) foi observada a redução nos níveis de PRO, com destaque de 83,14% aos 8 DAS, na ‘BRS Novaera’ comparada ao ST (Figura 7 B). A redução observada consolida a ação elicitora da MET, que reduziu os índices de PRO à medida que o status hídrico foi mantido (Figura 4).

Na presente pesquisa, a MET foi responsável por atenuar os efeitos do déficit hídrico, comprovados pelas reduções observadas nos níveis de PRO e pela regulação do status hídrico da planta, o que sugere a sua associação ao aumento da concentração de proteínas, visto que a MET pode ser usada para incrementar outros aminoácidos doando grupos metil ou incorporar-se à proteínas (BEVENUTO, 2013).

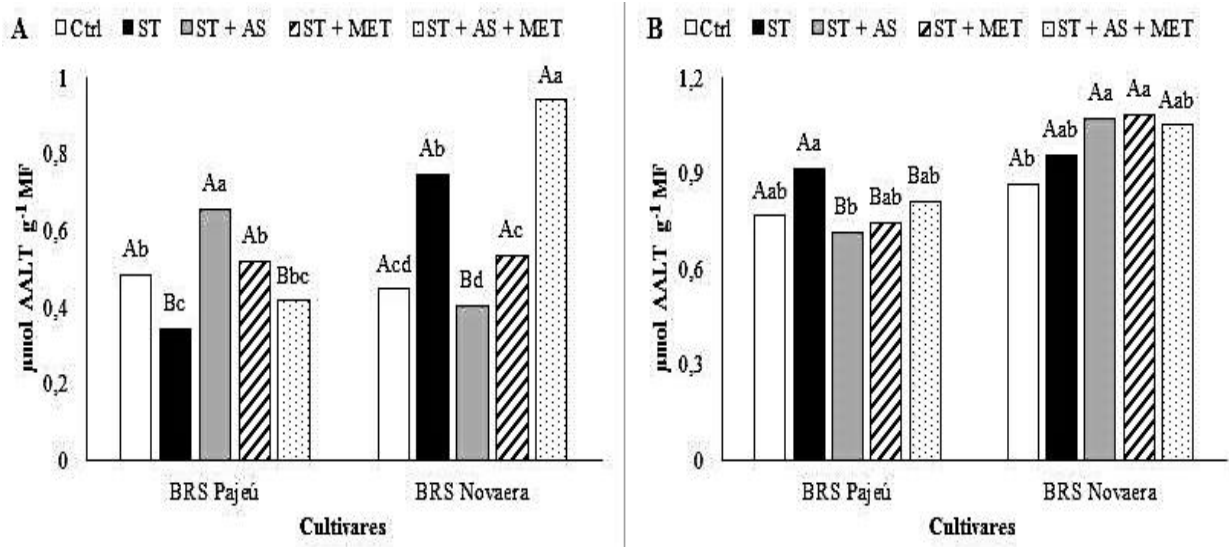
Todavia, resultados distintos foram encontrados por Meward et al. (2018), que observaram incrementos de PRO através da aplicação de MET (6 mM) em plantas de feijão-caupi sob déficit hídrico.

#### **4.2.3 Aminoácidos Livres Totais (AALT)**

Em condições de restrição hídrica (ST), o conteúdo de AALT foi aumentado após 8 DAS em 68% (‘BRS Novaera’) e após 16 DAS em 20% (‘BRS Pajeú’) e 11% (‘BRS Novaera’), todos comparados ao controle. Esses aumentos (Figura 8 B) estão relacionados à sensibilidade das plantas à restrição hídrica do solo e a atuação dessa molécula na proteção dos danos na cultura, porque no mesmo período, foram reduzidos o status hídrico (Figuras 4 B e D), área foliar (Figura 5 B) e massa fresca (Figura 5 D).

Morando et al. (2014) observaram aumentos de AALT sob déficit hídrico em soja. Os autores reportam incrementos de 388,1% para essa variável e explicam que os AALT são

responsáveis pelo aumento da capacidade de retenção da água, por isso são consideradas moléculas osmoprotetoras.



**Figura 8.** Aminoácidos livres totais das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Para a aplicação isolada do AS foi observado sua atuação de forma distinta nas cultivares estudadas. Na ‘BRS Pajeú’ o conteúdo de AALT foi aumentado aos 8 DAS (91%) e reduzido (22%) aos 16DAS. No entanto, para a ‘BRS Novaera’, aos 8 DAS a redução foi 46%, e o após maior exposição o estresse houve incremento de 12%. Mediante a esses resultados, atribui-se ao aumento no nível de AALT ‘BRS Novaera’ aos 16 DAS a atuação no ajuste osmótico, já que o status hídrico das plantas foi regulado pelo elicitor, no mesmo período para essa cultivar.

Adicionalmente, o acúmulo de AALT também pode estar relacionado à fase de desenvolvimento das plantas (início da reprodução), na qual as demandas energéticas são maiores, pois trata-se da fase mais crítica, na qual são exigidas moléculas energéticas para o enchimento de grãos (SOUSA, 2015).

A aplicação de AS também foi eficaz no aumento de AALT em estudos como os de (GORNI, 2018) em *Achillea millefolium* L., cujo autor registrou incrementos de mais de 130%,

associando ao AS a função de auxiliar as plantas na síntese de proteínas e de compostos osmorregulatórios como a prolina, e Noreem et al. (2017) ao aplicar AS em trigo, constataram incrementos de 17,28% para o AALT, comparado ao tratamento sem a substância.

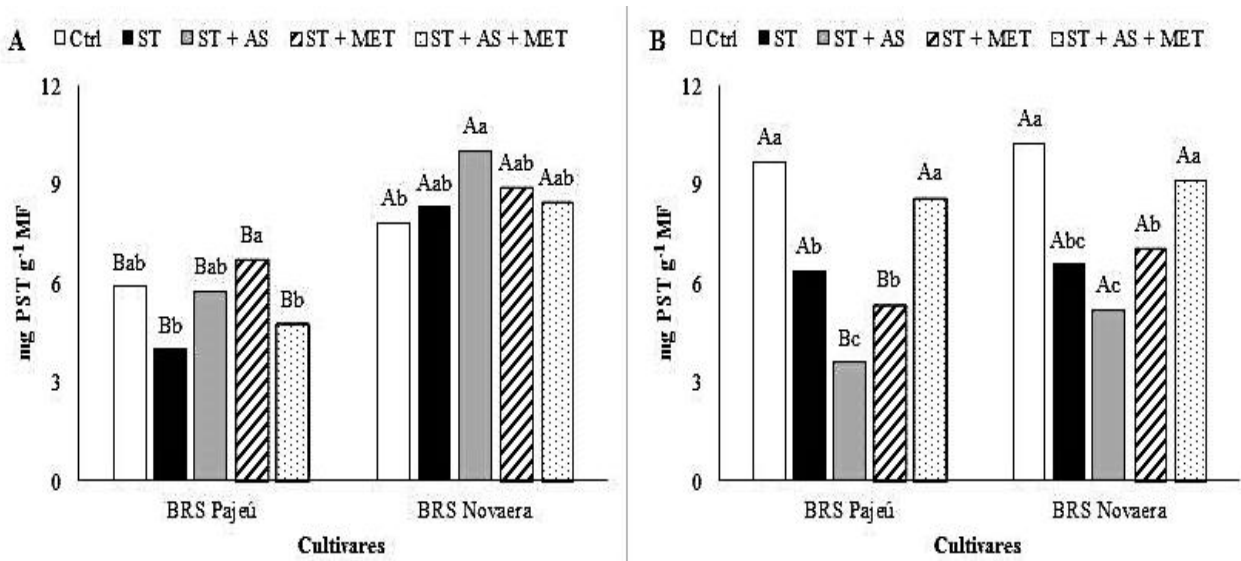
A aplicação isolada da MET (6 mM) aumentou o conteúdo de AALT nas duas cultivares nos dois períodos avaliados, 50% ('BRS Pajeú') após 8 DAS e 14% ('BRS Novaera') após 16 DAS, em relação ao ST. A aplicação exógena da MET contribuiu no aumento de AALT para garantir o ajuste osmótico e auxiliar as plantas na manutenção do status hídrico (Figura 4). No entanto, a aplicação conjunta de AS e MET aumentou em 27% o conteúdo de AALT comparado ao ST, apenas aos 8DAS.

Segundo Gazola et al. (2017), a aplicação exógena de aminoácidos auxilia na regulação do nitrogênio absorvido pelas raízes, bem como, o respectivo acúmulo de AALT nas folhas é um mecanismo de defesa da planta, afim de realizar sua posterior translocação para os grãos. O aumento de AALT sob déficit hídrico também foi averiguado em milho por Galdino et al. (2018) ; clone de café Conilon por Silva et al. (2010) ; e pinhão manso por Silva et al. (2009), o que demonstra a ação da molécula em indicar o déficit hídrico nas plantas, assim como, atuar no ajuste osmótico.

#### **4.2.4 Proteínas solúveis totais (PST)**

Sob déficit hídrico (ST) o conteúdo de PST foi reduzido aos 8 DAS nas cultivares 'BRS Pajeú' (32,24%) e 'BRS Novaera'(6,62%) quando comparadas ao controle (Figura 9 A e B). As reduções observadas na 'BRS Pajeú' são consequências da diminuição do status hídrico, da área foliar e da massa fresca no mesmo período (Figura 5 A e C). A redução de PST foi mantida aos 16 DAS, em que as 'BRS Pajeú' e 'BRS Novaera' apresentam reduções de 34 e 36%, respectivamente, na medida que o AALT foi aumentado (Figura 8 B), supostamente devido à proteólise ocasionada pelo déficit hídrico.

A redução no conteúdo de PST sob déficit hídrico também foi observada por Noreen et al. (2017) em trigo, Souza et al. (2014) e Souza et al. (2015) na cultura do milho, cujos autores mencionam que o déficit hídrico interfere no metabolismo vegetal, que altera o comportamento e degradando proteínas em aminoácidos para auxiliar no processo de recuperação do estresse, corroborando ao observado nessa pesquisa, cujo aumento de AALT está associado ao aumento de proteínas.



**Figura 9.** Proteínas solúveis totais das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

A aplicação isolada do AS (1,5 mM) comparada ao ST aumentou em 43 e 21% os níveis de PST para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, aos 8DAS, cujos aumentos auxiliaram na manutenção do CRA, conservando a turgidez celular (Figura 4 A). Diferente do observado nesse período, após 16 DAS, as cultivares reduziram o conteúdo de PST em 43,66% e 21%, para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, devido ao período maior exposição ao estresse. Em contrapartida. Aos 16 DAS na BRS Novaera o potencial hídrico aumentou e atenuou o efeito nocivo da restrição hídrica do solo para as plantas.

