

**SILÍCIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE HÍDRICO EM FEIJÃO-  
CAUPI POR MEIO DO MECANISMO ANTIOXIDANTE E  
DESEMPENHO AGRONÔMICO**

**EDILENE DANIEL DE ARAÚJO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**MARÇO– 2017**

**EDILENE DANIEL DE ARAÚJO**

**SILÍCIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE HÍDRICO EM FEIJÃO-  
CAUPI POR MEIO DO MECANISMO ANTIOXIDANTE E  
DESEMPENHO AGRONÔMICO**

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**

**Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria do Socorro Rocha**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**MARÇO – 2017**

**SILÍCIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE HÍDRICO EM FEIJÃO-  
CAUPI POR MEIO DO MECANISMO ANTIOXIDANTE E  
DESEMPENHO AGRONÔMICO**

**EDILENE DANIEL DE ARAÚJO**

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: 31 de março de 2017

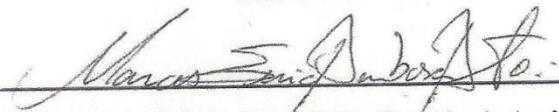
Banca examinadora:



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Liziane Maria de Lima (D. Sc. Ciências Biológicas)- Embrapa Algodão

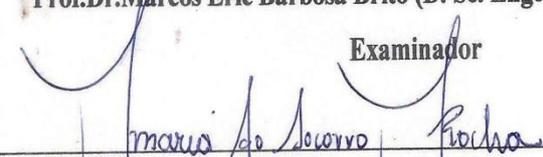
Examinador



---

Prof.Dr.Marcos Eric Barbosa Brito (D. Sc. Engenharia Agrícola)-UFCG

Examinador



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria do Socorro Rocha (D. Sc. Agronomia)- UEPB

Coorientadora



---

Prof.Dr.Alberto Soares de Melo (D. Sc. Recursos Naturais)-UEPB

Orientador

À minha mãe, pelo amor incondicional, atenção e  
compreensão.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concedeu sabedoria e força para superar as dificuldades.

Aos meus pais, Clementino Araújo (*in memoriam*) e Maria das Mercês de Araújo, pela confiança, compreensão, educação, carinho e apoio incondicional para a realização deste trabalho.

A todos da minha família, pelo apoio em todos os momentos da minha vida.

Aos amigos, pela amizade sincera.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, pela amizade, dedicação e confiança depositada. Por todos os ensinamentos e pelo exemplo profissional, fundamentais para a realização desta pesquisa.

Aos membros do ECOLAB, em especial, o Prof. Dr. Janivan Fernandes Suassuna, o Prof. Dr. Yuri Melo, a Duval, Wellerson, Rebeca, Kamila, Auta, Rosa, Rayssa, pelo apoio, companheirismo, força e por dividir comigo as atividades de pesquisa. Aos trabalhadores do Horto Florestal próximo ao Campus I da UEPB, em especial Tatiana, Beto e Naldo.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria do Socorro Rocha, pela amizade, palavras de conforto, presença todos os dias comigo, me auxiliando no experimento em campo e no laboratório.

Ao doutorando e amigo Rener Luciano de Souza Ferraz, por me ajudar na montagem do experimento e nas análises estatísticas.

Às técnicas, Elaine e Macelly, pelo auxílio em relação ao uso dos equipamentos do laboratório de Botânica e do Herbário.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Lopes e a técnica Elaine, por ceder e auxiliar no uso da centrífuga refrigerada do laboratório de Biologia Molecular e Genética.

À Embrapa Meio-Norte na pessoa de Dr. Maurisrael de Rocha Moura, e também o Prof.Dr. Marcos Eric Barbosa Brito pela concessão das sementes utilizadas nesta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (PPGCA) da UEPB/Embrapa Algodão, pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

Também externo meus agradecimentos ao secretário do Programa, Danilo Cavalcante de Sousa Forte pelo auxílio e atenção durante o período do mestrado.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, em especial aos professores Dr. Alberto Soares de Melo, Dr. Janivan Fernandes Suassuna e Dr. Josemir Moura Maia.

Aos colegas de curso, Bruna, Damião, Erika, Vanessa, Silmara, Jeneilson, Magaly, Nadja, Jonnathan e Rommel por todos os momentos compartilhados durante esta jornada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

A todos que constituem a Universidade Estadual da Paraíba, por disponibilizar a infraestrutura e o apoio necessário durante o curso de graduação e mestrado.

## SUMÁRIO

Lista de tabelas.....	vi
Lista de figuras.....	viii
Lista de abreviaturas.....	xii
Resumo .....	xiv
Abstract.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Objetivo geral.....	2
1.2. Objetivos específicos.....	2
2. Revisão de literatura.....	3
2.1. Caracterização geral do feijão-caupi.....	3
2.2. Importância socioeconômica do feijão-caupi.....	3
2.3. Déficit hídrico nos vegetais.....	4
2.4. Mecanismos de tolerância ao déficit hídrico.....	5
2.4.1. Proteção antioxidante.....	5
2.4.2. Prolina livre.....	7
2.5. Silício como atenuador do déficit hídrico.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1. Local da pesquisa.....	10
3.2. Fatores em estudo.....	10
3.3. Instalação e condução do experimento.....	12
3.4. Variáveis analisadas.....	15
3.4.1. Variáveis de crescimento.....	15
3.4.2. Variáveis fisiológicas.....	16
3.4.3. Extravasamento de eletrólitos.....	16
3.4.4. Variáveis bioquímicas.....	17
3.4.5. Quantificação de prolina livre.....	18
3.4.6. Determinação de proteínas solúveis totais.....	19
3.4.7. Determinação de carboidratos solúveis totais.....	19

3.4.8. Variáveis de produção.....	19
3.4.9. Análises estatísticas.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1. Variáveis de crescimento.....	21
4.2. Variáveis fisiológicas.....	28
4.3. Atividade das enzimas antioxidantes.....	32
4.4. Teor de prolina livre.....	41
4.5. Proteínas solúveis totais.....	44
4.6. Carboidratos solúveis totais.....	46
4.7. Variáveis de produção.....	49
4.8. Análise dos Componentes Principais.....	52
5. CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICES.....	71

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Principais características dos genótipos de feijão caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de vaca (G5) utilizados no experimento. Campina Grande, PB, 2017.....12
- Tabela 2.** Características físico-químicas do solo utilizado para o preenchimento dos vasos. Campina Grande, PB, 2017.....13
- Tabela 3.** Características da água utilizada para irrigação. Campina Grande, PB, 2017..... 14
- Tabela 4.** Nomenclatura utilizada para expor as os dias das avaliações durante o experimento. Campina Grande, PB, 2017.....15
- Tabela 5.** Resumo das análises de variância para as variáveis: AFO- área foliar; MST- massa seca total da parte aérea; MFT- massa fresca total da parte aérea; CRA- conteúdo relativo de água; SOD- superóxido dismutase; APX – ascorbato peroxidase; CAT- catalase; PRL- prolina; CAR- carboidratos solúveis totais; PRT- proteínas solúveis totais; VEL –Extravasamento de eletrólitos;  $\Psi_w$ - potencial hídrico foliar. Campina Grande, PB, 2017..... 71
- Tabela 6.** Resumo das análises de variância para as variáveis: AFO- área foliar; MST- massa seca total da parte aérea; MFT- massa fresca total da parte aérea; CRA- conteúdo relativo de água; SOD- superóxido dismutase; APX – ascorbato peroxidase; CAT- catalase; PRL- prolina; CAR- carboidratos solúveis totais; PRT- proteínas solúveis totais; VEL– Extravasamento de eletrólitos. Campina Grande, PB, 2017.....72
- Tabela 7.** Resumo das análises de variância para as variáveis: NVP- número de vagens por planta; MVC- massa de vagens com sementes; MVS – massa de vagens sem sementes; MGP- massa de grãos por planta; EUA- eficiência no uso da água. Campina Grande, PB 2017..... 73

**Tabela 8.** Cargas das variáveis: AFO- área foliar; MST- massa seca total da parte aérea; MFT- massa fresca total da parte aérea; CRA- conteúdo relativo de água; SOD- superóxido dismutase; APX – ascorbato peroxidase; CAT- catalase; PRL- prolina; CAR- carboidratos solúveis totais; PRT- proteínas solúveis totais; VEL– extravasamento de eletrólitos; PHI- potencial hídrico foliar; NVP- número de vagens por planta; MVC- massa de vagens com sementes; MVS – massa de vagens sem sementes; MGP- massa de grãos por planta; EUA- eficiência no uso da água; MCG- massa de cem grãos, autovalores e variância relativa dos respectivos Componentes Principais nos estádios fenológicos V<sub>5</sub>, V<sub>9</sub> e R<sub>5</sub>. Campina Grande, PB, 2017.....74

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Genótipos de feijão-caupi utilizados no experimento: BRS Rouxinol (A), BR 17 Gurgueia (B), BRS Marataoã (C), Paulistinha (D) e Costela de Vaca (E). Campina Grande, PB, 2017.....11
- Figura 2.** Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo dos vasos em blocos casualizados. Campina Grande, PB, 2017.....12
- Figura 3.** Tensiômetros instalados na área experimental. Campina Grande, PB, 2017..... 15
- Figura 4.** Área foliar total (AFO) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017..... 23
- Figura 5.** Massa fresca total da parte aérea (MFT) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017..... 25
- Figura 6.** Massa seca total da parte aérea (MST) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017..... 27

**Figura 7.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio V<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.....29

**Figura 8.** Conteúdo relativo de água (CRA) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017..... 31

**Figura 9.** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017..... 34

**Figura 10.** Atividade da enzima catalase (CAT) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub>(B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.....37

**Figura 11.** Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.....40

**Figura 12.** Teor de prolina livre (PRL) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017. .... 43

**Figura 13.** Teor de proteínas solúveis totais (PRT) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017. .... 45

**Figura 14.** Teor de carboidratos solúveis totais (CAR) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017..... 48

**Figura 15.** Massa de grãos por planta (A); massa de vagens com sementes(B) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio fenológico R<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017. .... 50

**Figura 16.** Massa de vagens sem sementes (A); número de vagens por planta (B) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio fenológico R<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB,2017..... 51

**Figura 17.** Eficiência no uso da água nos genótipos Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio R<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.....52

**Figura 18.** Projeção bidimensional de tratamentos (A e C) e variáveis (B e D) nos quatro primeiros Componentes Principais (CP) nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> e R<sub>5</sub>. Genótipos: G<sub>1</sub>-Paulistinha; G<sub>2</sub>-BRS Rouxinol; G<sub>3</sub>-BRS Marataoã; G<sub>4</sub>-BR 17 Gurgueia; G<sub>5</sub>-Costela de Vaca. Concentrações de silício: S<sub>0</sub>-sem silício; S<sub>1</sub>-49 mg L<sup>-1</sup>; S<sub>2</sub>-70 mg L<sup>-1</sup>. E<sub>0</sub>-100% de disponibilidade hídrica; E<sub>1</sub>-50% de disponibilidade hídrica. AFO: área foliar total; MFT: massa fresca total da parte aérea; MST: massa seca total da parte aérea; MVC: massa de vagens com sementes; MVS: massa de vagens sem sementes; MGP: massa de grãos por planta; MCG: massa de cem grãos; NVP: número de vagens por planta; VEL: extravasamento de eletrólitos; CRA: conteúdo relativo de água; EUA: eficiência no uso da água; PHI: potencial hídrico foliar; CAT: catalase; SOD: superóxido dismutase; APX: ascorbato peroxidase; PRT: proteínas solúveis totais; PRL: prolina; CAR: carboidratos solúveis totais. Campina Grande, PB, 2017.....54

**Figura 19.** Projeção bidimensional de tratamentos (A e C) e variáveis (B e D) nos quatro primeiros Componentes Principais (CP) nos estádios fenológicos V<sub>9</sub> e R<sub>5</sub>. Genótipos: G<sub>1</sub>-Paulistinha; G<sub>2</sub>-BRS Rouxinol; G<sub>3</sub>-BRS Marataoã; G<sub>4</sub>-BR 17 Gurgueia; G<sub>5</sub>-Costela de Vaca. Concentrações de silício: S<sub>0</sub>-sem silício; S<sub>1</sub>-49 mg L<sup>-1</sup>; S<sub>2</sub>-70 mg L<sup>-1</sup>. E<sub>0</sub>-100% de disponibilidade hídrica; E<sub>1</sub>-50% de disponibilidade hídrica. AFO: área foliar total; MFT: massa fresca total da parte aérea; MST: massa seca total da parte aérea; MVC: massa de vagens com sementes; MVS: massa de vagens sem sementes; MGP: massa de grãos por planta; MCG: massa de cem grãos; NVP: número de vagens por planta; VEL: extravasamento de eletrólitos; CRA: conteúdo relativo de água; EUA: eficiência no uso da água; PHI: potencial hídrico foliar; CAT: catalase; SOD: superóxido dismutase; APX: ascorbato peroxidase; PRT: proteínas solúveis; PRL: prolina; CAR: carboidratos solúveis totais. Campina Grande, PB, 2017.....56

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AFO- Área foliar total  
APX-Ascorbato peroxidase  
CAT-Catalase  
CO<sub>2</sub>-Gás carbônico  
GEN-Genótipo  
CRA- Conteúdo relativo de água  
CS- Cor da semente  
CST- carboidratos solúveis totais  
DAS- Dias após a semeadura  
EDTA- ácido etilodiaminotetracético  
EUA- Eficiência no uso da água  
EROs- Espécies reativas de oxigênio  
E<sub>0</sub>-Sem déficit hídrico (100% de disponibilidade de água)  
E<sub>1</sub>-Com restrição hídrica (50% de disponibilidade de água)  
FS- Forma da semente  
g- grama  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Peróxido de hidrogênio  
H<sub>2</sub>O-Água  
MAP -Fosfatomonamônico  
MCG- Massa de cem grãos  
MFD- Massa fresca do disco foliar  
MFT- Massa fresca total da parte aérea  
MGP- Massa de grãos por planta  
mg- miligrama  
MST- Massa seca total da parte aérea  
MST- Massa seca total da parte aérea  
MSD- Massa seca do disco foliar  
MTD- Massa túrgida do disco foliar  
MVS- Massa de vagens sem sementes

MVC- Massa de vagens com sementes  
NBT- Cloreto de nitrotetrazólio azul  
NDF- Número médio de dias para a floração  
NVP- Número de vagens por planta  
O<sub>2</sub>-Gás oxigênio  
<sup>1</sup>O<sub>2</sub>-Oxigênio singleto  
OH•-Radical hidroxila  
O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>-ânion superóxido  
PRL- Prolina  
PRT- Proteínas solúveis totais  
PVP- Polivinilpirrolidona  
PHI-Potencial hídrico foliar  
rpm- Rotação por minuto  
Si-Silício  
SOD- Superóxido dismutase  
VEL- Extravasamento de eletrólitos  
Ψ<sub>w</sub>- Potencial hídrico foliar

## RESUMO

ARAÚJO, EDILENE DANIEL. M. Sc. Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, Março de 2017. **Silício como atenuador do estresse hídrico em feijão-caupi por meio do mecanismo antioxidante e desempenho agrônômico.** Campina Grande, PB, 2017.p.92. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>.Maria do Socorro Rocha.