Aumentos nos níveis de proteínas mediante a aplicação do AS sob déficit hídrico também foram averiguados por Vieira (2011) em feijoeiro; Conceição-Silva (2015) em gergelim; Noreem et al. (2017) em trigo; Rocha (2018) em plantas *Schinus terebinthifolius* RADDI. e *Cedrela fissilis* VELL; e Kundu, Halder e Bhattacharjee (2018) em hortelã. Apesar de estudarem culturas diferentes, a explicação sobre a atuação do AS é similar, onde atribui-se à molécula a função na regulação de síntese de proteínas tolerantes ao estresse, metabolismo de nitrogênio e síntese de aminoácidos (NUNES et al., 2020).

Mediante a aplicação MET (6 mM) o conteúdo de PST foi aumentado no período inicial de exposição ao estresse (8 DAS) nas cultivares ‘BRS Pajeú’ (58%) e ‘BRS Novaera’ (8%) ao ser comparado ao ST (Figura 9 A), seguindo a mesma tendência observada para manutenção do

status hídrico (Figura 4 C). Após 16DAS a MET atuou de forma distinta nas cultivares, reduzindo o conteúdo de PST (16%) na ‘BRS Pajeú’ e aumentando (8%) na ‘BRS Novaera’, cujo aumento foi síncrono com o do CRA (Figura 4 D), provavelmente pelo maior acúmulo de água nas plantas dessa cultivar.

Atribui-se aos aumentos observados à função integradora da MET, a qual acumula-se na forma de proteínas pelos vegetais (GIOVANELLI et al., 1984) e, de forma eficiente, favoreceu a manutenção da estrutura de proteínas, mesmo com restrição no fornecimento de incrementos de PST apenas aos 16 DAS, para ambas cultivares, com destaque ‘BRS Novaera’ (39%), comparado ao ST.

### 4.3 Mecanismo antioxidante

Quanto às variáveis de proteção antioxidante das plantas de feijão-caupi desse estudo, avaliaram-se o conteúdo peróxido de hidrogênio e das enzimas catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase. Constatou-se que, assim como o ajustamento osmótico, o complexo de defesa antioxidante das cultivares estudadas estava ativo, tanto na presença quanto na ausência da aplicação dos eliciadores, mas essa resposta foi mais pronunciada após a aplicação do AS e MET, através das análises das enzimas SOD, APX e CAT.

#### 4.3.1 Peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

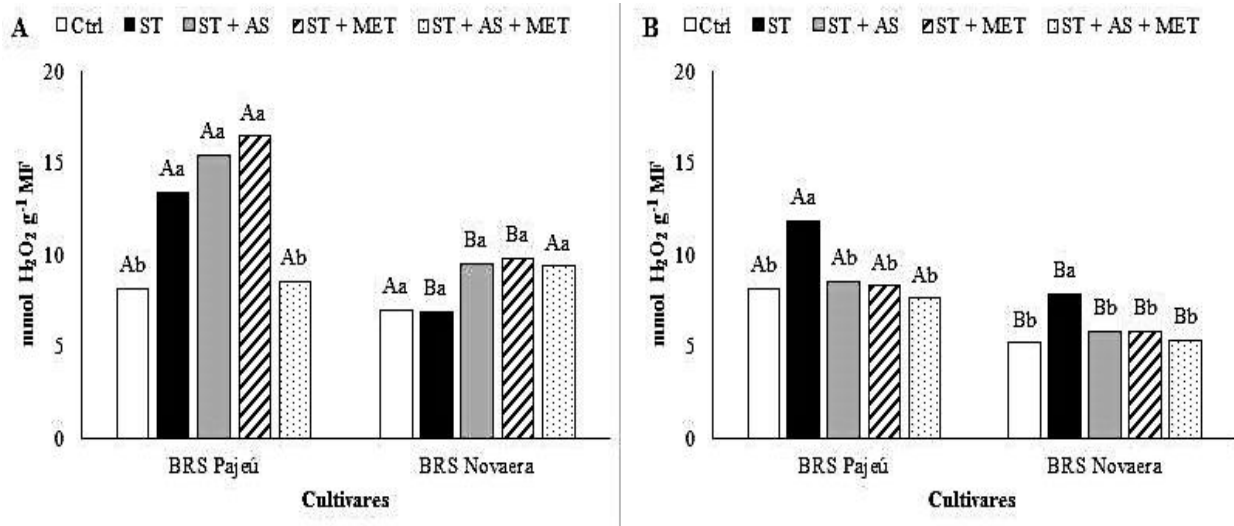
Sob restrição hídrica do solo (ST), o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi aumentado em 65% aos 8 DAS apenas na ‘BRS Pajeú’, comparados ao controle (Figura 10 A). Todavia aos 16 DAS ocorreu aumento tanto na ‘BRS Pajeú’ (46%), quanto na ‘BRS Novaera’ (51%) (Figura 10 B). Esse aumento observado nos dois períodos de avaliação, se deveu à condição em que as plantas estavam, pois o déficit hídrico desencadeia outros tipos de estresse como o oxidativo, e, conseqüentemente o aumento na produção de EROs.

O aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comprovou que as plantas estavam sob estresse, já que, é um indicador de estresse oxidativo, e subproduto da degradação de EROs pela SOD (BARRETO, 2013). Para Moraes et al. (2015) as plantas produzem essas EROs em situações estressantes e como consequência afetam lipídios, proteínas, ácido nucleicos e carboidratos.

A aplicação isolada do AS auxiliou as plantas a aumentarem em 15% (‘BRS Pajeú’) e 38% (‘BRS Novaera’) o conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no período inicial (8 DAS) de estresse (Figura 10 A).



No entanto, após maior exposição à restrição hídrica no solo (16 DAS), as cultivares ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’ reduziram o conteúdo de  $H_2O_2$  em 26 e 28%, nessa ordem, comparando ao ST (Figura 10 B).



**Figura 10.** Concentrações de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

O aumento averiguado aos 8 DAS é atribuído à função sinalizadora do AS, confirmando o aumento no status hídrico das plantas no mesmo período (Figura 4 A). Todavia, a redução observada aos 16 DAS é explicada pela função do AS de induzir a formação de moléculas antioxidantes e osmorreguladoras, que forneceram proteção a curto e longo prazo para as plantas (ROCHA, 2018). Reduções de  $H_2O_2$  também foram observadas em cevada por Ananieva, Alexieva e Popova (2002) com a aplicação de  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de AS. Acrescenta-se que, as reduções de  $H_2O_2$ , proporcionada pelo AS, induziram a redução da peroxidação lipídica e vazamento de eletrólitos.

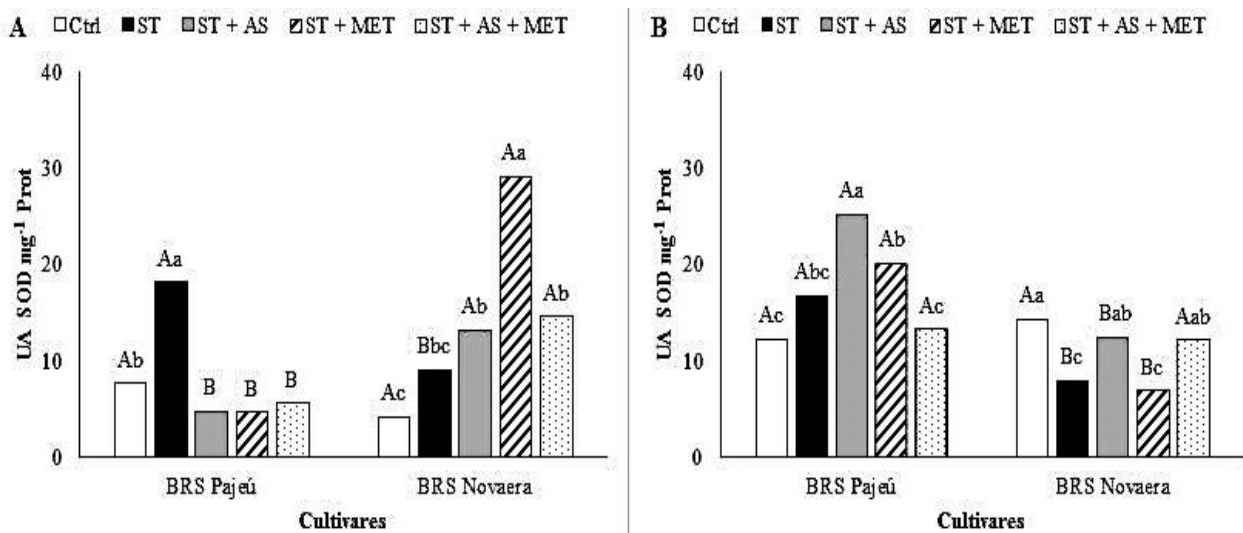
A aplicação isolada da MET comparada ao ST, apresentou resultados semelhantes à aplicação do AS (Figura 10 A). Os aumentos observados na ‘BRS Pajeú’ (23%) e ‘BRS Novaera’ (42%) aos 8 DAS indicaram a sinalização do déficit hídrico proporcionada pela

molécula elicitora. Aos 8 DAS além do aumento do  $H_2O_2$ , a MET também foi eficiente para manutenção do status hídrico (Figura 4 C) e do aumento na atividade de CAT (Figura 13A).

Após a maior exposição ao estresse (16 DAS) a ‘BRS Pajeú’ (Figura 10 B) se destaca pela maior redução (30%), provavelmente pela ativação eficiente dos complexos antioxidante para atenuar os efeitos tóxicos das EROs. A redução no conteúdo de  $H_2O_2$  também foi observada por Ali et al. (2018) ao aplicarem metionina na concentração de 5% no fruto da lichia; e aumentos em condição de estresse sem aplicação de atenuadores foram observados por Liu et al. (2012) em macieiras.

#### 4.3.2 Superóxido dismutase (SOD)

Sob restrição hídrica do solo (ST) aos 8 DAS, a atividade de SOD foi aumentado em 136% e 118% para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, comparados aos seus tratamentos controles. Para o período de maior exposição ao estresse (16 DAS), apesar de não diferir do controle ( $P < 0,05$ ), a ‘BRS Pajeú’ teve seu valor médio aumentado em 36%, diferentemente do observado na ‘BRS Novaera’, que teve teores de SOD reduzido em 45% (Figura 11 B).



**Figura 11.** Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

As oscilações na atividade de SOD é resultado da remoção dos íons superóxidos, confirmado pelo aumento de  $H_2O_2$  nos mesmos períodos. Reduções nos teores de SOD sob deficiência hídrica, também foram observadas por Sousa (2019) em feijão-caupi, cuja redução foi de 18% ( $8,9 U \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína) em relação ao controle. No entanto, alternância dos valores de SOD em função da CAT também foi observado por Araújo et al. (2017) em feijão-caupi (BRS Itaim) e Moraes et al. (2015) em mamona sob déficit hídrico.

Para Moraes et al. (2015) a SOD confere tolerância aos danos nas células oriundos dos radicais de oxigênio. Por funcionarem como barreira enzimática antioxidante, as SODs, também pertencem ao grupo das metaloenzimas, localizam-se principalmente nos compartimentos subcelulares, nos quais ocorre a maior produção de EROS e sua ação torna-se mais eficaz (SOUSA, 2019).

Sob restrição hídrica do solo, a aplicação do AS aumentou o conteúdo de SOD nos dois períodos avaliados para a ‘BRS Novaera’, com exceção da ‘BRS Pajeú’ aos 8 DAS, que apresentou redução de 73% (Figura 11 A), mas em contrapartida aumentou a atividade de proteínas. Nesse mesmo período a cultivar BRS Novaera aumentou cerca de 45%, já após a maior exposição (16 DAS) os aumentos foram de 51% e 57% para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, todos comparados ao ST. Esses aumentos foram respostas dos danos causados pela deficiência hídrica (Figura 11 B). A redução observada aos 8 DAS está associada ao melhor uso da água (Figura 4 C) e, a consequente redução dos íons superóxido produzidos em tais condições.

O AS ainda possui funções desconhecidas e sua atuação varia de acordo com o genótipo, quantidade aplicada e tipo de estresse. Dessa forma, reduções na SOD com aplicação do AS foram observadas por Andrade et al. (2020) na mesma cultura, enquanto Dutra et al. (2017) verificaram aumentos no conteúdo de SOD (82,62%) nas mesmas circunstâncias e associaram a esse aumento da enzima a redução do estresse oxidativo, gerado pela restrição hídrica, o qual é crítico para a manutenção da sobrevivência das plantas mediante a limitação de água.

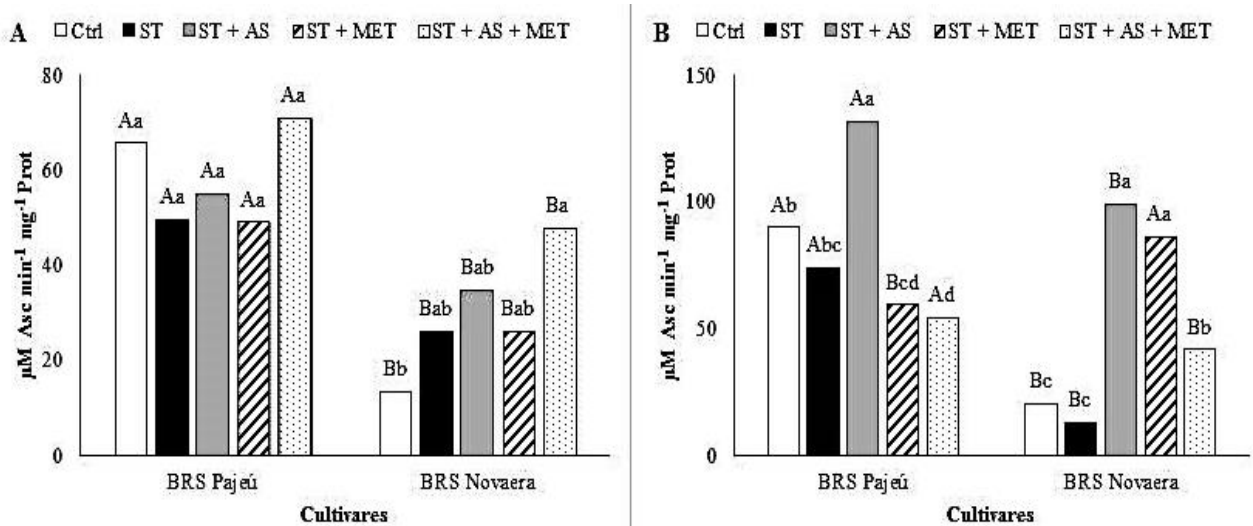
A aplicação foliar da MET (6 mM) intensificou a atuação da SOD na diminuição dos efeitos do estresse oxidativo. Registraram-se aumentos de 220% para ‘BRS Novaera’ aos (8 DAS) e 20% para a ‘BRS Pajeú’ (16 DAS), comparados ao ST (Figura 11 A e B). Todavia, o aumento observado para ‘BRS Pajeú’ se deveu à redução no conteúdo de proteínas, associado ao aumento de AALT e à manutenção do CRA nessa cultivar.

Em estudo de Meward et al. (2018) também foram constatados aumentos no conteúdo de SOD no feijão *Vigna*, afirmando que o aminoácido MET, ao ser aplicado de forma exógena, é

responsável por favorecer mudanças positivas nos aspectos fisiológicos e bioquímicos da cultura. A SOD é uma das primeiras enzimas a atuar no metabolismo antioxidante sendo responsável pela dismutação dos radicais aniônicos superóxidos, a qual transforma-os em moléculas menos tóxicas para as plantas, o  $H_2O_2$ , o que possibilita a atuação de enzimas secundárias de neutralização como a CAT e a APX (PEREIRA et al., 2012; BARBOSA et al., 2014).

#### 4.3.3 Ascorbato peroxidase (APX)

Os teores de APX sob restrição hídrica do solo (ST) aos 8 DAS reduziu-se em 24,5% na ‘BRS Pajeú’ e aumentou 93% na ‘BRS Novaera’, quando foram comparadas ao controle (Figura 12 A). Contudo, após maior exposição ao estresse os índices de APX reduziram-se em 18% e 37%, para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente (Figura 12 B). O aumento verificado na ‘BRS Novaera’ (8 DAS) foram acompanhados pelas oscilações no conteúdo  $H_2O_2$  no mesmo período (Figura 10 A). As reduções de APX (16 DAS) estão associadas ao aumento na concentração de  $H_2O_2$  para ST no mesmo período, se deveu à sua proteólise, consequência da redução no status hídrico das plantas mediante à exposição do déficit hídrico (Figura 9 B).



**Figura 12.** Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Para Maia et al. (2015), tal redução é equivalente às oscilações das concentrações de EROs no vegetal, oriundas do estresse ou resultado do metabolismo natural da planta. Os autores destacam ainda que a APX, apesar de ter maior afinidade com o  $H_2O_2$ , tem menor velocidade de reação do que a CAT. Sousa (2019) observou redução de 22% no conteúdo de APX no estresse também em Feijão *Vigna* e associa tal observação a indução de tolerância ao déficit hídrico pela cultura.

Maia et al. (2012) observaram que o teor de APX também é reduzido mediante estresse salino em feijão-caupi, com variação de 10% (cultivar Pérola) até 50% (cultivar Pitiúba) de redução, comparados ao controle. Essas afirmações corroboram aos resultados observados na ‘BRS Novaera’ para o ST (8 DAS). Contudo, Pereira et al. (2016) observaram aumento de 35% nos teores de APX e de PST em meloeiro, sob condições de déficit hídrico.

A aplicação foliar do AS (1,5 mM) aos 8 DAS incrementou o teor de APX em 11% e 34% para ‘BRS Pajéu’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, comparado ao ST (Figura 12 A). Seguindo a mesma tendência, aos 16 DAS, o atenuador aumentou o conteúdo de APX em 78% (‘BRS Pajéu’) e 670% (‘BRS Novaera’), comparado ao ST (Figura 12 B). Tais averiguações comprovam que o AS colaborou para o aumento de APX, e, esta por sua vez atenuou os efeitos causados pelas EROs nas cultivares estudadas. Sendo assim, o aumento de APX na ‘BRS Pajéu’ e ‘BRS Novaera’ objetivaram a redução das moléculas tóxicas presente nas células decorrentes do estresse oxidativo, como o  $H_2O_2$  (Figura 10 B).

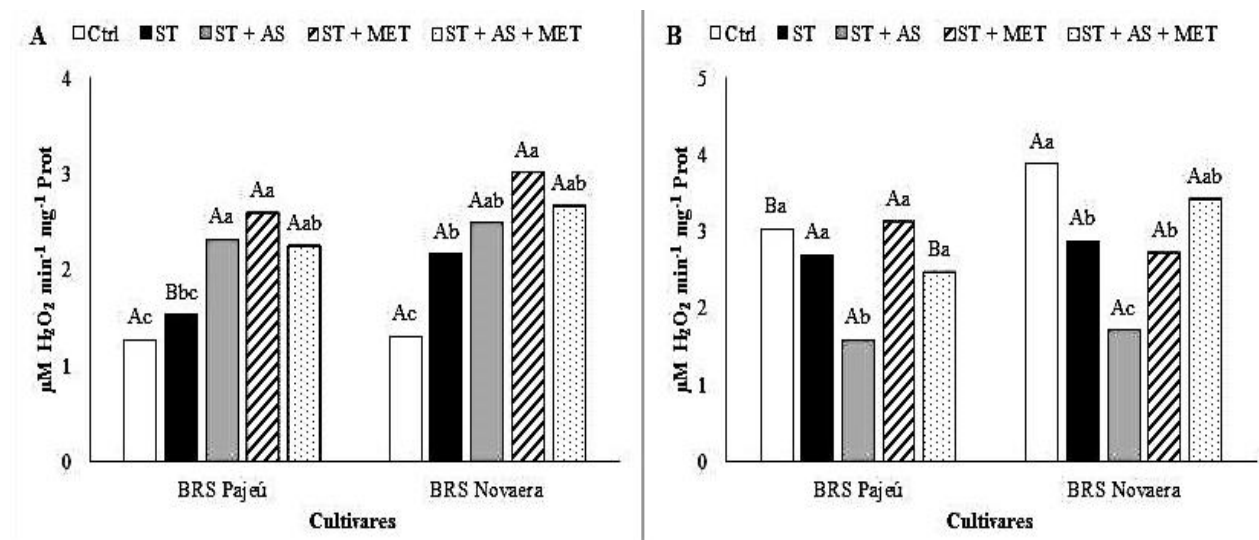
Incrementos no conteúdo de APX, mediante aplicação de AS, também foi averiguado por Wang et al. (2013) em milho e Dutra et al. (2017) na ‘BR 17 Gurguéia’ após aplicação de AS 1 mM no potencial -0,8 MPa. Para os pesquisadores, a melhoria na tolerância ao déficit hídrico, proporcionada pelo AS, pode estar relacionada a sua capacidade de regular a expressão de genes responsáveis pela codificação de enzimas como APX, CAT e SOD, atuantes no complexo antioxidante.