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das culturas alimentares mais importantes do semiárido nordestino por possuir alto valor nutritivo. Todavia, na região Nordeste, a escassez de água é um dos fatores que reduz a produtividade dessa cultura com diversas consequências para o seu desenvolvimento e produtividade. Objetivou-se avaliar a aplicação de silício (Si) como indutor de tolerância à restrição hídrica em genótipos de feijão-caupi. O experimento constou de um fatorial 5 x 2 x 3, sendo cinco genótipos de feijão-caupi (BRS Marataoã, BR 17 Gurgueia, BRS Rouxinol, Paulistinha e Costela de Vaca) submetidas a duas condições hídricas (E<sub>0</sub>- sem déficit hídrico/W-100% da capacidade de campo e E<sub>1</sub>- com déficit hídrico/W-50% da capacidade de campo) e três aplicações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup> de Si), resultando em 30 tratamentos, arranjos no delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições. Realizou-se avaliações agrônômicas (crescimento e produção), fisiológicas (potencial hídrico foliar e conteúdo relativo de água) e bioquímicas (superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, prolina livre, proteínas solúveis totais e carboidratos solúveis totais). Os dados obtidos foram submetidos à análise univariada e multivariada, utilizando-se o *software Statistica 7.0*. Os genótipos avaliados expressaram aumento no crescimento e desenvolvimento, quando cultivados na limitação hídrica de 50% de água disponível e tratados com Si. O Si reduziu o extravasamento de eletrólitos em ‘Paulistinha’ e ‘BRS Marataoã’. A atividade antioxidante das enzimas SOD, CAT e APX foram potencializadas pela aplicação foliar de Si. O genótipo BRS Marataoã suportou melhor à restrição hídrica por meio da aplicação de Si.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp., osmorregulação, promoção de tolerância.

## ABSTRACT

ARAÚJO, EDILENE DANIEL. M. Sc., State University of Paraíba / Cotton Embrapa, March 2017. **Silicon as water stress attenuator in cowpea through antioxidant mechanism and agronomic performance.** Campina Grande, PB, 2017.p.92. Dissertation (Graduate Program in Agrarian Sciences).Major professor 1: Dr. Alberto Soares de Melo. Major professor 2: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>.Maria do Socorro Rocha.

Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is one of the most important food crops in the Northeastern semi-arid region for its high nutritional value. However, in the Northeast region, water scarcity is one of the factors that reduce its yield, with various consequences for its development and yield. This study aimed to evaluate the application of silicon (Si) as inductor of tolerance to water restriction in cowpea genotypes. The experiment consisted of a 5 x 2 x 3 factorial scheme, corresponding to five cowpea genotypes ('BRS Marataoã', 'BR 17 Gurgueia', 'BRS Rouxinol', 'Paulistinha' and 'Costela de Vaca') subjected to two water conditions (E<sub>0</sub>-without water deficit/W-100% of field capacity and E<sub>1</sub>- with water deficit/W-50% of field capacity) and three Si doses (0; 49 and 70 mg L<sup>-1</sup> of Si), resulting in 30 treatments, arranged in randomized blocks, with five replicates. Agronomic (growth and production), physiological (leaf water potential and relative water content) and biochemical (superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, free proline, total soluble proteins and total soluble carbohydrates) evaluations were performed. The obtained data were subjected to univariate and multivariate analyses, using the software *Statistica* 7.0. The evaluated genotypes showed increase in growth and development, when cultivated under water limitation of 50% of available water and treated with Si. Si reduced the leakage of electrolytes in 'Paulistinha' and 'BRS Marataoã'. The antioxidant activity of the enzymes SOD, CAT and APX were potentiated by Si leaf application. The genotypes 'BRS Marataoã' withstood the water restriction better through the application of Si.

**Key words:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp., osmoregulation, promotion of tolerance.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), também denominado feijão macassar é uma leguminosa de alto valor nutritivo que constitui uma das principais fontes de alimentação nas regiões Nordeste e Norte do Brasil (ALMEIDA et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2011), e além de sua importância nutritiva, é fonte geradora de emprego e renda para essas regiões (FROTA et al., 2008; FREIRE FILHO et al., 2011).

No cultivo do semiárido, verifica-se limitação da produtividade do feijão-caupi devido a estresses abióticos, que afetam sua produtividade, sendo o déficit hídrico um dos fatores mais limitante, podendo causar modificações morfofisiológicas e bioquímicas (TAIZ e ZAIGER, 2013; BOUGHALLEB et al., 2016), uma vez que a redução na disponibilidade hídrica no solo prejudica o metabolismo dos vegetais.

Entretanto, as plantas possuem defesas adaptativas às condições de estresse que resultam em alterações morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares, que podem variar de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento, o tipo de estresse e a intensidade do mesmo (NOGUEIRA et al., 2005; LISAR et al., 2012). Quanto ao estresse por deficiência hídrica, as alterações morfofisiológicas mais comuns são a redução da área foliar, o fechamento estomático e o crescimento do sistema radicular (TAIZ e ZEIGER, 2013).

É importante mencionar que, além da restrição na aquisição de nutrientes, o déficit hídrico provoca o estresse oxidativo, por aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (GIL e TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). No entanto, as plantas possuem sistemas enzimáticos antioxidantes e não-antioxidantes que constituem uma importante defesa primária para eliminar a EROs, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) e a osmoproteção por solutos compatíveis e removedores de radicais livres como a prolina (LISAR et al., 2012).

Ressalta-se que existem atenuadores de estresses bióticos e abióticos, como os brassinosteróides, o ácido jasmônico e o ácido salicílico (TAIZ e ZEIGER, 2013; SILVA et al., 2017). A literatura tem descrito que o silício (Si) é um elemento químico benéfico aos vegetais, por proporcionar aumento na produtividade de diversas culturas, reduzir o excesso de metais, potencialmente fitotóxicos, promover maior tolerância às situações de estresse, sejam hídrico ou

salino (RODRIGUES et al., 2011; FERRAZ et al., 2015), além de melhorar a eficiência do uso da água e mitigar o efeito do estresse oxidativo (ZANETTI et al., 2016).

O feijão-caupi é uma espécie relativamente tolerante ao déficit hídrico. Entretanto, a redução na disponibilidade hídrica no solo afeta sua produtividade. Considerando a importância socioeconômica dessa cultura para a população da região Nordeste do Brasil, onde é frequente a limitação hídrica, torna-se necessário estudar alternativas que potencializem a produtividade desta cultura. Nesse contexto, a aplicação foliar de silício pode atenuar os danos causados pela restrição hídrica na planta e garantir o aumento da produtividade.

### **1.1. Objetivo Geral**

Avaliar a aplicação foliar de silício como atenuador do déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi por meio do mecanismo antioxidante e desempenho agrônômico.

### **1.2. Objetivos específicos**

- Avaliar o crescimento e a produção de genótipos de feijão-caupi Paulistinha, BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BR 17 Gurgueia e Costela de Vaca sob aplicação foliar de silício e condições de déficit hídrico;
- Mensurar o potencial hídrico foliar em genótipos de feijão-caupi;
- Quantificar a atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase) em folhas de genótipos de feijão-caupi;
- Determinar os níveis de proteínas solúveis totais, carboidratos solúveis totais e os níveis prolina livre em folhas de genótipos de feijão-caupi;
- Identificar o genótipo mais tolerante ao déficit hídrico.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Considerações gerais sobre o feijão-caupi

O feijão-caupi é uma cultura de origem africana, a qual foi introduzida no Brasil na segunda metade do século XVI pelos colonizadores portugueses no Estado da Bahia (FREIRE FILHO, 1988; FREIRE FILHO et al., 2011), sendo disseminado por todo país.

Quanto ao ciclo fenológico dessa cultura, Campos et al. (2000) o definiram em duas fases: fase vegetativa e fase reprodutiva. A fase vegetativa é dividida em: - V<sub>0</sub> – Semeadura; V<sub>1</sub> – Os cotilédones encontram-se emergidos na superfície do solo; V<sub>2</sub> – As folhas unifolioladas encontram-se completamente abertas, suas duas margens estão completamente separadas; V<sub>3</sub> – A primeira folha trifoliolada encontra-se com os folíolos separados e completamente abertos; V<sub>4</sub> – A segunda folha trifoliolada encontra-se com os folíolos separados e completamente abertos; V<sub>5</sub> – A terceira folha trifoliolada encontra-se com os folíolos separados e completamente abertos; V<sub>6</sub> – Os primórdios do ramo secundário surgem nas axilas das folhas unifolioladas, podendo também ser observados nas axilas das primeiras folhas trifolioladas; V<sub>7</sub> – A primeira folha do ramo secundário encontra-se completamente aberta; V<sub>8</sub> – A segunda folha do ramo secundário encontra-se completamente aberta; V<sub>9</sub> – A terceira folha do ramo secundário encontra-se completamente aberta.

A fase reprodutiva é classificada em: R<sub>1</sub> – Surgem os primórdios do primeiro botão floral no ramo principal; R<sub>2</sub> – Antese da primeira flor, geralmente oriunda do primeiro botão floral; R<sub>3</sub> – Início da maturidade da primeira vagem, geralmente oriunda da primeira flor. Esse estágio é caracterizado pelo início da mudança de coloração das vagens devido ao início da secagem das mesmas; R<sub>4</sub> – Maturidade de 50% das vagens da planta; e R<sub>5</sub> – Maturidade de 90% das vagens da planta.

### 2.2. Importância socioeconômica do feijão-caupi

Atualmente, o feijão-caupi alcançou produtores empresariais, com lavouras mecanizadas, grandes polos produtores e centros consumidores, surgindo assim novas demandas (FREIRE FILHO et al., 2011). No Brasil, sua produção corresponde aproximadamente a 15% do feijão total produzido cujo cultivo é concentrado nas regiões Norte e Nordeste (TEIXEIRA et al., 2010).

Para Freire Filho et al. (2011), sua produção ocorre principalmente na região semiárida, onde outras leguminosas não se desenvolvem em decorrência da irregularidade das chuvas e das altas temperaturas. Pelo fato de possuir grande adaptabilidade às condições variáveis de cultivo, o feijão-caupi é amplamente aceito pelos pequenos produtores da região Nordeste.

Devido à tradição de cultivo, comércio e consumo, essa cultura tem grande importância para o Norte e o Nordeste brasileiro, principalmente para os estados do Piauí, Ceará e Bahia. Nessas regiões a produção é feita por empresários e agricultores familiares. (ROCHA et al., 2009). Exerce função socioeconômica e nutricional, sobretudo sobre a população rural no suprimento das necessidades nutricionais, pois são superiores às do feijão comum. Além disso, fixa de mão-de-obra no campo e tem baixo custo de produção (TEÓFILO et al., 2008).

Por ser uma das leguminosas cultivadas mais adaptáveis e nutritivas, o feijão-caupi é também utilizado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal, adubo verde e proteção do solo (DUTRA e TEÓFILO, 2007). Além de representar alimento básico para as populações de baixa renda no Nordeste brasileiro, é a principal fonte de proteínas (RIVAS et al., 2016), possui todos os aminoácidos essenciais, carboidratos, vitaminas, minerais, fibras dietéticas e baixa quantidade de gordura (FROTA et al., 2008).

### **2.3. Déficit hídrico nos vegetais**

A água é essencial aos processos fisiológicos, bioquímicos, moleculares e morfológicos nas plantas (BHARGAVA e SAWANT, 2013; TAIZ e ZEIGER, 2013), sendo a restrição hídrica responsável por afetar negativamente seu crescimento e produtividade (MANSORI et al., 2015), a integridade da membrana, a relação hídrica e a atividade fotossintética (TAIZ e ZEIGER, 2013), além de reduzir seu potencial hídrico (FERNANDES- SILVA et al., 2016).

O estresse hídrico é o fator mais limitante da produtividade agrícola em todo o mundo (NXELE et al., 2017) e representa a principal ameaça à agricultura (DONOHUE et al., 2013), o que compromete o estabelecimento da maioria das plantas cultivadas, sendo o déficit hídrico

relacionado à baixa produtividade, associado à duração e intensidade do estresse, a capacidade de tolerância ao estresse e a fase fenológica da cultura (KABIRI et al., 2012).

O feijão-caupi é sensível tanto à deficiência hídrica quanto ao excesso de água no solo. Desta forma, seu rendimento é afetado pela disponibilidade hídrica no solo em diferentes proporções (YORDANOV et al., 2003), embora necessite de menos água e nutrientes que o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (COSTA et al., 2011).

## **2.4. Mecanismos de tolerância ao déficit hídrico**

Alterações morfofisiológicas e bioquímicas podem ocorrer na planta em consequência do déficit hídrico, diferindo de uma espécie para outra (CHAKRABORTY et al., 2015). Estas alterações incluem redução na área foliar, fechamento estomático, redução do potencial hídrico, inibição fotossintética, abscisão foliar, desestabilização de membranas e proteínas, acúmulo de EROs e crescimento do sistema radicular. Bioquimicamente, as plantas alteram o metabolismo de várias maneiras, incluindo a produção de compostos osmorreguladores, tais como prolina e glicina betaína (FURLAN et al., 2012; TAIZ e ZEIGER, 2013; GRACIANO et al., 2016).

Sob condições de estresse, ocorre nas plantas a produção de antioxidantes e o ajustamento osmótico celular através do acúmulo de solutos compatíveis no citosol (SHARMA et al., 2012), sendo este relacionado ao grau de tolerância vegetal (RHEIN et al. 2011). Por meio deste mecanismo, as plantas conseguem diminuir o potencial hídrico sem que haja redução da turgidez das células vegetais, permitindo a continuidade de processos fisiológicos essenciais para o seu crescimento e desenvolvimento (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Além disso, os estômatos atuam como reguladores, proporcionando redução na perda de água por transpiração, mediante o fechamento estomático, o que acarreta uma restrição de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese (OLIVEIRA et al., 2005).

Destacam-se, ainda, como mecanismos regulatórios dos vegetais em resposta ao estresse hídrico: a manutenção do turgor com o ajuste osmótico, o aumento da elasticidade celular e a diminuição no tamanho da célula, (MITRA, 2001). Além do aumento da atividade de enzimas antioxidantes na célula (GRATÃO et al., 2005).

### **2.4.1. Proteção antioxidante**

O oxigênio ( $O_2$ ) é necessário para o desempenho das funções celulares, como a respiração e a fotossíntese. No entanto, essa molécula leva à formação das espécies reativas de oxigênio (EROs), produzidas principalmente nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; BARBOSA et al., 2014). Essas organelas possuem alta atividade de oxidação metabólica (GIL e TUTEJA, 2010) que, sob condições de alta intensidade luminosa, radiação ionizante e déficit hídrico ocorre maior produção e acúmulo de EROs (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Dentre as consequências do excesso e acúmulo de Eros na célula estão, a oxidação de proteínas, a inibição enzimática, danos no DNA e RNA, funcionamento inadequado da fotossíntese, necrose das folhas, peroxidação da membrana lipídica e oxidação dos carboidratos, (SCANDALIOS, 2005; GUPTA et al., 2013).

Conforme Sharma et al.(2012) as espécies reativas de oxigênio (EROs) mais comuns são: oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH\bullet$ ) e ânion superóxido ( $O_2\bullet^-$ ). Entretanto, as plantas possuem sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos que neutralizam a citotoxicidade dessas espécies (BARBOSA et al., 2014), essenciais para a proteção das células. Entre as enzimas antioxidantes, destaca-se a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), a ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1) e a catalase (CAT, EC 1.11.1.6).

As Superóxidos dismutase (SOD) é uma das enzimas antioxidantes intracelulares mais eficazes e presente em todos os organismos aeróbicos, considerada a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis elevados das Eros (GILL e TUTEJA, 2010), pois catalisam a dismutação do ânion superóxido:  $2 O_2\bullet^- + 2H_2 \rightarrow O_2 + H_2O_2$  (TAIZ e ZEIGER, 2013), onde um  $O_2\bullet^-$  é reduzido a  $H_2O_2$  e outro oxidado a  $O_2$ , além de ser a única enzima capaz de eliminar a toxicidade causada pelo ânion superóxido, produzindo  $H_2O_2$ , que em seguida é eliminado pela catalase ou ascorbato peroxidase (GECHEV et al., 2006).

As SODs são classificadas de acordo com seus cofatores metálico em: cobre/zinco (Cu/ZnSOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD), localizadas no, citoplasma, na mitocôndria e no estroma do cloroplasto, respectivamente (TAIZ e ZEIGER, 2013; BARBOSA et al., 2014).

A catalase (CAT) é uma proteína heme que catalisa a detoxificação de  $H_2O_2$  gerado durante a fotorrespiração, a  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos das células, e catabolismo de purinas (GILL e TUTEJA, 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013; BARBOSA et al., 2014), convertendo o peróxido de hidrogênio a  $H_2O$  e  $O_2$  sem a necessidade de um agente redutor para a remoção do

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (SHARMA et al., 2012), o que pode favorecer maior eficiência em sua remoção, tendo sua atividade efetiva em concentrações altas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (mM) e estresse severo (DUBEY, 2011).

A ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima reguladora do grupo das peroxidases, com distintas formas isoenzimáticas, que age em diferentes compartimentos celulares (CAVERZAN et al., 2012) como cloroplastos, citosol, mitocôndrias, peroxissomos e parede celular (DABROWSKA et al., 2007), exigindo o ácido ascórbico como redutor (BARBOSA et al., 2014). Por possuir alta afinidade com o peróxido de hidrogênio, permite a eliminação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em baixas concentrações (SHARMA et al., 2012).

Além de atuar na remoção do peróxido de hidrogênio, as peroxidases estão envolvidas na defesa contra patógenos, metabolismo da auxina, lignificação, suberização, formação de componentes da parede celular, catabolismo de auxinas, senescência, proteção contra ataque de patógenos, insetos e estresses abióticos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; WAR et al., 2012).

#### **2.4.2. Prolina livre**

Sob influência de estresses ambientais, ocorrem alterações bioquímicas e fisiológicas nas plantas, destacando-se o ajustamento osmótico, que constitui um mecanismo fisiológico mais eficaz para a manutenção da turgescência celular e promove acúmulo de moléculas orgânicas de baixo peso molecular, denominados osmólitos compatíveis (ASHRAF et al., 2011; MARIJUAN e BOSCH, 2013;). Dentre esses compostos, encontra-se a prolina, que é um aminoácido essencial, pois tem função osmoprotetora, auxiliando na manutenção da integridade celular das membranas contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (ASHRAF et al., 2011).

O acúmulo de prolina no tecido foliar (ALVARENGA et al., 2011), por exemplo, contribui para a preservação da integridade das proteínas e enzimas, pois aumenta a pressão osmótica no interior das células, mantém a absorção de água, o que confere continuidade dos processos fisiológicos (MARIJUAN e BOSCH, 2013). Dentre os estudos realizados sobre o acúmulo de prolina, Santos et al.(2010) reportam que o acúmulo de prolina pode ser considerado um osmorregulador bioquímico de estresse hídrico para genótipos de feijão-caupi de ciclo intermediário.

Ashraf e Foolad (2007) afirmaram que o acúmulo desse aminoácido em diversas espécies de plantas em resposta a estresses ambientais, como a radiação ultravioleta, o déficit hídrico e a salinidade está relacionado à tolerância ao estresse, pois sua concentração, em geral é maior nas plantas tolerantes que nas sensíveis.

## 2.5. Silício como atenuador estresse em plantas

O Silício (Si) é o segundo elemento mais abundante no solo (EPSTEIN e BLOOM, 2006). Devido a sua afinidade com o oxigênio é encontrado na natureza na forma de sílica ( $\text{SiO}_2$ ) ou silicatos, que são ligados quimicamente a diversos metais (SAVVAS e NTATSI, 2015), e promove maior eficiência na absorção de água e conseqüentemente na tolerância às condições de estresse hídrico e/ou salino, garantindo assim a integridade e a estabilidade da membrana celular (SONOBE et al., 2011; RAHIMI et al., 2012).

Em vários países, o Si, tem sido utilizado na forma de fertilizante. No Japão e nos Estados Unidos, por exemplo, o Si é incorporado no cultivo do arroz há seis décadas, e na adubação das culturas de arroz e cana-de-açúcar, respectivamente (RODRIGUES et al., 2011). No Brasil, esse elemento foi incluído na Legislação para a Produção e Comercialização de Fertilizantes e Corretivos como micronutriente benéfico para as plantas, a partir do decreto lei número 4.954, que regulamenta a lei 6.894 de 16/01/1980, aprovada em 14 de janeiro de 2004 (BRASIL, 2004).

De acordo com Rodrigues et al. (2011), plantas que crescem em ambiente rico em silício, diferem daquelas presentes em condições de deficiência, principalmente quanto à tolerância a fatores bióticos e abióticos. Além disso, esse nutriente potencializa a síntese de enzimas antioxidantes relacionadas ao mecanismo de defesa das plantas contra as EROs (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

Pesquisas têm evidenciado que diferentes concentrações de silício potencializam a atividade de enzimas antioxidantes como a catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase (KHOSHGOFTARMANESH et al., 2014; IMTIAZ et al., 2016), além de promover ajustamento osmótico (PILON et al., 2014). Para Heckman (2013), esse nutriente torna as células epidérmicas das folhas mais eretas, o que induz maior absorção de  $\text{CO}_2$ , em decorrência disso, há um aumento na eficiência fotossintética e no teor de clorofila. Provavelmente isto ocorre pelo acúmulo de Si na superfície foliar, servindo como barreira física e tendo um importante papel na regulação osmótica, diminuindo assim o estresse causado pelo déficit hídrico. (CANTUÁRIO et al., 2014).

O Si é fornecido via solo, por meio do uso de escórias siderúrgicas na forma de silicatos de cálcio e magnésio, além de está presente como ácido monossilícico ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ), a forma solúvel presente na solução do solo e pela qual a planta absorve o silício (SOUSA et al., 2010; LIMA et al., 2011). Na planta, sua absorção ocorre via raiz, na forma de ácido silícico, e é transportado para a parte aérea através dos vasos do xilema (BYBORDI, 2012).

Contudo, a aplicação exógena de Si por meio da pulverização foliar nas plantas pode ser uma alternativa viável, que pode proporcionar efeitos benéficos (REIS et al., 2008; SOUSA et al., 2010). Embora o Si não seja considerado elemento essencial às plantas, alguns autores tem relatado seus benefícios a diversas culturas, principalmente quando condicionadas a estresses bióticos, abióticos e por toxicidade (GUNTZER et al., 2012; PILON et al., 2014; THILAGAM, 2014; ZANETTI et al., 2016;).

Sendo assim, diversos estudos foram realizados para compreender os efeitos benéficos do Si, a saber: maior produtividade de grãos das culturas da soja, feijão e amendoim (CRUSCIOL et al., 2013); redução da antracnose em resposta à suplementação com silício em sorgo (SANTOS et al., 2014); redução dos efeitos nocivos dos sais em plantas de mamona (FERRAZ et al., 2015), redução na concentração de sais em plantas de *Aloe* (XU et al., 2015) e resistência ao estresse contra metais pesados (IMTIAZ et al., 2016).

O feijão-caupi é uma cultura de importância socioeconômica e nutritiva. No entanto, é suscetível a redução da produtividade devido a estresses abióticos, como o déficit hídrico. As pesquisas que correlacionam às modificações bioquímicas, fisiológicas e as variáveis de crescimento e produção de plantas desse feijoeiro, quando condicionados ao déficit hídrico e aplicação foliar de silício são escassas para essa cultura e/ou praticamente inexistentes. Sendo assim, o uso de Si constitui uma alternativa para atenuar os efeitos negativos da restrição hídrica.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local da pesquisa

O experimento foi conduzido em vasos, na área Experimental da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) /Horto, e as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal de Plantas Cultivadas (ECOLAB) da UEPB, localizado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias (Campus I), ambos situados em Campina Grande-PB, Brasil (07° 13' 50" de latitude, 35° 52' 52" de longitude e 551 m de altitude).

#### 3.2. Fatores em estudo

O experimento foi conduzido com: cinco genótipos (GEN), duas condições hídricas (DH) e três concentrações de silício (Si), combinados em um esquema fatorial 5x2x3. Os genótipos utilizados foram: BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BR 17 Gurgueia, Paulistinha e Costela de Vaca (Figura 1) cujas características estão descritas na Tabela 1. Quanto às lâminas de irrigação, os tratamentos corresponderam a: plantas submetidas à restrição hídrica ( $E_1$ -capacidade de retenção de 50%) e plantas sem déficit hídrico ( $E_0$ -capacidade de retenção de 100%). E, finalmente, as concentrações de silício (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup> de Si), na forma de silicato de potássio (SiO<sub>2</sub>) a 26 %, aplicados nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub> do ciclo vegetativo da cultura. A aplicação foliar foi realizada com pulverizador costal com capacidade de 20 litros até o ponto de escorrimento.

A combinação desses três fatores resultou em 30 tratamentos, arranjados no delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições e parcela experimental composta por um vaso, cada qual com seis plantas. Os desbastes foram realizados à medida que as avaliações de crescimento, fisiológicas e bioquímicas foram determinadas.



**Figura 1.** Genótipos de feijão-caupi utilizados no experimento: BRS Rouxinol (A), BR 17 Gurgueia (B), BRS Marataoã (C), Paulistinha (D) e Costela de Vaca (E). Campina Grande, PB, 2017.

**Tabela1.** Principais características dos genótipos utilizados no experimento. Campina Grande, PB, 2017.

Genótipos	Porte	Características			
		Crescimento	Ciclo	NDF	M100S(g)
BRS Rouxinol	Semiereto	Indeterminado	65-75	46*	19,50*
BR 17 Gurgueia	Enramador	Indeterminado	75	52	13,19*
BRS Marataoã	Semiprostado	Indeterminado	70-75	42	21,76*
Paulistinha	Ereto *	Indeterminado	90*	55*	20,04*
Costela de Vaca	Enramador	Indeterminado	75*	40*	20,28*

OBS: NDF- número médio de dias para a floração; ciclo- dias; M100S- massa de 100 sementes; \*características observadas no presente estudo.

### 3.3. Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido em vasos com capacidade de 25 litros, sob condições de campo, no período de junho a setembro de 2016, sendo distribuídos em 10 linhas, cada linha com 15 vasos, totalizando 150 parcelas experimentais. Foi utilizado um espaçamento de 1 m entre linhas e 0,8 m entre vasos (Figura 2).



**Figura 2.** Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo dos vasos em blocos casualizados. Campina Grande, PB, 2017.

Antes da semeadura, foi realizada uma triagem das sementes dos genótipos de feijão-com o objetivo de eliminar aquelas que continham danos físicos, biológicos e/ou má formação. Após a triagem, as sementes foram pesadas e tratadas com fungicida na dosagem de  $0,11\text{g } 100\text{g}^{-1}$  de sementes, as quais permaneceram incubadas por 24 horas.

O solo utilizado no experimento foi analisado e as características físico-químicas estão dispostas na Tabela 2. Posteriormente realizou-se adubação de fundação, com aplicação de fosfato monoamônico (MAP), aplicando-se  $20\text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}$ .

**Tabela 2.** Características físico-químicas do solo utilizado para o preenchimento dos vasos. Campina Grande, PB, 2017.

Características físicas		Características químicas	
<b>Granulometria (%)</b>		Cálcio (meq/100g de solo)	1,22
Areia	84,88	Magnésio (meq/100g de solo)	2,33
Silte	9,05	Sódio (meq/100g de solo)	0,09
Argila	6,07	Potássio (meq/100g de solo)	0,06
Classificação textural	Areia franca	S (meq/100g de solo)	3,70
Densidade do solo ( $\text{g/cm}^3$ )	1,21	Hidrogênio (meq/100g de solo)	0,99
Densidade de partículas	2,76	Alumínio (meq/100g de solo)	0,20
Porosidade (%)	49,75	T(meq/100g de solo)	4,89
Umidade (%)	0,53	Carbonato de Cálcio Qualitativo	Ausência
		Carbono orgânico (%)	0,54
		Matéria orgânica (%)	0,93
		Nitrogênio	0,05
		Fósforo Assimilável mg/100g	9,17
		pH $\text{H}_2\text{O}$ (1:2, 5)	5,56
		Cond.elétrica-nmhos/cm (Suspensão Solo-Água)	0,12

Fonte: Laboratório de Irrigação e Salinidade da UFCG.

A irrigação foi efetuada manualmente (Tabela 3), no intervalo das 07 às 08 h da manhã, sendo o volume mensurado por meio de oito tensiômetros instalados na área experimental (Figura 3) em duas profundidades diferentes (20 e 15 cm), dos oito, quatro eram para registrar o potencial de água no solo das plantas submetidas ao déficit hídrico e quatro para registrar o potencial das plantas sob regime de 100% de disponibilidade hídrica. Nas lâminas de irrigação manejada próximo á máxima capacidade de retenção capacidade de campo, as leituras nos tensiômetros variam entre 10 e 15 kPa, nas plantas em situação de déficit hídrico as mesmas

variam entre 70 e 90 kPa. A diferenciação das lâminas de irrigação foram realizadas após o início da aplicação do silício.

**Tabela 3.** Características da água utilizada para irrigação. Campina Grande, PB, 2017.

Ph	7,55
Condutividade Elétrica ( $\mu\text{S. Cm}^{-1}$ )	1, 480
Cálcio ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	0,87
Magnésio ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	5,14
Sódio ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	8,27
Potássio ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	0,19
Carbonatos ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	0,00
Bicarbonatos ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	1,78
Cloretos ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	12,47
Sulfatos ( $\text{meq}^{\text{L}^{-1}}$ )	Presença
Relação de Adsorção de Sódio (RAS)	4,78
Classe de Água	C3

Fonte: Laboratório de Irrigação e Salinidade da UFCG.

O cálculo da lâmina de irrigação foi realizado com base na equação gerada pela curva de retenção de água no solo ( $Y=2, 3537+20, 5585/X^{0,5}$ ;  $R^2 =0, 9958$ ) e a leitura dos tensiômetros instalados. Considerou-se ainda, a densidade do solo ( $1,21 \text{ g/cm}^3$ ) e o diâmetro do vaso (0, 0961), em que  $X^{0,5}$  é a média dos tensiômetros em kPa, 
$$Li = \frac{(8,72 - \text{valordex}) * 1,21 * 20 * 0,0961 * 1000}{10}$$

Para todas as análises realizadas, considerou-se que a lâmina de irrigação referente ao déficit hídrico ( $E_1$ ), foi 50% do valor referente à lâmina de irrigação sem restrição hídrica ( $E_0$ ).

As sementes foram semeadas manualmente, distribuídas seis sementes por vaso. Aos 21 dias e 32 dias após a semeadura aplicou-se o adubo foliar com nutrientes necessários para a cultura, e aos 30 dias após o semeio realizou-se nova aplicação de MAP em cobertura. De acordo com as recomendações do fabricante, realizou-se a aplicação de inseticida (Mospilan) aos 17 dias e 33 dias após a semeadura, e fungicida (Folicur) aos 25 dias após a semeadura para manter a cultura livre de invasores, pragas e fungos.



**Figura 3.** Tensiômetros instalados na área experimental. Campina Grande, PB, 2017.

### 3.4. Variáveis analisadas

As avaliações foram realizadas em três estádios (E) após a semeadura, conforme mostra a Tabela 4.

**Tabela 4.** Nomenclatura utilizada para expor as os dias das avaliações durante o experimento. Campina Grande, PB, 2017.

Nomenclatura (CAMPOS, et al., 2000)	Dias após a semeadura (DAS)
V <sub>5</sub>	33 DAS
V <sub>9</sub>	52 DAS
R <sub>5</sub>	77 DAS

#### 3.4.1. Variáveis de crescimento

Nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>, avaliou-se a área foliar total (AFT), massa fresca total da parte aérea (MFT), massa seca total da parte aérea (MST). A área foliar total (cm<sup>2</sup>) de cada planta foi estimada, utilizando um medidor de área foliar modelo Li-cor 3100(Li-Cor Corporation, USA).

Além disso, as massas seca (g) e fresca (g) da parte aérea das plantas de cada tratamento foram determinadas. Quanto à massa seca, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e

colocadas em estufa com circulação de ar a 80 °C por um período de 48 horas para secagem. Posteriormente, o material vegetal foi quantificado em balança analítica.

### 3.4.2. Variáveis fisiológicas

O potencial hídrico foliar do pecíolo ( $\Psi_w$ ) da cultura foi determinado no estágio V<sub>5</sub>, utilizando-se uma câmara de pressão tipo Scholander (Scholander et al. 1965), modelo 3035 da “Soil Moisture Equipment Corp”, Santa Bárbara, Califórnia (EUA). As leituras foram realizadas entre 4 e 8 h da manhã. Para isto, utilizou-se a primeira folha trifoliar completamente expandida.