A aplicação foliar da MET (6 mM) não contribuiu para o aumento de APX no período inicial do estresse (8 DAS) comparados ao ST. Entretanto, aos 16 DAS verificaram-se aumentos de 570% apenas para a ‘BRS Novaera’, comparado ao ST (Figura 12 B). Esse aumento ocorreu em detrimento da redução de  $H_2O_2$ , no mesmo período, devido à função de quebra dessa molécula desempenhada pela APX, que atua em vários compartimentos celulares como peroxissomos, mitocôndrias, cloroplastos e citosol (GERSZBERG e HNATUSZKO-KONKA, 2017).

A aplicação conjunta de AS e MET (1,5 mM e 6 mM, respectivamente) aumentou a atividade de APX em 222%, para a ‘BRS Novaera’, aos 16 DAS, comparado ao ST, cujo acréscimo pode estar relacionado à diminuição do estresse oxidativo, oriundo do déficit hídrico (ALI et al., 2018). O aumento de APX, observado principalmente após a aplicação de AS deve-se à função do mesmo de manter o estado redox das células, e o aumento do conteúdo interno de enzimas antioxidantes. Acrescenta-se ainda que, de acordo com Mazuchelli et al. (2014), o efeito atenuante do AS pode induzir uma via respiratória alternativa, a qual reduz a incidência de EROS.

#### 4.3.4 Catalase (CAT)

O conteúdo de CAT (8 DAS) sob restrição hídrica do solo (ST) teve o aumento de 20,63% e 66,15% nos seus valores médios para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, ao serem comparados ao controle (Figura 13 A). No entanto, aos 16 DAS a enzima teve seus valores médios reduzidos em 26% na ‘BRS Novaera’ (Figura 13 B), e em ‘BRS Pajeú’ não foram constatadas diferenças ( $P < 0,05$ ) quando comparada ao controle. Essa redução no ST, provavelmente foi consequência da proteólise ocasionada pelo déficit hídrico no mesmo período (Figura 9 B).



**Figura 13.** Atividade da enzima Catalase (CAT) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 8 (A) e 16 (B) dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas

diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

A CAT atuou degradando a molécula de  $H_2O_2$  (8DAS) na ‘BRS Novaera’, em que os níveis desse íon tóxico foram controlados (Figura 10 A). Para Meward et al. (2018) a atuação da CAT na remoção de  $H_2O_2$  é mais eficiente principalmente nos estágios iniciais do estresse, o que justifica o aumento da sua atividade na etapa inicial do estresse. Para a redução observada na sua atividade, principalmente aos 16 DAS, pode estar relacionada à localização do  $H_2O_2$  produzido, visto que a CAT atua removendo EROs produzidas pelos peroxissomos, oriundos da oxidação de purinas, ácidos graxos e da fotorrespiração (ANDRADE, 2018).

Adicionalmente, a CAT é responsável por converter muitas moléculas de  $H_2O_2$  por minuto, e é ativa em concentrações extremamente altas do peróxido (DUTRA, 2015), o que justifica o aumento da sua atividade na cultivar ‘BRS Pajeú’, aos 8 DAS, quando os níveis de  $H_2O_2$  no tratamento ST alcançaram os maiores valores para esta condição no presente estudo ( $13,36 \text{ mmol } H_2O_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ ). Redução na atividade da CAT sob deficiência hídrica também foi observada em feijão-caupi por Araújo et al. (2017), ao pesquisarem déficit hídrico induzido por PEG 6000.

A aplicação isolada do AS (1,5 mM) aos 8 DAS incrementou o conteúdo de CAT nas cultivares em 53% e 15% para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’, respectivamente, comparados à 100% da reposição hídrica no solo (Figura 13 A). Todavia, aos 16 DAS, as reduções ocorreram tanto na ‘BRS Pajeú’ (41%) quanto na ‘BRS Novaera’ (40%) (Figura 13 B), associado ao declínio de PST, decorrente da proteólise (Figura 9 B). Acrescenta-se também que os danos oxidativos supostamente foram reduzidos aos 16 DAS pela ação do AS, não sendo necessária forte atuação da CAT, visto que, as enzimas SOD (Figura 11 B), APX (Figura 12 B) tiveram seus teores aumentados após a aplicação do eliciador, nesse mesmo período.

Dutra et al. (2017) confirmam a presente pesquisa quando estudaram cultivares de feijão-caupi associadas ao déficit hídrico e a aplicação de AS, e também, constataram redução de CAT nas cultivares BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã, quando foram submetidas ao potencial hídrico mais negativo (-0,8 MPa). Em contrapartida, estudos recentes têm demonstrado o aumento de CAT impulsionado pelo AS em condições de restrição hídrica, como demonstrado por Andrade et al. (2020) na cultivar BRS Aracê de feijão-caupi, assim como, observado no presente estudo 8 DAS, principalmente na ‘BRS Pajeú’. Contudo, esta molécula atua de forma distinta, mediante

influência de vários fatores (DUTRA, 2015), pois já foi constatado que o AS pode induzir adaptação, resistência e aumento da capacidade antioxidante de plantas submetidas ao déficit hídrico (MAZZUCHELLI et al., 2014)

A aplicação foliar da MET (6 mM) aumentou o conteúdo de CAT na ‘BRS Pajeú’ (70%) e na ‘BRS Novaera’ (39%) comparados ao ST, no entanto, após maior exposição ao estresse o aumento averiguado foi de 16,35%, e, ocorreu apenas para ‘BRS Pajeú’ (Figura 13 B). Melhorias proporcionadas pela MET em feijão-caupi também foram observadas por Meward et al. (2018), e, dentre as funções da MET citadas pelos autores, se destacam as doações de grupos metil para formação de enzimas e proteínas, bem como, o metabolismo de carbono, o que justifica os incrementos de AST (Figura 7 A e B), que contribuem para o aporte energético do vegetal em condições de estresse oxidativo.

Para a aplicação conjunta das substâncias (AS e MET), constatou-se aumentos de 46 e 23% para ‘BRS Pajeú’ e ‘BRS Novaera’ (8 DAS), respectivamente (Figura 13 A), e de 19% para ‘BRS Novaera’, 16 DAS (Figura 13 B). De acordo com Moraes et al. (2015), a atividade da CAT está relacionada a estresses de origem biótica e abióticas. A resposta eficaz de CAT em situações de restrição hídrica tem sido demonstrada por autores como Pereira et al. (2012), em amendoim e Moraes et al. (2015) em mamona, cuja eficácia da CAT é atribuída pelos autores citados à sua capacidade de neutralizar o  $H_2O_2$  antes de ser difundido pela célula.

Sousa (2019) constatou redução de 25% em plantas sob déficit hídrico e aumento da enzima conforme a restrição hídrica foi aumentando. Contudo, em plantas  $C_3$ , como o feijão-caupi, a CAT é mais abundante nos peroxissomos e atua na remoção do  $H_2O_2$  oriundo da fotorrespiração.

#### **4.4 Fotossíntese e trocas gasosas**

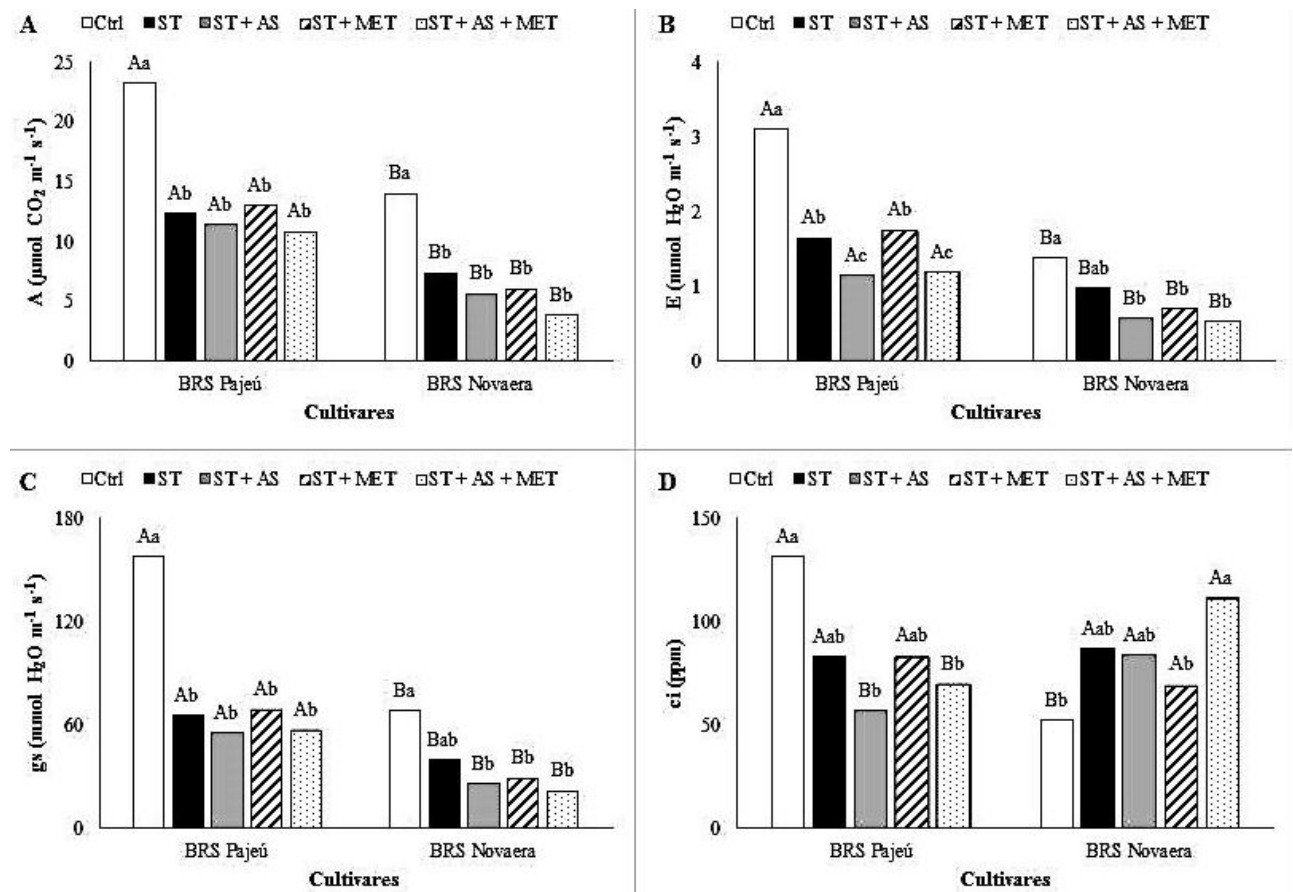
Mediante a deficiência hídrica no solo (ST), todas variáveis de trocas gasosas foram reduzidas na ‘BRS Pajeú’, fotossíntese e transpiração (47%), condutância estomática (59%) e carbono interno (37%) (Figura 14). Para a ‘BRS Novaera’ constatou-se aumento de 66% para o carbono interno (Figura 14 D), enquanto as demais variáveis (fotossíntese, transpiração e condutância estomática, respectivamente) reduziram-se em 47%, 29% e 42% (Figura 14 A, B e C), respectivamente, quando comparadas ao tratamento com 100% da reposição hídrica no solo.