Para a análise do conteúdo relativo de água da parte aérea (CRA %), nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>, folhas foram coletadas. Foram cortados três discos foliares de cada planta com um perfurador de cobre, depois pesadas em balança analítica para verificar a massa fresca do disco (MFD). Em seguida, os discos foram imersos em água destilada por 24 horas, para pesagem da massa túrgida do disco (MTD). Posteriormente, esse material foi levado à estufa com circulação de ar a 80°C por período de 24 horas para aferição da massa seca do disco (MSD). A partir destes dados, o CRA (%) foi calculado por meio da equação:  $CRA (\%) = \frac{MF-MS}{MT-MS} * 100$  (SMART e BINGHAM, 1974).

### 3.4.3. Extravasamento de eletrólitos

Para estimar o extravasamento de eletrólitos (VEL), mensurados nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>, utilizou-se um perfurador de cobre a fim de se obter, por unidade experimental, três discos foliares de área 113mm<sup>2</sup> cada, os quais foram lavados e acondicionados em tubos de ensaio contendo 10 mL de água deionizada. Após fechados, os mesmos permaneceram em repouso durante 24 horas, em seguida, foi aferida a condutividade inicial do meio (Xi) usando condutivímetro de bancada (MB11, MS Techonopon®). Posteriormente os tubos foram submetidos à temperatura de 100°C, por 60 minutos, em banho-maria, e após resfriamento do conteúdo dos mesmos, aferiu-se a condutividade final (Xf). O extravasamento de eletrólitos foi expresso como a porcentagem de condutividade em relação à condutividade total:  $[(\frac{X_i}{X_f}) * 100]$  (SCOTTI CAMPOS e THU PHAM THI, 1997).

#### 3.4.4. Variáveis bioquímicas

As determinações bioquímicas foram mensuradas nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>. Para a obtenção do extrato vegetal, foram pesados e macerados, para a extração enzimática, e de proteína solúveis totais (BRADFORD, 1976), 200mg de tecido foliar fresco (o folíolo central da primeira trifoliar de cada tratamento), separadamente, em 2 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 7) acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM, EDTA0, 1 mM e polivinilpirrolidona a 5%). Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 14 000 rpm, 4°C, durante 20 minutos. O sobrenadante foi transferido para microtubos, os quais foram mantidos em refrigerador até o momento das análises.

A atividade da 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 (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971). Aliquotas de 40 µL foram adicionados em tubos de ensaio, protegidos da luz, contendo o meio de reação (1,5 mL) composto por tampão fosfato de potássio (100 mM, pH7, 8) acrescido de EDTA (0,1 mM, metionina 13 mM, e NBT 75 µM).

Em seguida, iniciou-se a reação pela adição de riboflavina (concentração final 7 µM) e a transferência dos tubos para a caixa de reação vedada, com iluminação interna (35 w) e temperatura ambiente, onde permaneceram durante 15 minutos. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro regulado em 560 nm. Os tubos com extrato mantidos no escuro (os quais representam 0% da redução de NBT- branco do escuro) foram considerados como branco da reação e os tubos sem o extrato mantidos sob iluminação (os quais representam 100% da redução do NBT- branco do claro). Deve-se ressaltar que uma unidade de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT em comparação com o branco do claro, sendo a atividade expressa em U min<sup>-1</sup>mg de proteína<sup>-1</sup>.

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada conforme Sudhakar et al. (2001), a qual é definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pela enzima presente no extrato. Iniciou-se a reação pela adição do extrato enzimático (50 µL) a cubeta de quartzo, contendo o meio de reação (2,95 mL) composto por tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7, acrescido de peróxido de hidrogênio 20 mM). Após uma leve agitação, a solução foi levada a espectrofotômetro, regulado em 240 nm, onde foi observado o decréscimo da absorbância, durante o período de 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10segundos. Os cálculos foram mensurados pela lei de Lambert Beer, conforme a equação a baixo:

$$\text{Equação 1: } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Em que: A = decréscimo da absorbância (média da triplicata);

$\epsilon$  = coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio ( $39,4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );

b = caminho óptico;

c = concentração da enzima expressa em  $\text{mol L}^{-1}$ .

A atividade da catalase foi expressa em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$ .

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi calculada com base no consumo do ascorbato (NAKANO e ASADA, 1981) por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância 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) 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 e monitorado o decréscimo da absorbância durante 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10 segundos.

Já os cálculos foram realizados pela equação de Lambert Beer (Equação 1), tendo como coeficiente de extinção molar o do ascorbato ( $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). A atividade final de APX foi expressa em  $\text{nmol de ascorbato min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$ . Ressalta-se, que todas as determinações bioquímicas foram realizadas em triplicata.

### 3.4.5. Quantificação de prolina livre

A quantificação de prolina livre foi determinada pelo método colorimétrico proposto por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011). Foram pesados e macerados 0,25 g de tecido foliar fresco (estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>), em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL) e centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi retirado e utilizado nas determinações.

Tubos de ensaio rosqueáveis contendo a mistura extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1: 1 (volume total 3 mL) permaneceram durante uma hora em banho-maria a 100 °C, para o desenvolvimento da cor por meio do aquecimento. Em seguida, os mesmos foram resfriados em banho de gelo, sendo posteriormente adicionado 2 mL de tolueno, os quais foram agitados em agitador de tubos tipo Vortex por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos, para que ocorresse a separação das fases.

As leituras do sobrenadante foram realizadas em espectrofotômetro a 520 nm, utilizando o tolueno puro como branco. A concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L- prolina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50  $\text{mg L}^{-1}$ ) e expressa em  $\mu\text{mol g de matéria fresca}^{-1}$ . A média da absorbância obtida nas triplicatas foi utilizada para o cálculo de prolina.

### **3.4.6. Determinação de proteínas solúveis totais**

A quantificação de proteínas solúveis totais foi realizada pelo método proposto por Bradford (1976), nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>. Alíquotas de 100 µL de extrato foram adicionadas em 2,5 ml de Bradford, e a solução foi homogeneizada e mantida em repouso durante 15 minutos. A leitura de absorbância a 595 nm. A concentração de proteínas solúveis foi mensurada com base na curva padrão de L-albumina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 µg/100 µL).

### **3.4.7. Determinação de carboidratos solúveis totais**

Os extratos foram obtidos, nos estádios V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>, a partir da maceração do tecido foliar seco (0,02 g) em 5 ml de etanol a 80 %. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4.500 rpm, por 10 minutos.

Para quantificar a concentração de carboidratos solúveis totais (CAR) utilizou-se o procedimento proposto por Yemm e Willis (1954) com modificações. Adicionou-se 50 µL do extrato foliar em 2,95 ml de solução antrona e ácido sulfúrico em tubos de ensaio, os quais foram levemente homogeneizados e fechados hermeticamente. Em seguida, os mesmos foram transferidos para banho-maria a 100 °C por 10 minutos, a fim de desenvolver a cor azul-esverdeada. Transcorrido este tempo, os tubos foram submetidos à banho de gelo durante cinco minutos. Após resfriados, realizou-se a leitura em 620 nm em cubeta de quartzo. Mensurou-se a concentração de carboidratos solúveis totais com base na curva padrão de glucose (0, 25, 100 e 200 mg L<sup>-1</sup>).

### **3.4.8. Variáveis de produção**

No final do ciclo da cultura, estágio R<sub>5</sub>, determinou-se o número de vagens por planta, a massa de grãos por planta (g), a massa de vagens com e sem semente (g) e a massa de 100 sementes por tratamento (M100/g).

### **3.4.9. Análises estatísticas**

Os dados originais foram submetidos à análise de variância univariada (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey) a 5% de probabilidade (BARBOSA e MALDONADO JÚNIOR, 2015). Posteriormente, os dados foram padronizados, de modo a tornar a média nula e

variância unitária. A estrutura multivariada dos resultados foi avaliada por meio da Análise exploratória de Componentes Principais (ACP), condensando-se a quantidade de informação relevante contida no conjunto de dados originais em um menor número de dimensões, resultantes de combinações lineares das variáveis originais geradas a partir dos autovalores maiores que a unidade ( $\lambda > 1$ ) na matriz de covariância (KAISER, 1960; HAIR et al., 2009).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Variáveis de crescimento

Avaliou-se a influência do Si sobre as variáveis: a área foliar total (AFO em  $\text{cm}^2$ ), massa fresca total da parte aérea (MFT em g) e massa seca total da parte aérea (MST em g).

Quanto à AFO, no estágio  $V_5$  (Figura 4A), houve redução dessa variável no genótipo BRS Marataoã sob restrição hídrica e ausência de Si. Este efeito foi revertido pela aplicação de Si, que proporcionou um aumento de 22,57% de AFO, tratado com  $70 \text{ mg L}^{-1}$  de Si em relação ao tratamento sem Si.

Registra-se maior AFO nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e Costela de Vaca sob 100% de disponibilidade hídrica e presença de Si, o que indica que esse elemento promoveu efeito benéfico para expansão e manutenção da área foliar nestes genótipos, e em consequência disso, aumentou a capacidade de ganho da taxa fotossintética, por meio de maior captação de energia luminosa.

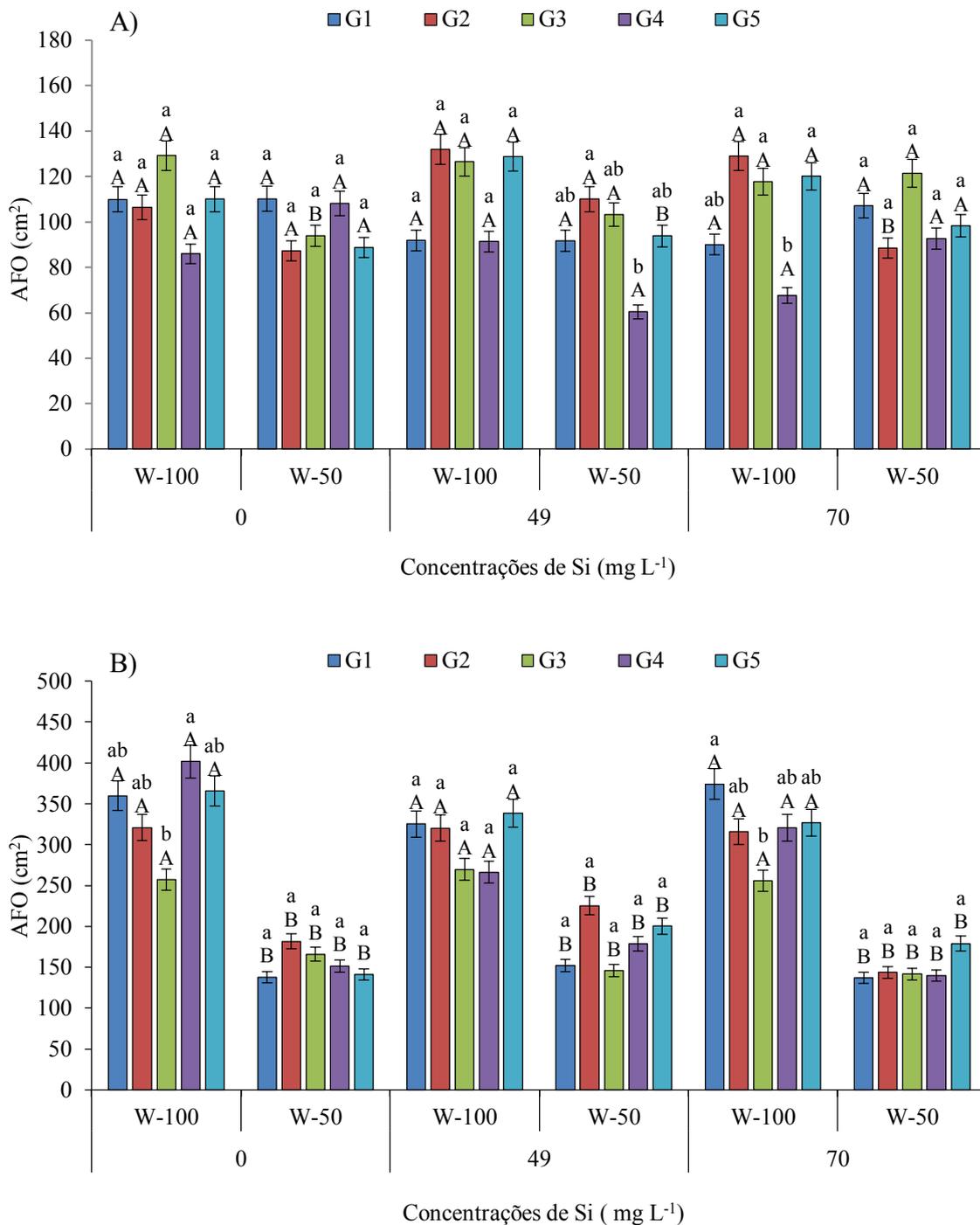
Analisando as concentrações de Si entre os genótipos, sob restrição hídrica, verifica-se aumento de 9,5% de AFO no genótipo Costela de Vaca tratado com  $49 \text{ mg L}^{-1}$  de Si em relação ao tratamento sem Si. Por outro lado, é observado aumento de 20% de AFO em BRS Rouxinol tratado com  $49 \text{ mg L}^{-1}$  de Si sob 100% de disponibilidade hídrica.

Após 32 dias de restrição hídrica, no estágio  $V_9$  (Figura 4B), é verificado que, em especial, os genótipos Costela de Vaca, BR 17 Gurgueia e BRS Marataoã tratados com  $70 \text{ mg L}^{-1}$  de Si expressaram aumento de 45,16%; 30% e 38,64%, sob restrição hídrica, em relação ao estágio  $V_5$ . Isso indica que esse elemento foi benéfico, uma vez que proporcionou à expansão foliar, mesmo sob restrição hídrica, atuando possivelmente como um atenuador de tolerância ao estresse devido às aplicações de Si, nas fases fenológicas  $V_5$  e  $V_9$ . Nessa mesma situação, o genótipo BRS Rouxinol teve aumento de 51,13% de AFO, tratado com  $49 \text{ mg L}^{-1}$  de Si.

Deve-se ressaltar que os genótipos BR 17 Gurgueia e Paulistinha (Figura 4B), condicionados a 100% de disponibilidade hídrica, expressaram melhores desempenhos na ausência da aplicação de Si e tratados com  $70 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Destaca-se que o genótipo BRS Rouxinol teve aumento de 19,27% de AFO tratado com  $49 \text{ mg L}^{-1}$  de Si em

relação ao tratamento sem Si. Acrescente-se que durante o experimento, não foi registrado, visualmente a herbivoria e/ou senescência foliar prematura. Soma-se a isto, folhas mais eretas, promovendo maior captação de energia luminosa.

É relatado que o déficit hídrico promove redução da área foliar em plântulas de girassol (NUNES JUNIOR et al., 2017) e na cultura do amendoim (ARRUDA et al., 2015). Contudo, ao estudar o efeito do Si no crescimento de soja, esse elemento químico propiciou ganho expressivo em área foliar desse vegetal (MOREIRA et al., 2010). Ressalte-se que a redução da área foliar em alguns vegetais, em condições de deficiência hídrica, é uma estratégia para evitar gastos de energia metabólica, embora essa depleção culmine em menor crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2013).



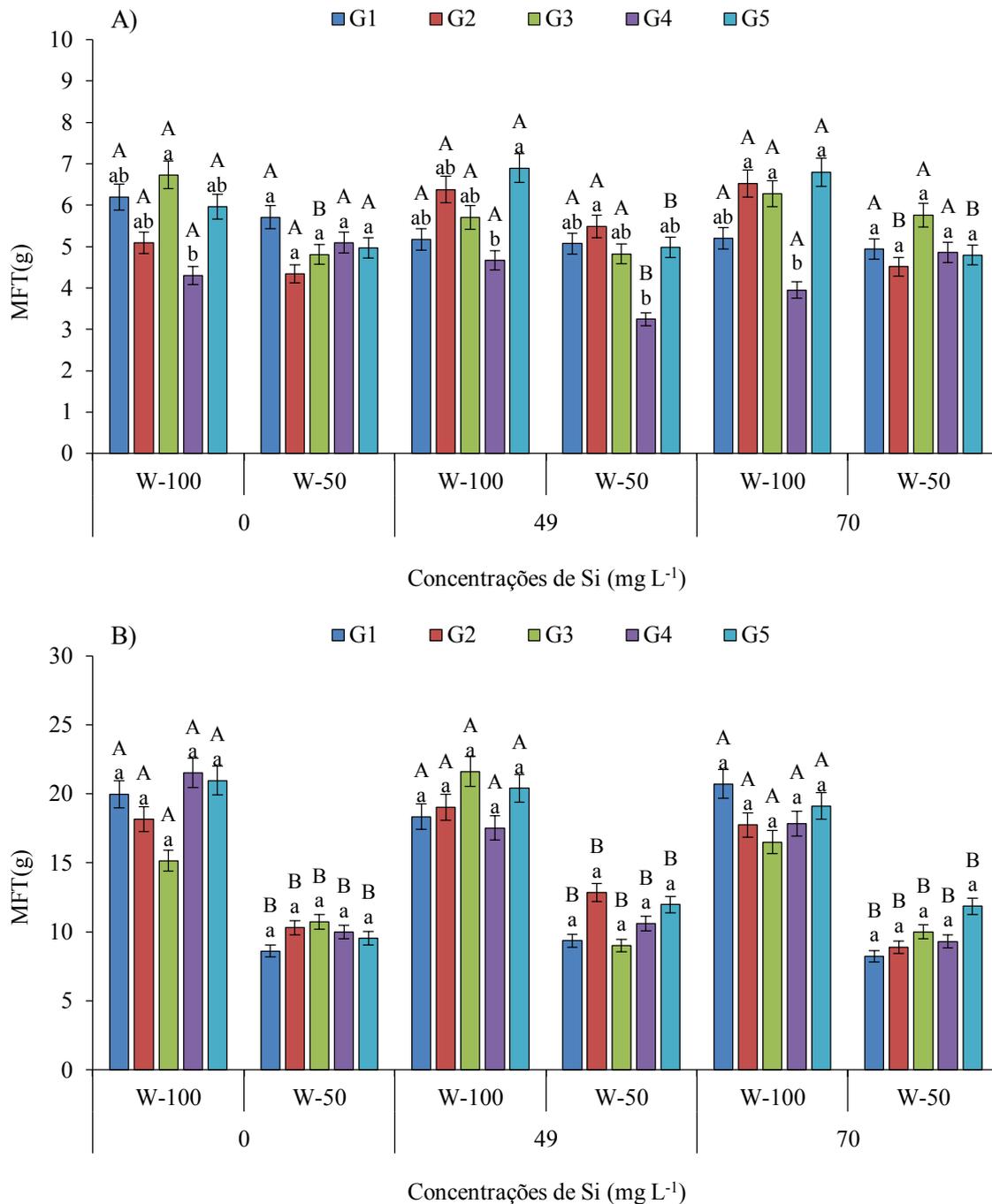
**Figura 4.** Área foliar total (AFO) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

Observou-se no estágio V<sub>5</sub>, que no ‘BRS Marataoã’, sob restrição hídrica e ausência de Si, houve redução na massa fresca total (MFT). Por outro lado, foi registrado aumento de 16,49%, quando submetido ao tratamento com 70 mg L<sup>-1</sup> de Si. Esse resultado sugere que o Si foi benéfico ao ganho de matéria fresca (Figura 5A).

Ao avaliar as concentrações de Si entre os genótipos, verificou-se aumento de 13,62% e 21,93% de MFT nos genótipos Costela de Vaca e BRS Rouxinol sob 100% de disponibilidade hídrica e tratados com 49 mg L<sup>-1</sup> e 70 mg L<sup>-1</sup> de Si, respectivamente, em relação à ausência de Si. Em contrapartida, os genótipos BRS Rouxinol e BRS Marataoã, sob restrição hídrica, expressaram aumento de 20,80% e 16,49% de MFT quando submetidos aos tratamentos com 49 mg L<sup>-1</sup> e 70 mg L<sup>-1</sup> de Si. Dessa forma, sugere-se que esse elemento potencializou maior ganho de MFT nestes genótipos sob as duas condições hídricas impostas (Figura 5A).

Ao comparar os estádios fenológicos de avaliação (V<sub>5</sub> e V<sub>9</sub>) verifica-se que o tratamento com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, no estágio V<sub>9</sub>, proporcionou aumento de 45,83%; 57,35%; 46,38%; 69,40% e 58,39% de MFT nos genótipos Paulistinha, BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS 17 Gurgueia e Costela de Vaca, em relação ao estágio V<sub>5</sub> (Figuras 5A e 5B). Esse aumento provavelmente ocorreu devido ao acúmulo desse nutriente nas folhas, o qual pôde ter atuado na manutenção dos processos metabólicos e *status* hídrico, em consequência de menor perda de água por transpiração foliar (PEREIRA et al., 2004; TAIZ et al., 2017).

Ao analisar as concentrações de Si entre os genótipos sob restrição hídrica e 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, observou-se aumento de 30,81% e 20,38% nos genótipos BRS Rouxinol e Costela de Vaca. Por outro lado, na situação de 49 mg L<sup>-1</sup> de Si e sem limitação hídrica no solo, o genótipo BRS Marataoã expressou um ganho de 12,18% de MFT (Figura 5B).



**Figura 5.** Massa fresca total da parte aérea (MFT) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

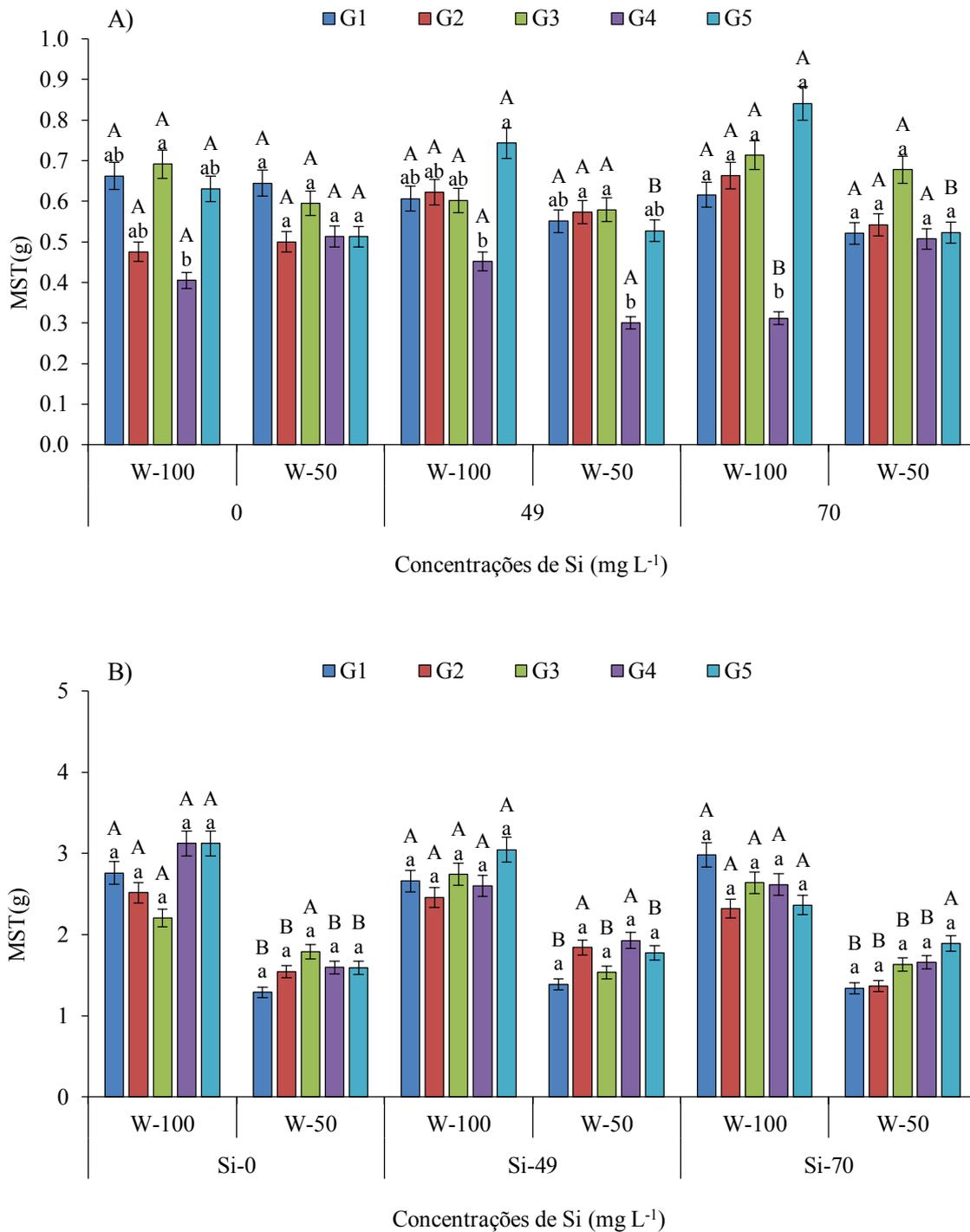
Ao comparar as duas condições hídricas, no estágio fenológico V<sub>5</sub> (Figura 6A), as aplicações de 49 mg L<sup>-1</sup> e 70 mg L<sup>-1</sup> de Si não promoveram aumento significativo na MST

no 'Costela de Vaca' cultivado sob 50% da lâmina de irrigação. Todavia, na mesma condição hídrica, registrou-se ganho de 38% de MST no 'BR 17 Gurgueia', quando recebeu 70 mg L<sup>-1</sup> de Si. Sugere-se que esse resultado pode estar associado ao melhor ajuste osmótico desse genótipo em resposta positiva ao Si.

Embora a limitação hídrica tenha propiciado depleção ao ganho de massa seca em relação a não restrição de água no solo, foi registrado, no estágio V<sub>9</sub> (Figura 6B) aumento de 69,02%; 84,37% e 70,62% de MST nos genótipos BRS Rouxinol, BR 17 Gurgueia e Costela de Vaca, respectivamente, quando foi aplicado 49 mg L<sup>-1</sup> de Si. Por sua vez, foram registrados ganhos de 26,08% e 17,18% nos genótipos BRS Rouxinol e BR 17 Gurgueia, condicionadas à restrição hídrica.

Nesse contexto, percebeu-se que o Si promoveu tolerância aos genótipos no estágio V<sub>9</sub>, cuja restrição hídrica foi maior. Moreira et al. (2010) e Teodoro et al. (2015) descrevem que o Si exerceu efeito positivo o rendimento de massa seca e de grãos em soja cultivada sob déficit hídrico. Para esses pesquisadores, respostas positivas à aplicação do Si podem ser atribuídas a maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, maior crescimento relativo da cultura.

Da mesma forma, ao avaliar o efeito do Si sobre plantas de girassol sob estresse salino, Conceição (2015) verificou aumento de 65% de MST, superior ao encontrado nas plantas sob tratamento sem Si. Para essa pesquisadora, a aplicação de Si inibiu o efeito deletério do estresse salino sobre esta variável, possivelmente pelo aumento na eficiência no uso da água, induzida por esse elemento. No entanto, ao trabalhar com feijão-caupi, cultivar BR 17 Gurgueia, sob estresse salino, Alves et al. (2014) constataram redução da massa seca nas raízes, na parte aérea e nos frutos, na dosagem aplicada de 50 mg L<sup>-1</sup> de Si.



**Figura 6.** Massa seca total da parte aérea (MST) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

## 4.2. Variáveis fisiológicas

A produtividade de culturas vegetais está relacionada à fotossíntese, as quais são influenciadas pelo potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), que em células vegetais têm valores menores que (TAIZ et al., 2017). Os autores citam que, em folhas de plantas herbáceas bem hidratadas, o  $\Psi_w$  varia de -0,2 a -1,0 MPa, porém, estes valores dependem das condições de crescimento e da espécie vegetal.

Neste sentido, ao analisar o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), no estágio V<sub>5</sub>(Figura 7), os genótipos Paulistinha, BRS Rouxinol e Costela de Vaca atingiram potenciais, respectivamente, de -0,58; -0,65; e -0,9 MPa sob restrição hídrica e ausência de Si. Na lâmina de irrigação de 100%, os mesmos genótipos apresentaram os potenciais de -0,3; -0,3 e -0,5 MPa. Taiz et al. (2017) ressaltaram que em plantas bem hidratadas o potencial hídrico foliar pode variar entre -0 e -0,5 MPa e entre -0,6 e -2,0 MPa as mesmas estão sob estresse moderado.

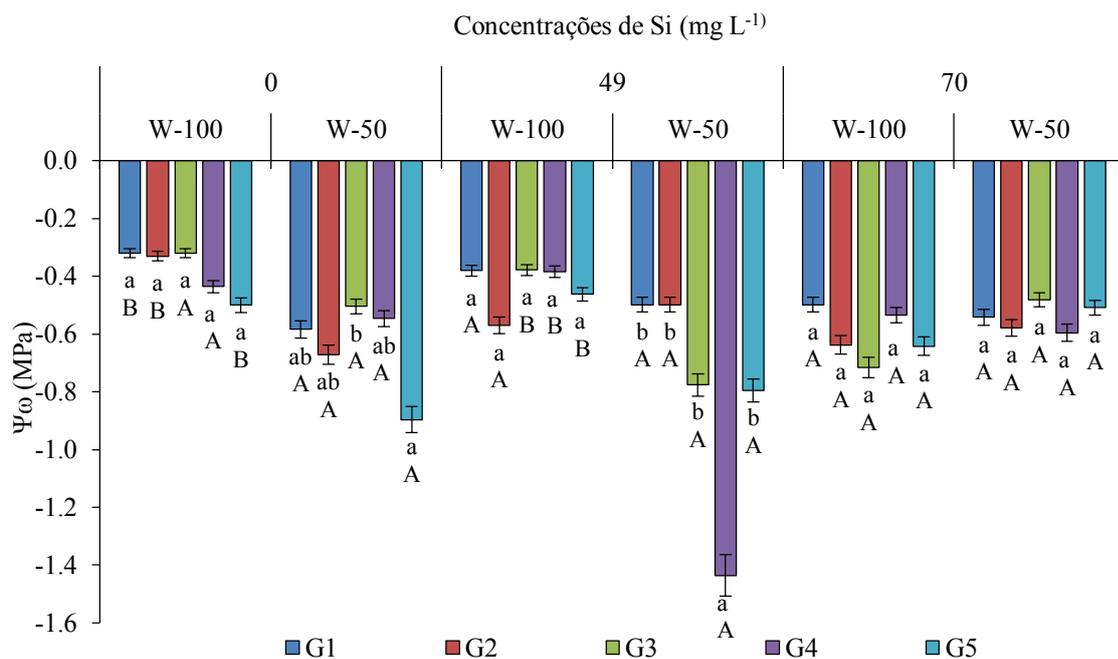
Na ocasião da leitura do potencial hídrico foliar, foram registrados, via tensiometria, os potenciais de água no solo ( $\Psi_s$ ) no sistema de cultivo com 50% da lâmina de irrigação foram de -0,09 MPa (leitura na profundidade de 20 cm) e -0,082 MPa (leitura na profundidade de 15 cm); por outro lado, no cultivo com 100% da lâmina de irrigação foram -0,042 MPa (leitura na profundidade de 20 cm) e -0,044 MPa (leitura na profundidade de 15 cm), denotando o *continuum* solo-planta.

Deve-se destacar que nas parcelas sob a lâmina de 50% e 70 mg L<sup>-1</sup> de Si, quando comparadas com ausência de Si, houve melhoria no ajuste do  $\Psi_w$  de 7,70% para o ‘Paulistinha’, 5,20% para o ‘BRS Rouxinol’, 43,57% para o ‘Costela de Vaca’ e de 32,77% para o ‘BRS Marataoã’. Percebeu-se que os genótipos Costela de Vaca e BRS Marataoã foram muito responsivas à aplicação da maior dose de Si, com melhoria substancial no *status* hídrico; por sua vez, no ‘BR 17 Gurgueia’ verificou-se maior variabilidade quanto às oscilações hídricas do solo, a qual chegou ao potencial hídrico foliar máximo de -1,4 MPa sob restrição hídrica no solo e 49 mg L<sup>-1</sup> de Si. No entanto, apresentou melhoria substancial em seu  $\Psi_w$ , o qual atingiu um valor de -0,57 MPa quando submetido a 70 mg L<sup>-1</sup> de Si e restrição hídrica em relação à ausência de Si (Figura 7).