O aumento significativo na taxa fotossintética na condição controle (Figura 14 A) está relacionado ao adequado aporte hídrico, representado pelo status hídrico (Figura 4 B e D),



maiores índices de AF e MF (Figura 5 B e D), redução na degradação proteica (Figura 9 B) e ausência de estresse oxidativo (Figura 10 B), pois o tratamento controle apresenta condições favoráveis para a realização da fotossíntese.

Sob a restrição hídrica (ST) a condutância estomática também foi afetada, através fechamento dos estômatos, para atenuar a perda de água. Como consequência do fechamento estomático, as cultivares de feijão-caupi reduziram suas taxas fotossintéticas (Figura 14 A) para manutenção de uma melhor relação edafoclimática, assim como, contribuir no ajuste osmótico, pelo acúmulo de AST (Figura 6 A e B), PRO (Figura 7 A e B) e AALT (Figura 8 A e B), como foi averiguado.



**Figura 14.** Fotossíntese (A), transpiração (B), condutância estomática (C) e carbono interno (D) das cultivares de feijão-caupi BRS Pajeú e BRS Novaera submetidas aos tratamentos controle (Ctrl), estresse (ST), estresse + AS (ST + AS), estresse + MET (ST + MET) e estresse + AS + MET (ST + AS + MET), após 16 dias das aplicações dos tratamentos. Letras maiúsculas diferenciam as cultivares (t-student  $P < 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey  $P < 0,05$ ). Campina Grande, PB, 2020.

Freitas et al. (2017) citam reduções na fotossíntese observadas após 5 dias de suspensão da irrigação, nesta mesma cultura. Taxas fotossintéticas reduzidas também foram observadas em pinhão manso, por Padilha et al. (2016), no nível mais crítico de déficit hídrico (20% da capacidade de campo), e maiores taxas em 60 e 80% da capacidade de campo, o que explica a relação direta da fotossíntese com a disponibilidade de água para a planta.

Padilha et al. (2016), estudando pinhão manso, realizaram observações semelhantes as dessa pesquisa, e notaram menor e maior  $g_s$  na condição 20% e 80% da capacidade de campo, respectivamente. Santos e Silva et al. (2010) e Nascimento et al. (2011) reportam que, em feijoeiro a condutância estomática diminui à medida em que a capacidade difusiva ao vapor é aumentada. No entanto, Freitas et al. (2017) também observaram reduções da  $g_s$  (valores abaixo de  $0,60 \text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e discutiram que a redução nessa variável é bem característica da região Nordeste, devido aos longos períodos sem chuvas e altas temperaturas.

No presente estudo, nota-se uma sincronia do  $\Psi_w$  (16 DAS) com a  $g_s$ , foi observado que, quando o potencial é mais negativo a  $g_s$  diminui, resposta semelhante àquela encontrada por Nascimento et al. (2011). Esses autores relataram em feijão-caupi que, menores valores de  $g_s$  estavam relacionados à menores valores de  $\Psi_w$  e afirmam que essa espécie é capaz de fechar seus estômatos nos primeiros sinais de déficit hídrico.

A baixa disponibilidade de  $c_i$  observada na presente pesquisa (Figura 14 D), segundo Morales et al. (2015) é devido ao fechamento estomático como consequência da baixa disponibilidade hídrica no solo. Melo et al. (2018) afirmaram que, a quantidade de carbono interno está intrinsecamente relacionada com a taxa fotossintética e, pesquisando o comportamento do feijão-caupi, sob déficit hídrico, observaram que a quantidade de água disponível é proporcional às taxas de  $c_i$  e  $A$ .

Nascimento et al. (2011) também observaram reduções (72%) nos valores de  $c_i$  nos genótipos de feijão-caupi ‘Epace-10’, ‘Tracuateua-192’, ‘Santo Inácio’ e ‘Capela’ e, associam o ocorrido ao fechamento estomático e a consequente redução na fotossíntese. Também nota-se que, mediante a redução de  $A$ , a concentração de  $c_i$  aumenta, semelhante ao observado por Melo et al. (2018) com a cultivar BRS Pujante de feijão-caupi.

A aplicação foliar do AS (1,5 mM) sob restrição hídrica do solo (ST), proporcionou reduções nos valores médios da fotossíntese na ‘BRS Pajeú’ (7,3%) e ‘BRS Novaera’ (24%), nos valores médios da fotossíntese (Figura 14 A). Seguindo a mesma tendência, as cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera tiveram a transpiração reduzida em 30% e 41%, respectivamente (Figura 14 B), assim como a condutância estomática 16 e 34,17%, respectivamente (Figura 14 C). Para o

conteúdo de carbono interno, as reduções ocorreram apenas na ‘BRS Pajeú’, já para a ‘BRS Novaera’ não houve diferenças ( $P < 0,05$ ) (Figura 14 D).

As reduções observadas nas variáveis com a aplicação do AS, demonstram a função da molécula na regulação dos processos bioquímicos e fisiológicos das plantas (FAVARO, 2017). Tais reduções associam-se à manutenção do status hídrico (Figura 4), bem como a redução da área foliar (Figura 5 B), a fim de manter a turgescência celular das plantas e suportar os efeitos deletérios do déficit hídrico, principalmente na remoção de EROs.

O efeito atenuador do AS para parâmetros fotossintéticos foi averiguado por Ananieva, Alexieva e Popova (2002), em cevada, ao aplicarem  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ , por Wang et al. (2010) em videira, no qual o AS auxiliou a recuperação da fotossíntese após estresse térmico, e por Favaro (2017) em cultivares de morangueiro, em que o AS proporcionou maior eficiência fotossintética e indução de resistência.

Para a aplicação foliar de MET (6 mM), sob déficit hídrico, quando observados os valores médios, foram averiguados incrementos para a fotossíntese (5,53%), a transpiração (6,36%), e a condutância estomática (6,03%) na ‘BRS Pajeú’. Para a ‘BRS Novaera’, foram observadas reduções para as mesmas variáveis de 17,68; 28,57 e 24,05%, respectivamente, quando comparadas ao ST (Figura 14).

Quanto à aplicação conjunta de AS e MET notou-se aumento apenas para a ‘BRS Novaera’, na variável *ci* (28,24%), quando comparada ao ST (Figura 14 B). Apesar da origem desse carbono não ser elucidada nessa pesquisa, supõe-se que o mesmo está relacionado aos esqueletos de carbono dos aminoácidos, pois os estômatos das plantas estavam fechados, afim de reduzir a perda de água pela transpiração. Sendo assim, comprova-se que, a ‘BRS Nova Era’ para essa variável, foi a mais responsiva ao tratamento AS+MET.

Pouco se sabe sobre os efeitos da MET nos parâmetros fotossintéticos em feijão-caupi sob condições de restrição hídrica, todavia, nesta pesquisa, a aplicação exógena do aminoácido foi responsável por aumentar o conteúdo de proteínas, melhorar o status hídrico, aumentar as taxas de fotossíntese, transpiração, condutância estomática e conteúdo de carbono interno, na ‘BRS Pajeú’(16 DAS). Sugere-se então, que o aminoácido auxilia a fotossíntese, mediante a indução para o ajustamento osmótico e a atenuação dos danos causados pelas EROs.

## 5 CONCLUSÕES

O ácido salicílico e a metionina atenuaram os danos do déficit hídrico, e mantiveram o status hídrico das cultivares, assim como, atuaram na regulação dos processos fotossintéticos, reduzindo a perda de água pela transpiração.

O ácido salicílico e a metionina contribuíram no ajustamento osmótico, bem como, na proteção antioxidante das cultivares BRS Pajeú e BRS Novaera, respectivamente, alterando os teores de prolina, aminoácidos e açúcares solúveis totais.

Após aplicação do ácido salicílico e da metionina, a ação antioxidante de APX, CAT e SOD também foram intensificadas, o que aumentou a resistência contra os danos oxidativos proporcionados pelas EROs.

A cultivar BRS Novaera teve destaque em relação à ‘BRS Pajeú’, cuja cultivar expressou aumento nos teores de proteínas, aminoácidos livres totais, sob déficit hídrico e a aplicação foliar de ácido salicílico e metionina, o que promoveu a osmoproteção das plantas.

## REFERENCIAS

ALI, S.; KHAN, A. S.; MALIK, A. U.; SHAHEEN, T.; SHAHID, M.; Pre-storage methionine treatment inhibits postharvest enzymatic browning of cold stored 'Gola' litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 140, s/n, p. 100-106, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.016>

ALMEIDA-SILVA, M de.; ARANTES, M. T.; RHEIN, A. F. de. L.; PINCELLI, R. P.; SANTOS, C. M. dos.; MOURA, P. C. S. Características morfofisiológicas e produtividade de cana-de-açúcar variam de acordo com a cultivar e o regime hídrico. *Irriga*, Edição Especial, p. 160-177, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15809/irriga.2015v1n1p160>

ANANIEVA, E. A.; ALEXIEVA, V. S.; POPOVA, L. P. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. *Journal of plant physiology*, v. 159, n.7, p.685-693, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0706>

ANDRADE, Wellerson Leite de. **Aplicação de ácido salicílico e inoculação com *Bradyrhizobium* mitigam os efeitos da restrição hídrica em cultivares de feijão-caupi**. 2018. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.