Neste contexto, o Si mitigou o efeito deletério da restrição hídrica, pois os ajustes do  $\Psi_w$  foliar registrados nessa pesquisa podem inferir na melhoria do mecanismo de abertura dos estômatos, o que sugere maior eficiência fotossintética e produção de fotossimilados, caracterizada pelo ganho, em geral, em rendimento de massa seca total pelos genótipos pesquisados.

Nascimento et al.(2011), avaliando o  $\Psi_w$  foliar em genótipos de feijão-caupi sob déficit hídrico, registraram valores de -2,05 e -1,22 MPa, para os genótipos Tracueteua-192 e BRS Paraguaçu, respectivamente e concluíram que a redução do  $\Psi_w$  nesses genótipos ocasionou a perda da turgescência e maior fechamento estomático. Acrescente-se que quanto menor a disponibilidade hídrica no solo mais negativo será o  $\Psi_w$  foliar, o que estimula a planta a reduzir a condutância estomática e, em consequência disso, menor taxa fotossintética (TAIZ et al., 2017).

Freitas et al. (2017), ao analisar o  $\Psi_w$  foliar da cultivar BRS Guariba de feijão-caupi, sob estresse hídrico e reidratação em plantio direto e convencional, observaram que não houve diferenças entre os sistemas de plantio e registraram valores de -1,6 MPa no meio dia e -0,3 MPa no pré-amanhecer. Para esses pesquisadores, os resultados indicam que o feijão-caupi tem um eficiente controle estomático.



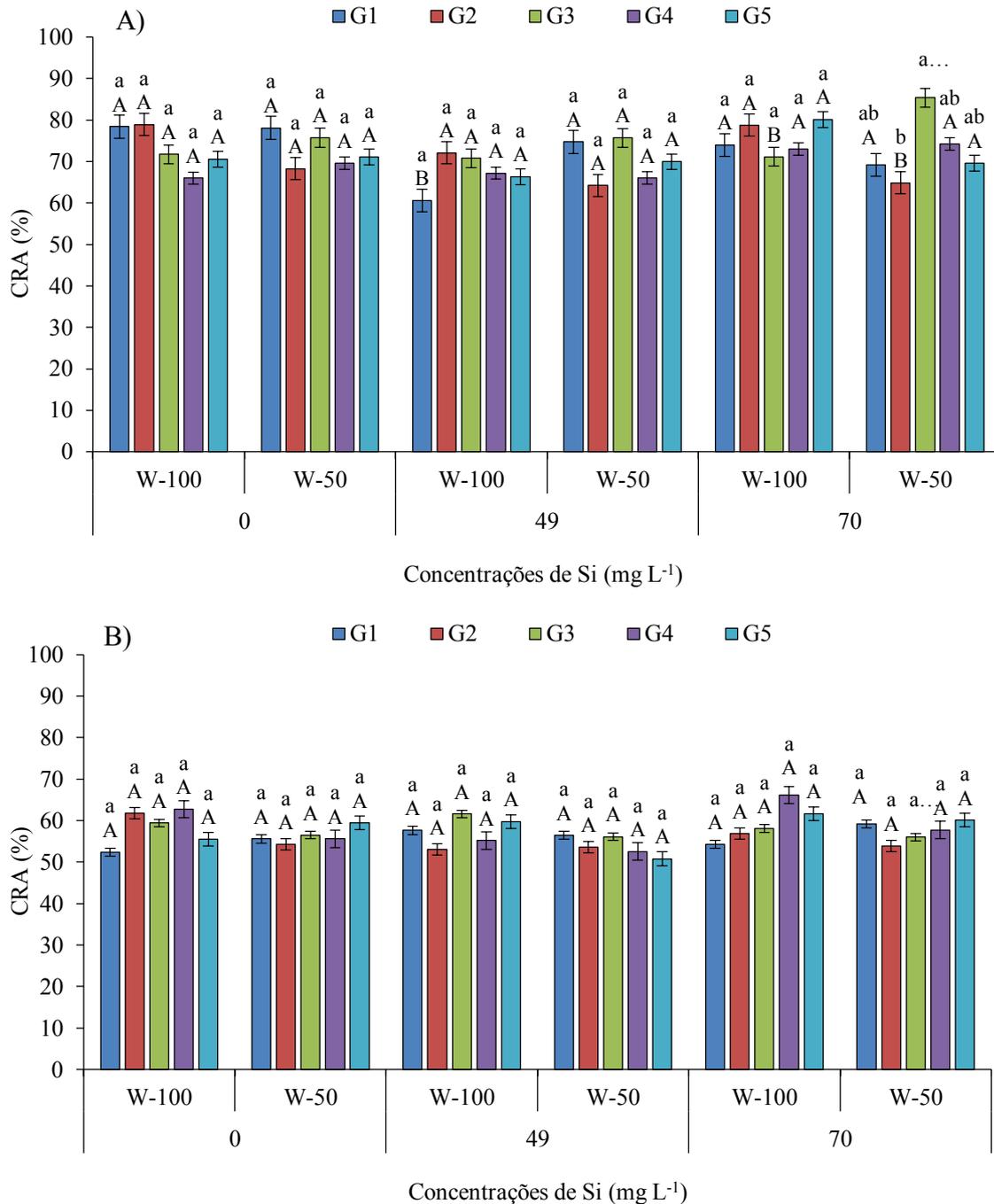
**Figura 7.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio V<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

Ao analisar o conteúdo relativo de água (CRA) em folhas, no estágio V<sub>5</sub> (Figura 8A) observou-se em condições de restrição hídrica, cujo potencial de água no solo ( $\Psi_s$ ) chegou a -0,086 MPa, em Paulistinha aumento de 23,33% quando foi aplicado 49 mg L<sup>-1</sup> de Si e 20,02% em BRS Marataoã com aplicação de 70 mg L<sup>-1</sup> de Si. Deve-se salientar que em condições de estresse hídrico, a expansão celular e a síntese da parede celular são as primeiras alterações fisiológicas comprometidas (TAIZ et al., 2017). Nessa pesquisa, mesmo no manejo de 100% da lâmina de irrigação, o Si reduziu os efeitos deletérios da restrição hídrica sobre o CRA (%), que pode ser atribuído por sua função no arranjo da dupla camada de sílica nas células epidérmicas (PEREIRA et al., 2004).

A partir dos dados obtidos, observou-se um fato interessante, embora o 'BR 17 Gurgueia' tenha apresentado variabilidade expressiva no potencial hídrico foliar, constatou-se um CRA com pouca mudança nas situações distintas de cultivos, com oscilação positiva (65% a 75%) no CRA, quando foram aplicados 70 mg L<sup>-1</sup> de Si (Figura 8A). Registrou-se estabilidade de 70 a 85% no CRA em BRS Marataoã (Figura 8A). Esse comportamento pode ser atrelado ao efeito responsivo ao Si e conferido pelo ajuste osmótico (-0,3 a -0,55 MPa).

Ao analisar o estágio V<sub>9</sub> (Figura 8B), registrou-se pouca variação no CRA (%), entre as condições pesquisadas. Nessa fase, sob reposição de 50% da lâmina de irrigação, as plantas já se encontravam possivelmente adaptadas à limitação de água no solo, o que pode ter sido potencializado pelo efeito cumulativo do Si. Essa assertiva é dada pela menor oscilação no CRA em plantas nutridas de Si, pois nessas situações os vegetais tendem a reduzir a taxa de transpiração e, conseqüentemente, há melhor aproveitamento da água disponível no solo devido à melhoria da estrutura morfofisiológica da planta (FERRAZ et al., 2015).

As funções fisiológicas da planta estão diretamente relacionadas ao seu *status* hídrico (conteúdo relativo de água e potencial hídrico), os quais dependem da umidade do solo, da capacidade de absorção de água e da condutividade hidráulica de tecidos de raízes e de partes aéreas (TAIZ et al., 2017), sendo o déficit hídrico responsável pela redução do conteúdo relativo de água (SOUSA et al., 2014). Esses pesquisadores registraram, na cultura do milho, acréscimo de 27% do CRA (%) sob déficit hídrico e aplicação de Si em relação ao tratamento com déficit hídrico e sem Si, atribuindo a esse aumento o depósito de sílica nos tecidos foliares e conseqüente redução na taxa de transpiração.



**Figura 8.** Conteúdo relativo de água (CRA) dos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

### 4.3. Atividade das enzimas antioxidantes

Ao avaliar o efeito do tratamento com silício e a restrição hídrica, determinou-se a atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), em folhas de feijão-caupi. De modo geral, o Si proporcionou melhoria na remoção da EROs, nos genótipos estudados, uma vez que o houve aumento da atividade destas enzimas e diminuição nos danos oxidativos em nível celular, causados pela restrição hídrica. No entanto, ressalta-se que o condicionamento dos genótipos às condições hídricas distintas e diferentes concentrações de Si promoveram efeitos significativos diferentes, podendo ocorrer devido às diferenças peculiares de cada genótipo, tais como expressão gênica e tolerância ao estresse.

Avaliando-se as duas condições hídricas impostas, no estágio V<sub>5</sub>, verificou-se aumento em 29, 68% e 22,85% da atividade da superóxido dismutase (SOD) nos genótipos Paulistinha e BRS Rouxinol (Figura 9A), cultivados na lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> Si. Outro destaque importante a ser mencionado é que o ‘BRS Marataoã’ e ‘BRS Rouxinol’ têm a atividade da SOD potencializada pelas aplicações de Si, em relação ao tratamento sem esse elemento químico. Inferi-se que o mesmo seja um atenuador eficaz na promoção de tolerância à restrição hídrica nesses genótipos.

Ao comparar as concentrações de Si entre os genótipos, notou-se aumento de 65, 7% no ‘BRS Rouxinol’, cultivado em 50% da lâmina de irrigação e com 70 mg L<sup>-1</sup> de Si em relação ao tratamento sem Si (Figura 9A). Soma-se ao aumento da atividade dessa enzima, o ganho de MFT (g planta<sup>-1</sup>) e aumento do  $\Psi_w$  foliar (MPa) (Figuras 5A e 7).

No estágio V<sub>9</sub>, para o ‘BRS Marataoã’, cultivado na lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, notou-se aumento em 11,47% na atividade da SOD em relação ao meio de cultivo hídrico de 100% (Figura 9B).

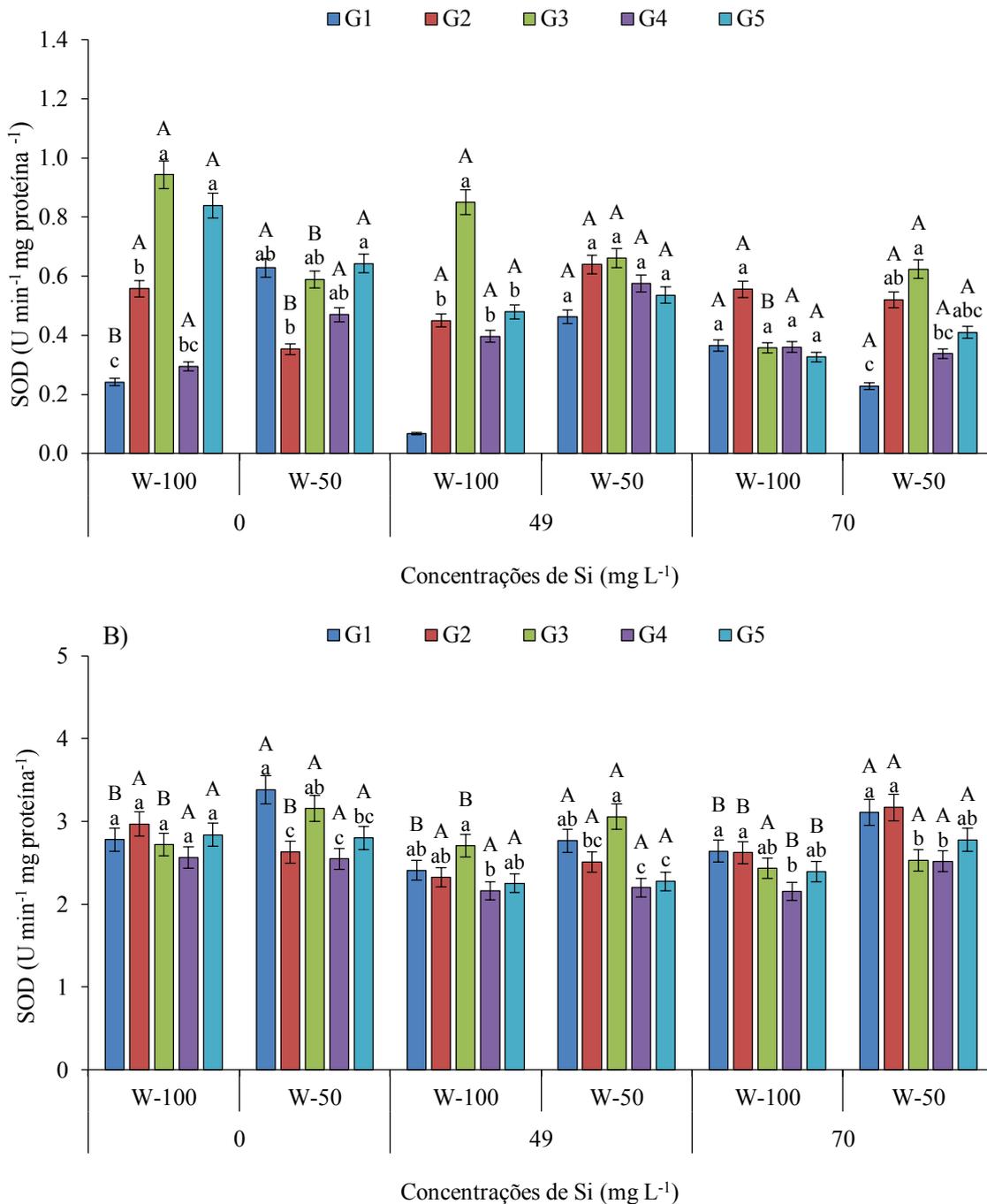
Observou-se, ainda, que todos os genótipos expressaram pouca variação da atividade da SOD, quando cultivados sob as lâminas de irrigação (100% e 50%). No entanto, é importante ressaltar que houve diferença de 2,08; 1,88; 2,53; 1,62 e 1,74 SOD U min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup> em ‘Paulistinha’, ‘BRS Rouxinol’, ‘BRS Marataoã’, ‘BRS 17 Gurgueia’ e ‘Costela de Vaca’, respectivamente, cultivados sob a lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si em relação ao estágio V<sub>5</sub>. Devido provavelmente ao período contínuo de restrição hídrica e aplicações de Si. Sendo assim, esse aumento pode ter proporcionado menor dano oxidativo às células, devido à redução do ânion superóxido.

A SOD é a primeira enzima na defesa de plantas que catalisa a conversão do radical superóxido, gerando oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

(BARBOSA et al., 2014), que serão posteriormente eliminados pela CAT e/ou APX. Nessa pesquisa, o aumento da atividade da SOD nos genótipos BRS Rouxinol e Paulistinha, por exemplo, possivelmente, foi potencializado pela ação benéfica do Si.

É descrito por alguns pesquisadores que a atividade da SOD aumenta sob déficit hídrico, como por exemplo, as pesquisas realizadas por, Nunes Junior et al.(2017), Lima e Lobato (2017) e Silva et al.(2017).

Em um trabalho realizado por Conceição, com plantas de girassol condicionadas ao estresse salino e silício, a mesma observou que a salinidade reduziu a atividade da SOD em 15,7% nas folhas de girassol que não foram submetidas ao tratamento com Si, em comparação às plantas controle. Por outro lado, o Si proporcionou aumento na atividade da SOD, quando as plantas foram tratadas com a concentração 150 mM de NaCl. Essa pesquisadora inferiu que o Si foi essencial para reduzir o dano oxidativo às células, provavelmente pela maior remoção da EROs. Resultados semelhantes também foram obtidos por Ali et al (2013), os quais notaram aumento na atividade da SOD em plântulas de girassol, sob estresse salino e presença de Si.



**Figura 9.** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

Ao comparar as duas condições hídricas, no estágio V<sub>5</sub>, notou-se aumento em 42,55%; 73,78% e 77,60% da atividade da CAT no ‘BRS Marataoã’, ‘BRS Rouxinol’ e ‘Costela de

Vaca', sob 49 mg L<sup>-1</sup> de Si e 50% da lâmina de irrigação (Figura 10A). Esses resultados sugerem que o Si potencializou o aumento da atividade da CAT, a qual mitigou os efeitos deletérios provocados pelo peróxido de hidrogênio. Isso ficou evidente ao investigar o ganho foliar, em especial no 'BRS Marataoã'(Figura 4A), em razão do menor dano na expansão e formação da parede celular, pois em condições de *status* hídricos adequados o vegetal mantém suas integridades em nível de membrana celular, em razão da remoção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (SHARMA et al., 2012; TAIZ et al., 2017).

Nas parcelas sem Si e 50% da lâmina de irrigação, a atividade da CAT aumentou em 37,19% no 'Paulistinha' e 67,62% no 'Costela de Vaca'. Porém, o 'BRS Marataoã' expressou redução na atividade da CAT, quando submetido à restrição hídrica e ausência de Si, o que reforça a importância desse elemento para remoção das EROs. Esse comportamento pode ser confirmado pelo aumento da CAT em torno de 87% nesse genótipo, e de 78% no 'BRS Rouxinol', quando suplementados com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si (Figura 10A).

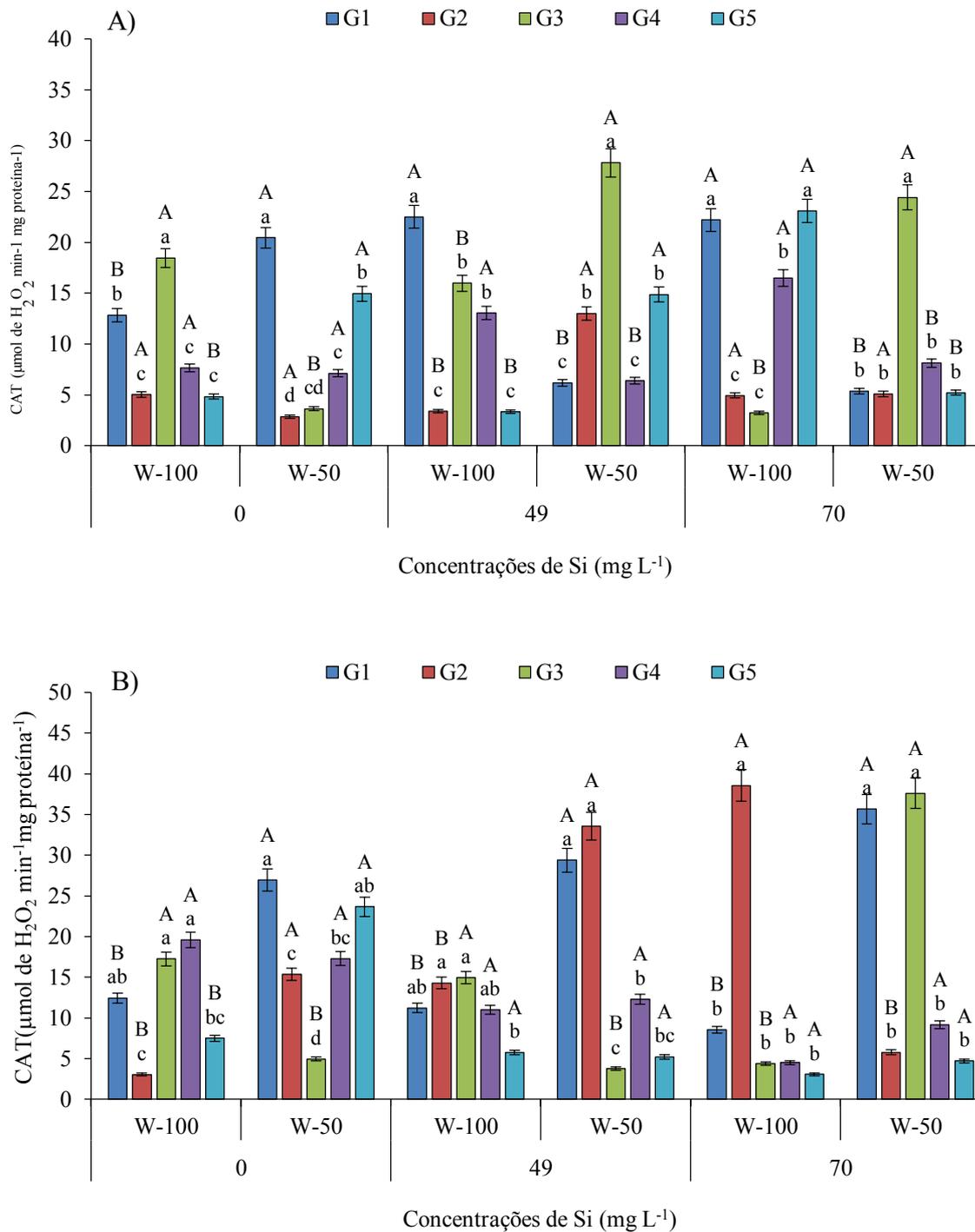
No estágio V<sub>9</sub>, o 'Paulistinha' e o 'BRS Rouxinol', quando cultivados sob 50% da lâmina de irrigação e 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, tiveram aumento significativo da atividade da CAT em 61,80% e 57,49 %, respectivamente, em relação à disponibilidade hídrica de 100% (Figura 10B). Nessas condições de cultivo, esses mesmos genótipos, também tiveram ganhos em AFO (cm<sup>2</sup>), MFT (g planta<sup>-1</sup>) e MST (g planta<sup>-1</sup>) (Figuras 4B, 5B e 6B), possivelmente pela diminuição do efeito deletério do peróxido de hidrogênio e, conseqüentemente, manutenção da expansão e divisão celular.

Deve-se ressaltar que no estágio V<sub>9</sub> as parcelas permaneceram sob condições de restrição hídrica cumulativa. Nesse sentido, a aplicação de Si via foliar, pode ter contribuído efetivamente na atenuação das EROs, denotado pelo aumento da atividade da CAT. Sendo os genótipos Paulistinha (aumento de 76%) e BRS Marataoã (aumento de 88,32%) responsivos à aplicação de 70 mg L<sup>-1</sup> de Si sob restrição hídrica (Figura 10B). Por outro lado, o 'BRS Rouxinol' notou-se vulnerabilidade quanto à restrição hídrica cumulativa expressa pelo decréscimo em 85% da atividade da CAT, mesmo quando suplementado com Si. Por sua vez, o 'BR 17 Gurgueia', embora tenha reduzido a atividade da enzima catalase, quando variou a lâmina de reposição hídrica; manteve pouca oscilação da CAT em situação de déficit hídrico, esse resultado pode sugerir certo grau de tolerância na fase V<sub>9</sub> ao estresse hídrico (Figura 10B).

Nessa mesma situação de cultivo, alguns genótipos como 'BRS Marataoã' teve aumento na área foliar total (Figura 4B), devido, provavelmente, a eficiência na remoção do peróxido de hidrogênio, que em alta concentração na célula danifica as membranas celulares, causando danos nas biomoléculas (GILL e TUTEJA, 2010).

Neste contexto, acredita-se que o Si tenha estimulado em condições de restrição hídrica a atividade da CAT, em especial nos genótipos Paulistinha, BRS Rouxinol e BRS Marataoã (Figura 10 B). Os pesquisadores Lima e Lobato (2017), Venkatachalamet al. (2017), Silva et al.(2017) e Nunes Junior et al.(2017) observaram aumento na atividade da CAT em diferentes culturas, quando as plantas foram condicionadas a diversos tipos de estresses ambientais e a fitotoxicidade.

Em um estudo realizado por Moro et al.(2015), verificaram redução na atividade da CAT em plantas de arroz submetidas ao déficit hídrico e ausência de Si. No entanto, esse elemento proporcionou aumento dessa enzima na tensão de 70 kPa na fase de florescimento para a cultivar Curinga. Os autores sugeriram que o Si propiciou condições de tolerância ao estresse hídrico, devido ao aumento da atividade enzimática. Também foi relatado por Ali et al.(2013) aumento na atividade da CAT em plântulas de girassol, tratadas com Si e condicionadas ao estresse induzido por NaCl.



**Figura 10.** Atividade da enzima catalase (CAT) nos gen\u00f3tipos de feij\u00e3o-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Maratao\u00e3 (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes h\u00eddricos (W-100 e W-50) e tr\u00eas concentra\u00e7\u00f5es de Si (0; 49 e 70  $\text{mg L}^{-1}$ ), nos est\u00e1dios fenol\u00f3gicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub>(B). Letras min\u00fasculas diferenciam os gen\u00f3tipos. Letras mai\u00fasculas diferenciam as duas condi\u00e7\u00f5es h\u00eddricas. Campina Grande, PB, 2017.

Quanto à atividade da ascorbato peroxidase (APX) no estágio V<sub>5</sub>, verificou-se que as maiores reduções foram constatadas na lâmina de irrigação de 50% e 49 mg L<sup>-1</sup> de Si (Figura 11A). No entanto, na lâmina de irrigação 100%, a aplicação de 49 mg L<sup>-1</sup> Si gerou aumento na atividade da APX nos genótipos BRS Rouxinol e BR 17 Gurgueia. Por sua vez na mesma situação hídrica, quando foi realizada a aplicação de 70 mg L<sup>-1</sup> de Si, ‘BRS Marataoã’ e ‘BR 17 Gurgueia’ foram mais efetivos na atividade da APX que os demais genótipos, os quais tiveram pouca oscilação (Figura 11A).

Para Khoshgoftarmanesh et al.(2014), o Si potencializa a atividade antioxidante da APX, a qual tem alta afinidade pelo peróxido de hidrogênio, permitindo a sua eliminação em baixas concentrações. Em contrapartida, Ali et al.(2013) verificaram que a aplicação de silício em plântulas de girassol, sob estresse salino não resultou em efeito significativo na atividade da APX.

Nesse sentido, foi possível observar que nas parcelas sob restrição hídrica e ausência de Si, a maior atividade da APX foram mensuradas em ‘BRS Rouxinol’ e ‘Costela de Vaca (Figura 11A). As peroxidases atuam na formação de componentes da parede celular, senescência foliar e proteção contra estresses bióticos e abióticos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; WAR et al., 2012).

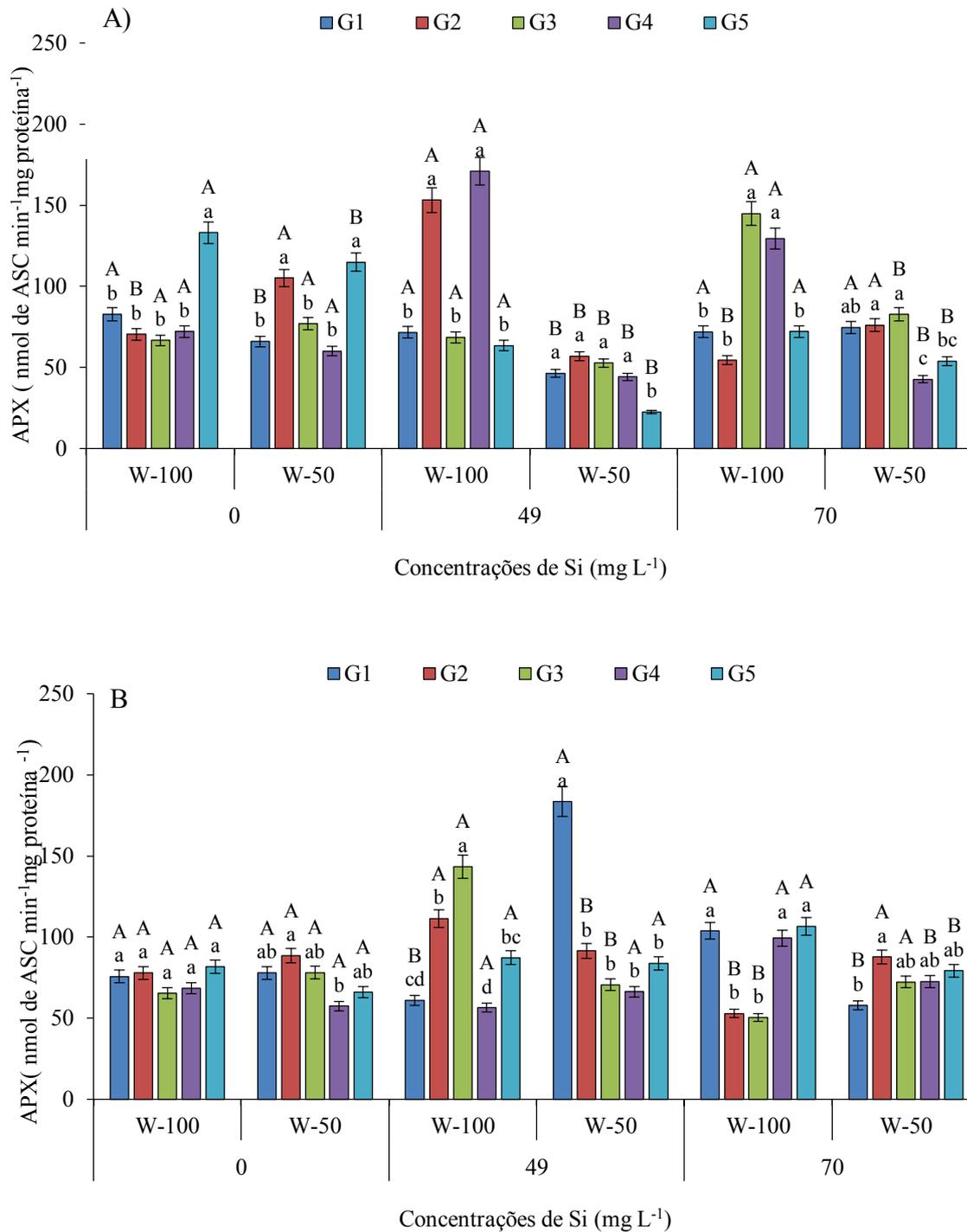
Ao associar o aumento da atividade da APX com potencial hídrico foliar (Figura 7), nos genótipos BRS Rouxinol, BR 17 Gurgueia e BRS Marataoã constatou-se bons desempenhos em situação de déficit hídrico durante a fase de crescimento vegetativo (V<sub>5</sub>), o que pode ser relacionado com maior trocas gasosas e produção de fotoassimilados pelas plantas.

Avaliando a atividade da APX, no estágio V<sub>9</sub>, verificou-se incremento de 65,70% da APX em ‘Paulistinha’, cultivado na lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, quando comparado à lâmina de irrigação de 100%. Esse aumento pode estar relacionado a contínua restrição hídrica e aplicação de Si, uma vez que foi registrado uma diferença de 140,38 nmol de ASC min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup> da APX em relação ao estágio fenológico V<sub>5</sub>(Figura 11B).

A atividade da APX foi pouco influenciada pelas aplicações de Si nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS 17 Gurgueia e Costela de Vaca cultivados na lâmina de irrigação de 50%. Em contrapartida, esses genótipos expressaram valores superiores na atividade da APX, ao compará-los ao estágio V<sub>5</sub>(Figura 11A) e cultivados nessa mesma lâmina de irrigação. Provavelmente isso ocorreu pela ativação do sistema antioxidante propiciado pelo Si (KHOSHGOFTARMANESH et al., 2014) e conseqüentemente houve maior ganho de AFO (cm<sup>2</sup>), MFT (g planta<sup>-1</sup>) e MST (g planta<sup>-1</sup>) (Figuras 4B, 5B e 6B).