ANDRADE, W. L. de.; MELO, A. S. de.; MELO, Y, L.; SÁ, F. V. da. S.; ROCHA, M. M. R.; OLIVEIRA, A. P. da. S; FERNANDES-JÚNIOR, P. I. *Bradyrhizobium* Inoculation Plus Foliar Application of Salicylic Acid Mitigates Water Deficit Effects on Cowpea. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 39, n. 1, p1-12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10130-3>

ARAÚJO, E. D. de.; MELO, A. S. de.; ROCHA, M. do. S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. de. M. Genotypic variation on the antioxidative response of cowpea cultivars exposed to osmotic stress. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 928- 937, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n413rc>

ARAÚJO, D. E.; MELO A. S.; ROCHA, M. S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. M.; Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. **Revista Caatinga**, v.31, n. 1, p. 80-89, 2018. DOI:<https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n110rc>

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENA, R. de C. G.; PAULA, S. O. de.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v.23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, M. R.; ARAÚJO-SILVA, M. M.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R.. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARRETO, Kellya Francisca Mendonça. **Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo em plantas de cana-de-açúcar tratadas com peróxido de hidrogênio**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

BARROS, F. C.; SAGATA, É.; FERREIRA, L. C. de C.; JULIATTI, F. C.; Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, v.26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BASTOS, E. A.; RAMOS, H. M. M.; ANDRADE-JUNIOR, A. S. de.; NASCIMENTO, F. N. do; CARDOSO, M. J. Parâmetros fisiológicos e produtividade de grãos verdes do feijão-caupi sob déficit hídrico. **Water Resources and Irrigation Management**, v.1, n.1, p.31-37, 2012.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for 4159 water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase – improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram 4165 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v. 4166, n. 72, p. 248–254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de 4169 sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa 4170 Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CAMARA, F. T.; MOTA, A. M. D.; NICOLAU, A, F. E.; PINTO, A. A.; SILVA, J. M. F. Produtividade de feijão-caupi crioulo em função do espaçamento entre linhas e número de plantas por cova. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 2, p. 19-24, 2018.

GONDIM, F. A.; GOMES-FILHO, E.; MARQUES, E. C.; PRISCO, J. T. Efeitos do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no crescimento e acúmulo de solutos em plantas de milho sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 373-381, 2011.

CARVALHO, M.; CASTRO, I.; PEREIRA, J. M.; CORREIA, C.; CORTNES, M. R.; MATOS, M.; ROSA, E.; CARNIDE, V.; LINO-NETO, T. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 24, p.1-13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153001>

CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre deficit hídrico e acidez do solo em cana-de-acúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1106-1113, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000900006>

CASAROLI, D.; JONG VAN LIER, Q. Critérios para a determinação da capacidade de vaso. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 32, p. 59-66, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100007>

COLMAN, B. A.; NUNES, C. M.; MASSON, G. de L.; BARBOSA, R. H.; NUNES, A. S. Indução de tolerância ao estresse hídrico na germinação de sementes de feijão-caupi. **Comunicata Scientiae**, v.5, n.4, p.449-455, 2014. DOI: <https://doi.org/10.14295/cs.v5i4.276>

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. V. 7-safra 2019/2020, quarto levantamento, janeiro 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3371-levantamento-de-graos-confirma-producao-acima-de-250-milhoes-de-toneladas-na-safra-2019-2020>. Acesso em 11 jun. 2020.

DIAS, R. C.; MELO, C. A. D.; SANTOS, L. P. D.; SILVA, G. S.; OLIVEIRA, G. D.; CARNEIRO, P.; REIS, M. R. Ácido salicílico como atenuador de fitotoxicidade causada pelo flumioxazin na cultura do trigo. **Revista Ciências Agrárias**, v.60, n. 2, p. 152-157, 2017. DOI: <http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rca.2458>

DING, P.; FAN, L.; WANG, G.; LI, X.;HUANG, SHU.; GAO, Y.; ZHU, J.; XIAO, L.; TONG, J.; CHEN, F.; XIA, G. Wheat methionine sulfoxide reductase A4.1 interacts with heme oxygenase 1 to enhance seedling tolerance to salinity or drought stress. **Plant Molecular Biology**, v. 1, n. 2, p.203-2020, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00901-2>

DUARTE, Marcelo. **Produtividade e atividade do broto de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.) em função de elicitores**. 2018. 63f. Dissertação (Mestrado em agronomia)-Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2018.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric 4194 Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v.28, n. 4195 3, p. 350-356, 1956.

DUTRA, C. C.; PRADO, E. A. F.; PAIM, L. R.; SCALON, S. P. Q. Desenvolvimento de plantas de girassol sob diferentes condições de fornecimento de água. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n. 1, p. 2657-2668, 2012. DOI: [10.5433/1679-0359.2012v33Supl1p2657](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl1p2657)



DUTRA, W. F.; MELO, A. S. de.; SUASSUNA, J. F.; DUTRA, A. F.; SILVA-CHAGAS, D. da.; MAIA, J. M. Antioxidative Responses of Cowpea Cultivars to Water Deficit and Salicylic Acid Treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, 2017. DOI: [10.2134 / agronj2015.0519](https://doi.org/10.2134/agronj2015.0519)

ETESAMI, H. Can interaction between silicon and plant growth promoting rhizobacteria benefit in alleviating abiotic and biotic stresses in crop plants? **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 253, p. 98–112, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.007>

FAVARO, Renata. **Ácido salicílico como indutor de resistência ao *Tetranychus urticae* (Koch) E *Helicoverpa armigera* em cultivares de morangueiro**. 2017. 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2017.

FAYEZ, K. A.; BAIZAD, S. A. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. **Jornal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 13, n. 1, p. 45-55, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.01.001>

FEITOSA, S. S.; ALBUQUERQUE, M. B.; OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA, W. E.; BRITO NETO, J. F. Fisiologia do *Sesamum indicum* L. sob estresse hídrico e aplicação de ácido salicílico. **Irriga**, v.21, n. 4, p. 711-723, 2016. DOI: [10.15809/irriga.2016v21n4p711-723](https://doi.org/10.15809/irriga.2016v21n4p711-723)

FIALHO, A.; MENDES, R. G.; GASTL-FILHO, J.; PIVA, H. T.; CARVALHO, P. H. B. R.; PEIXOTO-FILHO, F. R.; FADIM-JUNIOR, J. E.; LANGER, L. Influence of acetylsalicylic acid on emergence and induction to resistance to water deficit in *Annona squamosa*. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 17356-17363, 2019. DOI: [10.34117/bjdv5n10-015](https://doi.org/10.34117/bjdv5n10-015)

FIGLIARO, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v.58, n.3, p. 342-349, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2011000300015>

FORERO, C. M.; SALAVARRIETA, P. J. R. Poliaminas; reguladores del crecimiento com múltiplos efeitos em plantas. **Palmas**, v. 23, n.2, p. 39-46, 2002.

FREITAS, R. M. O. de.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, F. C. L. de.; NOGUEIRA, N. W.; PINTO, J. R. de. S. Respostas fisiológicas do feijão-caupi sob o estresse da água e a revoltagem em sistemas de plantio sem plantação e de plantio convencional. **Revista Caatinga**, v. 30 n.3, p.559- 567, 2017.

GALDINO, A. G. da. S.; SILVA-IARLE, T. da.; SILVA, J. de S.; SILVA, C. L. Teor de aminoácidos como respostas adaptativas de milho (*Pennisetum glaucum*) ao estresse hídrico e salino. **Revista Desafios**, v.5, n.1, p.93-98, 2018. DOI:[10.20873/uft.2359-3652.2018vol5n1p76x](https://doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2018vol5n1p76x)

GASTL-FILHO, J.; BONETTI, L. L. da. S.; ARAUJO, R. da. S.; SANTI, S. L. de.; NASCIMENTO, V. A.; VOLARINHO, M. S. Ácido salicílico e potencial germinativo na germinação de sementes de pepino. **Revista Inova Ciência & Tecnologia**, p. 7-12, v. 3, n. 2, 2017.

GASTL-FILHO, J.; CARVALHO, V.; REZENDE, A. S.; ALMEIDA, A. M. M.; NASCIMENTO, V. A.; BONETTI, L. L. S. Efeito do extrato de tiririca no enraizamento e desenvolvimento inicial da amoreira-preta. **Revista Inova Ciência & Tecnologia**, p. 18-24, v. 5, n.1, 2019.

GOLAN, A.; IFAT, M.; TAL, A.; HANA, B.; SHMUEL, G.; RACHEL, A. Soluble methionine enhances accumulation of a 15 kDa zein, a methionine-rich storage protein, in transgenic alfalfa but not in transgenic tobacco plants. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n. 419, p. 2443-2452, 2005. DOI: [10.1093/jxb/eri237](https://doi.org/10.1093/jxb/eri237)

GOMES, C. A.; ASSIS, A. C. de L. P.; ALVES, D. P.; REIS, M. R. dos. Aplicação de ácido salicílico como atenuador dos efeitos de déficit hídrico no milho. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 03, 2018.

GORNI, Pedro Henrique. **Atividade elicitora do ácido salicílico sobre o perfil de metabólitos primário e secundário com potencial antioxidante de *Achillea Millefolium* L. cultivada a**

**campo**. 2018. 114f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2018.

HACHAN, Y.; MATITYAHU, I.; AMIR, R. Transgenic tobacco plants having a higher level of methionine are more sensitive to oxidative stress. **Planta Physiolog**, v. 160 n.3, p. 242-252, 2017. DOI: [10.1111 / ppl.12557](https://doi.org/10.1111/ppl.12557)

HOSSAIN, M. A.; LI, Z.G.; HOQUE, T. S.; BURRITT, J. D.; FUJITA, M.; BOSCH, S.M.; Heat or cold priming-induced cross-tolerance to abiotic stresses in plants: key regulators and possible mechanisms. *Protoplasma*, v. 255, p. 399–412, 2018. DOI: [10.1007 / s00709-017-1150-8](https://doi.org/10.1007/s00709-017-1150-8)

JADOSKI , C. J.; RODRIGUES, J. D.; SORATTO, R. P.; SANTOS, C. M.; RIBEIRO, E. Ação fisiológica da piraclostrobina na assimilação de co<sub>2</sub> e na atividade de enzimas antioxidantes em plantas de feijão em diferentes tensões de água no solo. **Irriga**, v.20, n. 2, p. 319-333, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15809/irriga.2015v20n2p319>

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KHAN, M. I. R.; Asgher, M.; KHAN, N. A.; Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, v.80, p. 67-74, 2014. DOI: [10.1016 / j.plaphy.2014.03.026](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.026)

KUNDU, M.; HALDER, S.; BHATTACHARJEE, A. Salicylic acid-induced modulation of growth and metabolism of a medicinal plant *Mentha spicata* L. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.9, n.12, p. 5294-5300, 2018. DOI: [10.13040 / IJPSR.0975-8232.9 \(12\) .5294-00](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(12).5294-00)

LAGO, I.; STRECK, N. A.; BISOGNIN, D. A.; SOUZA, A. T. de.; SILVA, M. R. da. Transpiração e crescimento foliar de plantas de mandioca em resposta ao déficit hídrico no solo.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.11, p.1415-1423, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011001100001>

LIMA, A. S. F.; CANTARELLI, M. M. C.; GONÇALVES, A. N. Relação entre cálcio e temperatura em explantes de *Eucalyptus grandis* in vitro. **Nucleus**, v.13, n.1, p. 123-130, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1482>

LISBOA, L. A. M.; LAPAZ, A. de M.; VIANA, R. da S.; LEONEZI, R. S.; FIGUEIREDO, P. A. M de. Influência do ácido salicílico no processo germinativo de sementes de cultivares de sorgo sacarino. **Acta Iguazu**, v.6, n.2, p. 37-49, 2017.

LIU, B.; LI, M.; CHENG, L.; LIANG, D.; ZOU, Y.; MA, F. Influence of rootstock on antioxidant system in leaves and roots of young apple trees in response to drought stress. **Plant growth regulation**, v.67, p. 247–256, 2012. DOI: [10.1007 / s10725-012-9683-5](https://doi.org/10.1007/s10725-012-9683-5)

LOCATELLI, V.; MEDEIROS, R. D.; SMIDERLE, O. J.; ALBUQUERQUE, J. A. A. Eficiência da irrigação e produtividade de feijão-caupi no cerrado Roraimense. **Horticultura Brasileira**, v.31, p. 1716 -1722, 2014.

LOPES, L. S. **Biorreguladores vegetais em plantas de feijoeiro**. Rio Paranaíba, MG, 2017. vi, 19f : il. ; 29 cm Dissertação/ (Mestrado em agronomia)-Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Produção Vegetal, Universidade Federal de viçosa.

MACÊDO, E. C. F. de.; ZONTA, J, H.; MELO, Y. L.; MELO, A. S. de.; SILVA, D. C. da.; ANDRADE, W. L. de. Changes in osmoregulatory metabolism of cotton genotypes during water deficit and recovery period. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.23, n.8, p. 607-613, 2019.

MAIA, J. M.; MACÊDO, C. E. C. de.; SILVEIRA, J. A. G. da.; SILVA, A. F. da.; LIRA, E. H. A. de.; MELO, A. S. de.; MENESES, C. H. S. G. Seca e salinidade na resposta antioxidativa de raízes de feijão caupi. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v.11, n. 1, p. 59-93, 2015.

MARINI, P.; MORAES, C. L.; MARINI, N.; MORAES, D. M.; AMARANTE, L. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de arroz submetidas ao estresse térmico. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n. 4, p. 722-730, 2012. DOI: [http://dx.doi.org/10.1590-S1806-66902012000400014](http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902012000400014).

MATOS, F. S.; TORRES-JUNIOR, H. D.; ROSA, V. R.; SANTOS, P. G. F.; BORGES, L. F. O. B.; RIBEIRO, R. P; NEVES, T. G.; CRUVINEL, C. K. L. Estratégia morfofisiológica de tolerância ao déficit hídrico de mudas de pinhão manso. **Magistra**, v. 26, n. 1, p. 19 - 27, 2014.

MAZZUCHELLI, E. H. L.; SOUZA, G. M.; PACHECO, A. C. Rustificação de mudas de eucalipto via aplicação de ácido salicílico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.44, n. 4, p. 443-450, 2014.

MEDEIROS, W. R.; COSTA-SILVA, J. D.; SILVA-RAMALHO, P. R.; GIRÃO-FILHO, J. E.; PADUA, L. E. M.; FRANÇA, S. M. de. Resistência de genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao Ataque do Caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae). **EntomoBrasilis**, v.10, n. 1 p. 19-25, 2017. DOI: <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v10i1.650>

MELO, A.S de.; SILVA, A. R. da.; DUTRA, A. F.; DUTRA, W. F.; BRITO, M. E. B.; SÁ, F. V. da S. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. **Revista Ambiente & Água**, v.13, n.5, p. 1-8, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.4136/ambiente.2133>

MENDES, R. G.; GASTL-FILHO, J.; FIALHO, A.; MENEZES, D. P.; SILVA, A. P. S.; JACOB, M. A. M.; Influência do ácido acetilsalicílico na emergência e na indução à resistência ao déficit hídrico em *Handroanthusochraceus* (Cham.) Mattos. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 1, p. 674-681, 2019.

MEWARD, A. R. M. A.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. **Scientia Horticulturae**, v. 228, p.132–144, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.008>

MIURA, K.; TADA, Y. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. **Frontiers in plants in Science**, v.1, p.1-12, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004>

MO, Y.; GONG, D.; LIANG, G.; HAN, R.; XIE, J.; LI, W. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, s/n, p. 2693-2699, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3395>.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. dos. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.49, n.1, p.18-25, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000100003>

MORAES, P. F.; LAAT, D. M. de.; SANTOS, M. E. A. H. P; COLOMBO, C. A.; KIIHL, T. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia, Campinas**, v.74, n. 1, p.25-32, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0207>.

MORALES, R. G. F.; RESENDE, L.V.; BORDINI, I. C.; GALVÃO, A. G.; REZENDE, F. C. Caracterização do tomateiro submetido ao déficit hídrico. **Scientia Agraria**, v.16, n.1, p.09-17, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v16i1.41042>

MORANDO, R.; SILVA, A. O. da.; CARVALHO, L. C.; PINHEIRO, M. P. A. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, v.3, n. especial, p.114-129, 2014.

MOURA, M. S. B. de; GALVINCIO, J. D.; BRITO, L. T. de L.; SOUZA, L. S. B. DE; SÁ, I. I. S.; SILVA, T. G. F. da. **Clima e água de chuva no Semi-Árido**. In: BRITO, L. T. de L.; MOURA, M. S. B. de; GAMA, G. F. B. (Ed.). Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. cap. 2, p. 37-59. il. color. Disponível em: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=159649&biblioteca=vazio&busca=159649&qFacets=159649&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>. Acesso em 2 out. 2020.

MOURA, J. Z.; PADUA, L. E. M.; MOURA, S. G.; TORRES, J. S.; RAMALHO E SILVA, P. R. Escala de desenvolvimento fenológico e exigência térmica associada a graus-dia do feijão-caupi. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 3, p. 66-71, 2012.

MOFOKENG, M. A.; MASHINGAIDZE, K. Breeding and genetic management of drought in cowpea: Progress and Technologies. **Australian journal of crop Science**, v. 1, n. 12, p. 1920-1926, 2019. DOI: [10.21475 / ajcs.19.13.12.p1289](https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.12.p1289)

MOZGOVA I.; MIKULSKI P.; PECINKA A.; FARRONA S. Epigenetic Mechanisms of Abiotic Stress Response and Memory in Plants. In: ALVAREZ-VENEGAS R.; DE-LA-PEÑA, C.; CASAS-MOLLANO, J. (eds) **Epigenetics in Plants of Agronomic Importance: Fundamentals and Applications**. Alemanha. Springer, Cham. 2019. Cap.1 , p 1-64.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n.5, p. 867-880, 1981. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>.

NASCIMENTO-SILVA, E.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S. de.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.44 n.5, p.437-445 , 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000500002>.

NASCIMENTO, S P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C.; FREIRE-FILHO, F. R.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.8, p.853–860, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000800013>.

NASCIMENTO, J. B.; BARIGOSSO, J. A. F. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. **Agrarian academy, Centro Científico Conhecer**, v.1, n.1, p.234-250, 2014.

NASCIMENTO, H. H. C.; SANTOS, C. A.; FREIRE, C. S.; SILVA, M. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Ajustamento osmótico em mudas de jatobá submetidas à salinidade em meio hidropônico. **Revista Árvore**, v.39, n.4, p.641-653, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000400006>

NASCIMENTO-SILVA, Bruno do. **Caracterização fisiológica e bioquímica de variedades locais de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) quanto a tolerância ao déficit hídrico**. 2017. 56f. Monografia (Curso de Agronomia)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

NAZAR, R; UMAR, S.; KHAN, N. A.; SAREER, O. Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. **South African Journal of Botany**, n. 98, p. 84-94, 2015.

NOREEN, S.; FATIMA, K.; ATHARI, H. U. R.; AHMAD, S.; HUSSAIN, K. Enhancement of physio-biochemical parameters of wheat through exogenous application of salicylic acid under drought stress. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v.27, n.1, p. 153-163, 2017.

NUNES-JUNIOR, F. H.; GONDIM, F. A.; FREITAS, V. S.; BRAGA, B. B.; BRITO, P. O. B.; MARTINS, K. Crescimento foliar e atividades das enzimas antioxidativas em plântulas de girassol suplementadas com percolato de aterro sanitário e submetidas a estresse hídrico. **Revista Ambiente & Água**, v.12, n. 1, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1964>



NUNES, L. R. L.; PINHEIRO, P. R.; SILVA, J. B. da.; DUTRA, A. S. Effects of ascorbic acid on the germination and vigour of cowpea seeds under water stress. **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, n. 2, p. 1-11, 2020.

OLIVEIRA, A. E. S.; SIMEÃO, M.; MOUSINHO, R. L. F.; GOMES, R. L. F. Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. **Holos**, v 30, v. 1, p. 143-151, 2014.

PADILHA, N. de. S.; SILVA-JOSÉ, C.; PEREIRA, S. B.; SILVA-NETO, J. A. da.; HEIDI, D. M.; BOTTEGA, S. P.; SCALON, S. de. P. Q. Crescimento inicial do pinhão-manso submetido a diferentes regimes hídricos em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 2, p. 513-521, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509822752>

PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. **Methods for 4318 evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Camberra: Australian 4319: International Center of Agricultural Research, 1989.

PEREIRA, F. J.; MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C.; CASTRO, E. M.; ALVES, J. D. Atividade do sistema antioxidante e desenvolvimento de aerênquima em raízes de milho 'Saracura'. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.45, n.5, p.450-456, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2010000500003>

PEREIRA, J. W. de. L.; MELO-FILHO, P. A.; ALBUQUERQUE, M. B.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 766-773, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902012000400019>

PESSOA, J. L.; FREIRE, A. L. O.; COSTA, A. S. Trocas gasosas de plantas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC) Mattos submetidas ao déficit hídrico e posterior reidratação. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.16, n.3, p.269-276, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5965/223811711632017269>

RAMOS, H. M. M.; BASTOS, E. A.; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q.; NASCIMENTO, F. N. Produtividade de grãos verdes do feijão-caupi sob diferentes regimes hídricos. **Engenharia Agrícola**, v.34, n.4, p.683-694, 2014.DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-69162014000400008>

RIVAS, R.; FALCÃO, H. M.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; PIMENTEL, C.; SANTOS, M. G. Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. **South African Journal of Botany**, v.103, p. 101-107, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.08.008>

ROCHA, Maria Eunice Lima. **Ação do ácido salicílico nas características morfofisiológicas e bioquímicas em mudas de *Schinus terebinthifolius* RADDI. e *Cedrela fissilis* VELL.** 2018. 168f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2018.

RODRIGUES-SILVA, André Alisson da. **Aplicação exógena de peróxido de hidrogênio na mitigação do estresse salino em gravioleira.** 2018. 82f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)-Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2018.

SADEGHIPOUR, O. Amelioration of salinity tolerance in cowpea plants by seed treatment with methyl jasmonate. **Legume Research**,v.40, n.6, p. 1100-1106, 2017. DOI: [10.18805/lr.v0i0.8394](http://dx.doi.org/10.18805/lr.v0i0.8394)

SAINT- MACARY, M. E.; BARBISAN, C.; GAGEY, M. J.; FRELIN, O.; BEFFA, R.; LEBRUN, M. H.; DROUX, M. Methionine Biosynthesis is Essential for Infection in the Rice Blast Fungus *Magnaporthe oryzae*. **Plosone**, v.10, n.4, p.1-22, 2015.DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111108>

SANTOS, O. O.; FALCÃO, H.; ANTONINO, A. C. D.; LIMA, J. R. S.; LUSTOSA, B. M.; SANTOS, M. G. Desempenho ecofisiológico de milho, sorgo e braquiária sob déficit hídrico e reidratação. **Bragantia**, v. 73, n. 2, p.203-212, 2014. DOI:<https://doi.org/10.1590/brag.2014.018>.

SANTOS, L. A. C.; SILVA-PINHEIRO, D. M.; OLIVEIRA, I. A.; PEREIRA, C. E.; CAMPOS, M. C. C.; Crescimento de cultivares de feijão-caupi em solo de terra firme e várzea. **Ambiência Guarapuava**, v.13, n.1 p. 261-270, 2017.

SÁ, F. V. S.; BRITO, M. E. B.; MOREIRA, R. C. L.; SILVA, L. A.; SOARES-FILHO, W. D.; FIGUEIREDO, L. C.; GHEYI, H. R.; FERNANDES, P. D. Growth and physiology of citrus rootstocks under salt stress. **Bioscience Journal**, v. 34, n. 4, p. 907-916, 2018. DOI: <https://doi.org/10.14393/BJ-v34n1a2018-36553>

SCOTTI CAMPOS, P.; THU PHAN THI, A. Effect of abscisic acid pretreatment on membrane leakage and lipid composition of *Vigna unguiculata* leaf discs subject to ormotic stress. **Plant Science**, v. 130, n.1,p. 11-18, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)00199-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00199-4)

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v.148, p.339-346, 1965.

SIDRA. Banco de tabelas estatísticas. In: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 2020**. Disponível em: Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>> Acesso em: 27 fevereiro 2020.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R.A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão manso submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.5, p.437-445, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2009000500002>

SILVA, C. D. S.; SANTOS, P. A. A.; LIRA, J. M. S.; SANTANA, M. C de.; SILVA-JUNIOR, C. D. da. Curso diário das trocas gasosas em plantas de feijão-caupi submetidas a deficiência hídrica. **Revista Caatinga**, v.23, n. 4, p.7-13, 2010.

SILVA, V. A.; ANTUNES, W. C.; GUIMARÃES, B. L. S.; PAIVA, R. M. C.; SILVA, V. F.; FERRÃO, M. A. G.; MATTA, F. M.; LOUREIRO, M. E. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível a deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.5, p.457- 464, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2010000500004>

SILVA, H. A. P.; GALISA, P. S.; OLIVEIRA, R. S. S.; VIDAL, M. S.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L. Expressão gênica induzida por estresses abióticos em nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.6, p.797-807, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000600010>.

SILVA, T. C. F. S.; SILVA, R. C. B.; SILVA, J. E. S. B.; SANTOS, R. S.; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F. Germinação de sementes de melancia sob diferentes métodos de tratamento com reguladores vegetais. **Scientia plena**, v.10, n. 3, 2014.

SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SANTOS-MOURA, S. S.; SANTOS-NETO, A. P. dos. Germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* O. Kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v.26, n. 3, p. 999-1007, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509824229>.

SILVA, A. C.; SUASSUNA, J. F.; MELO, A. S.; COSTA, R. R.; ANDRADE, W. L.; SILVA, D. C. Salicylic acid as attenuator of drought stress on germination and initial development of sesame. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.21, n.3, p.156-162, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n3p156-162>

SILVA-JUNIO, L; DIAS, D. C. F. S.; SEKITA, M. C.; FINGER, F. L. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes of *Jatropha curcas* L. seeds stored at different maturity stages. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 40, p.1-10, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.34978>

SILVA, P. C. C.; AZEVEDO-NETO, A. D.; GHEYI, H. R.; COVA, A. M. W.; SILVA, C. R. R. Avaliação e métodos de aplicação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para aclimação de plantas de girassol à salinidade. **Water Resources and Irrigation Management**, v.8, n.1, p. 1-4, 2019.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; SILVA-DIAS, N.; LACERDA, C. F.; GOMES-FILHO, E. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. 2. Ed. Fortaleza: INCTSal, 2016, p. 181-196.

SMART, R. E.; BINGHAM, G. E. Rapid estimates of relative water content. **Plant Physiology**, v. 53, n. 2, p. 258-260, 1974.

SOUSA, M. A. de.; LIMA, M. D. B. Índice de área foliar e produtividade do feijoeiro sob estresse hídrico e profundidades de incorporação do adubo. **Global science and technology**, v. 5, n. 2, p. 45- 55, 2012.

SOUSA, C. M. de.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; OLIVEIRA-FILHO, R. A. de.; SOUSA, M. A. L. M. de.; PEREIRA-FILHO, J. V.; Crescimento e respostas enzimáticas do feijoeiro caupi sob estresse hídrico e nematoide de galhas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.2, p.113–118, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n2p113-118>

SOUSA, Monique Feitosa da Costa. **Interferência de plantas daninhas associadas a restrição hídrica no crescimento inicial do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. 2019. 77f. Dissertação (Mestrado em agronomia tropical)- Universidade Federal do Amazonas, Amazonas, 2019.

SOUZA, L. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; SILVA, J. L. S.; COELHO, C. C. R.; NEVES, M. G.; OLIVEIRA-NETO, C. F. Osmorreguladores em plantas de sorgo sob suspensão hídrica e diferentes níveis de silício. **Revista brasileira de milho e sorgo**, v.12, n.3, p. 240-249, 2013. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v12n3p240-249>

SOUZA, L. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; SOUSA-SILVA, J. L. da.; SILVA, J. N. da.; OLIVEIRA-NETO, C. F. de.; LOBATO, A. K. da. S. Compostos nitrogenados, proteínas e aminoácidos em milho sob diferentes níveis de silício e deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, n.2, p. 117-128, 2014. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v13n2p117-128>

SOUZA, L. C. de.; MELO, N. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; ALVES-SILVA, V. F.; OLIVEIRA-NETO, C. F. de. Comportamento bioquímico no milho submetido ao déficit hídrico e a diferentes concentrações de silício. **Revista Agrarian**, v.8, n.29, p.260-267, 2015.

SOUZA, T. M. A.; SOUZA, T. A.; SOUTO, L. S.; SÁ, F. V. G. S.; PAIVA, E. P. G.; MESQUITA, E. F. de. Água disponível e cobertura do solo sob o crescimento inicial do feijão-

caupi cv. BRS pujante. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v.10, n.3, p. 598-604, 2016.

DOI: [10.7127/rbai.v10n300345](https://doi.org/10.7127/rbai.v10n300345)

RAVANEL, S.; GAKIERE, B.; JOB, D.; DOUCE, R. The Specific Features of Methionine Biosynthesis and Metabolism in Plants. *Plant Biology*, v. 95, n. 13 p. 7805-7812, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TORRES, F. E.; TEODORO, P. E.; SAGRILO, E.; CECCON, G.; CORREA, A. M. Interação genótipo x ambiente em genótipos de feijão-caupi semiprostrado via modelos mistos. **Bragantia**, v. 74, n. 3, p.255-260, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0099>

UMEBESE, C. E.; BANKOLE, A. E.; Impact of salicylic acid on antioxidants, biomass and osmotic adjustments in *Vigna unguiculata* L. walp. during water deficit stress. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n.33, p. 5200-5207, 2013. DOI: [10.5897 / AJB2013.12087](https://doi.org/10.5897/AJB2013.12087)

VALE, N. M.; BARILI, L. D.; ROZZETO, D. S.; Stinghin, J. C.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; KOOP, M. M. Avaliação para tolerância ao estresse hídrico em feijão. **Revista Biotemas**, v.25 n.3, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2012v25n3p135>

VIEIRA, José Gustavo. **Aplicação exógena de ácido salicílico em feijoeiro**. 2017. 48f. Presidente Prudente. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2011.

VIEIRA, G. H. S.; MANTOVANI, E. C.; SEDIYAMA, G. C.; DELAZARI. Indicadores morfo-fisiológicos do estresse hídrico para a cultura da cana-de-açúcar em função de lâminas de Irrigação. **Bioscience Journal**, v.30, n.1, p. 65-75, 2014.

VELIKOVA, V.; YORDANOVI, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidante systems in acid raintreated bean plants. **Plant Science**, v.151, n.1, p. 59-66, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)

WANG, L., FAN, L., LOESCHER, W.; DUAN, W.; LIU, G. J.; CHENG, J. S.; LUO, H. B.; LI, S. H. O ácido salicílico alivia reduções na fotossíntese sob estresse térmico e acelera a recuperação nas folhas da videira. **BMC Plant Biology**, v.10, n.34, 2010.

WANG, Y.; WEN, T.; HU, J.; HAN, R.; ZHU, Y.; GUAN, Y.; ZHU, S. Relationship between endogenous salicylic acid and antioxidant enzyme activities in maize seedlings under chilling stress. **Experimental agriculture**, v.49, n. 2, p. 295-308, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0014479712001329>

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, v.6, n.11, p.1-23, 2010.

WILLKE, T. Methionine production-a critical review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p.9893–9914, 2014.

WIRTZ, M.; DROUX, M. Synthesis of the sulfur amino acids: cysteine and methionine. **Photosynthesis Research**, v.86, p.345–362, 2005.