É importante salientar que a atividade antioxidante aumenta quando as plantas estão submetidas a estresses bióticos e abióticos, o que é associado à necessidade de equilíbrio entre a produção e remoção de EROs em nível intracelular. Dentre as enzimas que atuam na atividade antioxidante, a APX é uma das mais importantes para eliminar o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (BHATT e TRIPATHI, 2011). Essa enzima possui maior afinidade pelo peróxido de hidrogênio do que a CAT, sendo eficiente para converter o  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{O}_2$  (GILL e TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

Pressupõe-se, então, que o silício pode mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico por promover a redução de radicais livres, devido ao aumento da atividade antioxidante, e consequentemente pode induzir maior tolerância ao estresse nas plantas.



**Figura 11.** Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

#### 4.4. Teor de prolina livre

A prolina é aminoácido responsável pelo ajustamento osmótico, auxiliando na manutenção da integridade das membranas celulares contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio e na manutenção da turgescência celular (ASHRAF et al., 2011; TAIZ e ZEIGER, 2013), podendo ser acumulada na planta para proporcionar tolerância a estresses abióticos, principalmente o hídrico e salino (GILL e TUTEJA, 2010).

Nessa pesquisa os genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BR 17 Gurgueia, no estádio V<sub>5</sub> (Figura 12A), cultivados sob lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, constatou-se acúmulo de prolina (PRL) de 46,20%; 16,25% e 17,76% em relação à lâmina de irrigação de 100%, sendo o acúmulo reduzido em ‘Paulistinha’ e ‘Costela de Vaca’, condicionados a esse mesmo tratamento. O acúmulo de prolina, possivelmente, propiciou a mitigação dos efeitos nocivos do déficit hídrico nesses genótipos, uma vez que esse aminoácido promove ajuste osmótico e é efetivo como osmoprotetor (PILON et al., 2014).

Em contrapartida, na situação descrita acima houve redução de 34,72% e 18,46 de PRL com a aplicação de 70 mg L<sup>-1</sup> de Si no ‘BRS Rouxinol’ e ‘BRS Marataoã’, sugerindo que a concentração ideal de Si é 49 mg L<sup>-1</sup> de Si. Além disso, o ‘Costela de Vaca’, ‘BR 17 Gurgueia’ e ‘Paulistinha’ são mais responsivas ao acúmulo de PRL na aplicação de 70 mg L<sup>-1</sup> de Si e cultivados na lâmina de 50% (Figura 12A).

Neste contexto, foi observado um aumento de 52% no ‘BRS Rouxinol’ e de 35,31% no ‘BR 17 Gurgueia’, quando cultivados sob suplementação de 49 mg L<sup>-1</sup> de Si e lâmina de irrigação de 50%, em relação ao tratamento sem Si (Figura 12A). Possivelmente, esse atenuador manteve o turgor celular.

Avaliando o acúmulo de PRL, no estádio V<sub>9</sub>, verificou-se aumento nos genótipos BR 17 Gurgueia e Costela de Vaca tratados com Si e sob limitação hídrica (50% de reposição de água) em relação ao tratamento sem Si (Figura 12B). Ao comparar as duas condições hídricas, o ‘BRS Marataoã’ e ‘Costela de Vaca’ expressaram aumento no conteúdo de prolina de 37,40% e 46%, respectivamente, quando cultivados com 70 mg L<sup>-1</sup> de Si e lâmina de 50% de disponibilidade de água no solo.

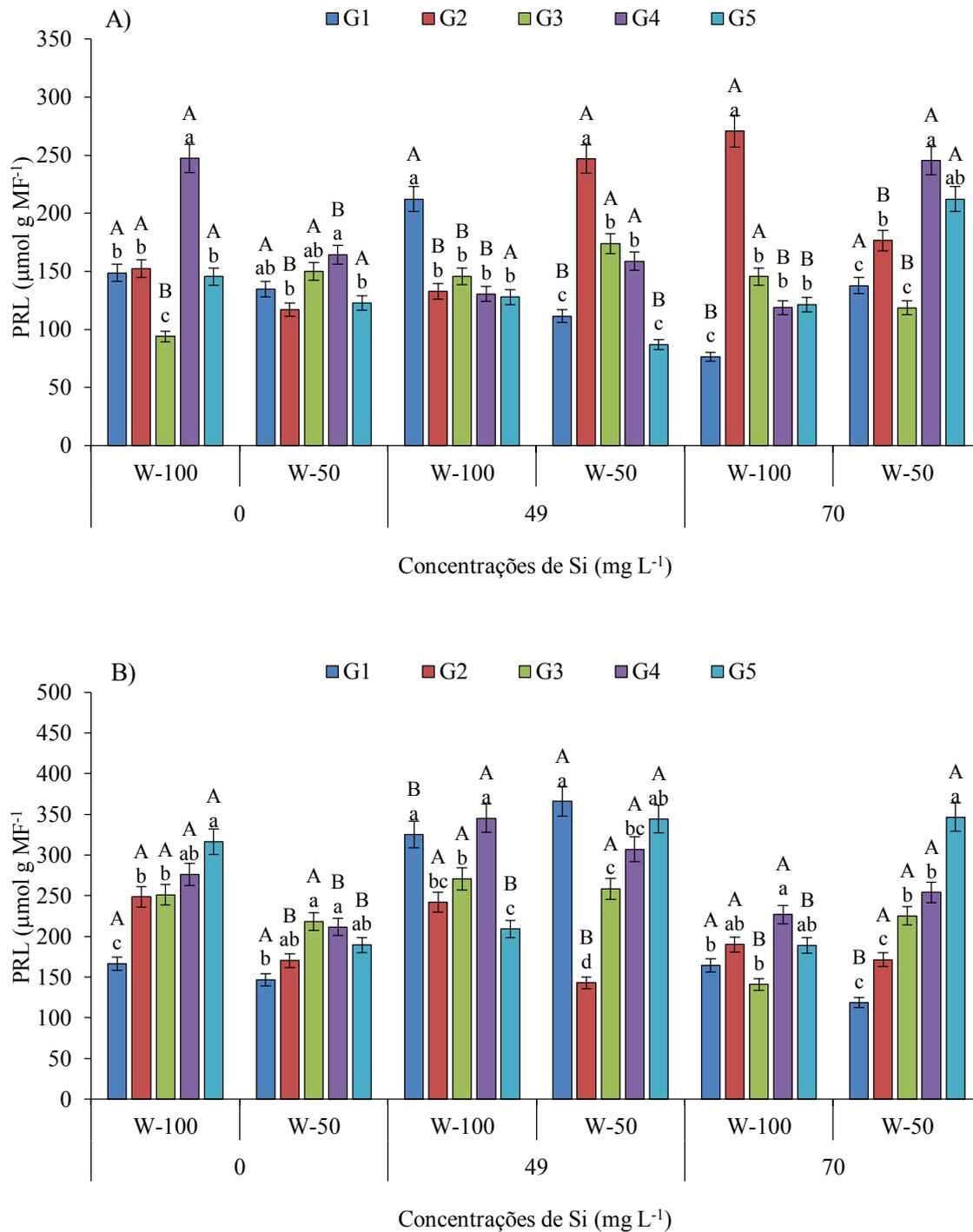
Ainda verificou-se redução de 31,73%; 23,46% e 38,9% no acúmulo desse aminoácido em ‘BRS Rouxinol’, ‘BR 17 Gurgueia’ e ‘Costela de Vaca’, respectivamente, condicionados à lâmina de 50% de água e sem Si (Figura 12B). Esses resultados corroboram aos obtidos por Yin et al. (2013), os quais registraram redução de PRL em sorgo forrageiro sob estresse salino e sem

Si. Esses mesmos pesquisadores comentaram que o efeito deletério da salinidade, nesse vegetal, foi reduzido quando as plantas receberam adubação silicatada.

É notório que no estágio V<sub>9</sub> houve maior acúmulo de PRL em relação ao estágio V<sub>5</sub>, em especial quando as plantas de feijão-caupi foram impostas ao tratamento com Si. Isso pode ter ocorrido devido ao efeito cumulativo das aplicações de Si, as quais podem ter mitigado os efeitos nocivos da restrição hídrica no solo. Essa assertiva pode ser confirmada pelo ganho expressivo em AFO (cm<sup>2</sup>), MFT (g planta<sup>-1</sup>) e MST (g planta<sup>-1</sup>) (Figuras 4B, 5B e 6B).

Destaca-se, ainda, que o ‘Paulistinha’ expressou aumento de 67, 55% de PRL, quando adubado, via foliar, com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, e o ‘BR 17 Gurgueia’ e ‘Costela de Vaca’ tiveram aumento de 31,17% e 45,40% na dose de 70 mg L<sup>-1</sup> de Si, em relação à ausência da adubação silicatada (Figura 12B). Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Kafi e Hahimi (2011), os quais verificaram aumento de PRL na espécie *Portulaca oleracea* L., condicionadas à salinidade e tratadas com silício. Para esses pesquisadores, o Si promoveu maior tolerância ao estresse salino, possivelmente pelo ajustamento osmótico.

Em estudos realizados por Monteiro et al.(2014) e Vantini et al.(2016), em cana-de-açúcar, respectivamente, esses pesquisadores verificaram que a síntese de prolina é estimulada quando as plantas são submetidas a estresses bióticos e abióticos, de modo que os vegetais mantenham a turgescência celular.



**Figura 12.** Teor de prolina livre (PRL) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

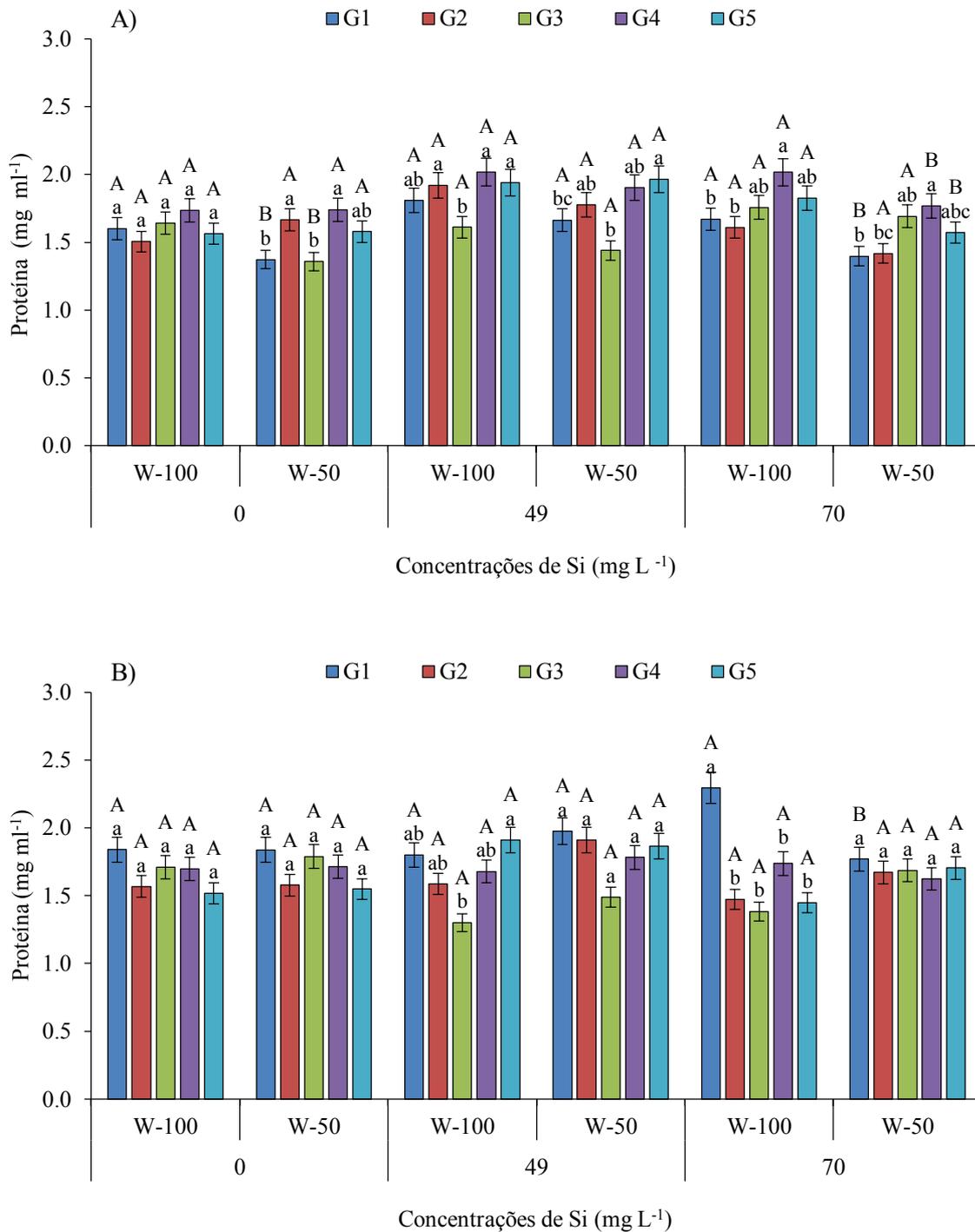
#### 4.5. Proteínas solúveis totais

A síntese de proteínas solúveis totais (PRT) é afetada sob condições de estresse hídrico e/ou salino. No entanto, o Si atua de forma benéfica por induzir a síntese protéica, uma vez que estimula a síntese de RNAm (AL-AGHABARY et al., 2004).

Nessa pesquisa, ao avaliar os dados de PRT das plantas, no estágio V<sub>5</sub>, observou-se que o Si pouco influenciou nas condições estudadas. No entanto, registrou-se aumento de 17,46%; 22,59%; 5,59%; 8,49% e 17,8% nos genótipos Paulistinha, BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BR 17 Gurgueia e Costela de Vaca, respectivamente, cultivados sob lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, em relação ao tratamento sem Si (Figura 13A).

Durante o estágio V<sub>9</sub> não se notou diferença significativa ao comparar as duas lâminas de irrigação. Nesse contexto, provavelmente isso pode ter ocorrido devido ao acúmulo de prolina em todos os genótipos, exceto BRS Rouxinol (Figura 12B), quando foram submetidos a lâmina de irrigação de 50% e 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, o que pode ter contribuído para a preservação de proteínas (MARIJUAN e BOSCH, 2013).

Associa-se à restrição hídrica no solo, o aumento na concentração de sais (TAIZ e ZEIGER, 2013), que afeta a síntese protéica, devido aos danos oxidativos provocados pelas EROs (SHARMA et al., 2012) e/ou pelo aumento na atividade de enzimas proteolíticas (DEMIRAL e TURKAN, 2006). Nesse contexto, Ali et al. (2013) observaram redução de PRT em plantas de girassol em condições de estresse moderado induzido por salinidade, por sua vez a aplicação de Si propiciou aumento de PRT.



**Figura 13.** Teor de proteínas solúveis totais (PRT) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

#### 4.6. Carboidratos solúveis totais

O ajustamento osmótico é a capacidade das células vegetais acumular solutos em grandes concentrações sem efeitos nocivos para o metabolismo, por exemplo, a prolina e os carboidratos solúveis totais (COSTA et al., 2015; TAIZ et al., 2017).

Nesta pesquisa, verificou-se no estágio V<sub>5</sub>, redução de 63% dos carboidratos solúveis totais (CAR) no ‘Costela de Vaca’ (Figura 14A) em situação de déficit hídrico e sem adubação com Si. Por outro lado, quando o mesmo genótipo foi cultivado com 100% da lâmina de irrigação e com aplicações foliares de Si, houve melhoria no ajuste osmótico provocado pela maior concentração de carboidratos totais.

Moura et al. (2016) mencionaram que o déficit hídrico tende a alterar a concentração de carboidratos por diminuir a eficiência na translocação de fotoassimilados nas plantas, e com isso afetar o processo de desenvolvimento das mesmas. Em um estudo com plantas de aroeira (*Myracrodruon undeuva*), Costa et al (2015) observaram aumento de 47% de carboidratos solúveis totais em plantas sob déficit hídrico e sem Si em relação às plantas controle.

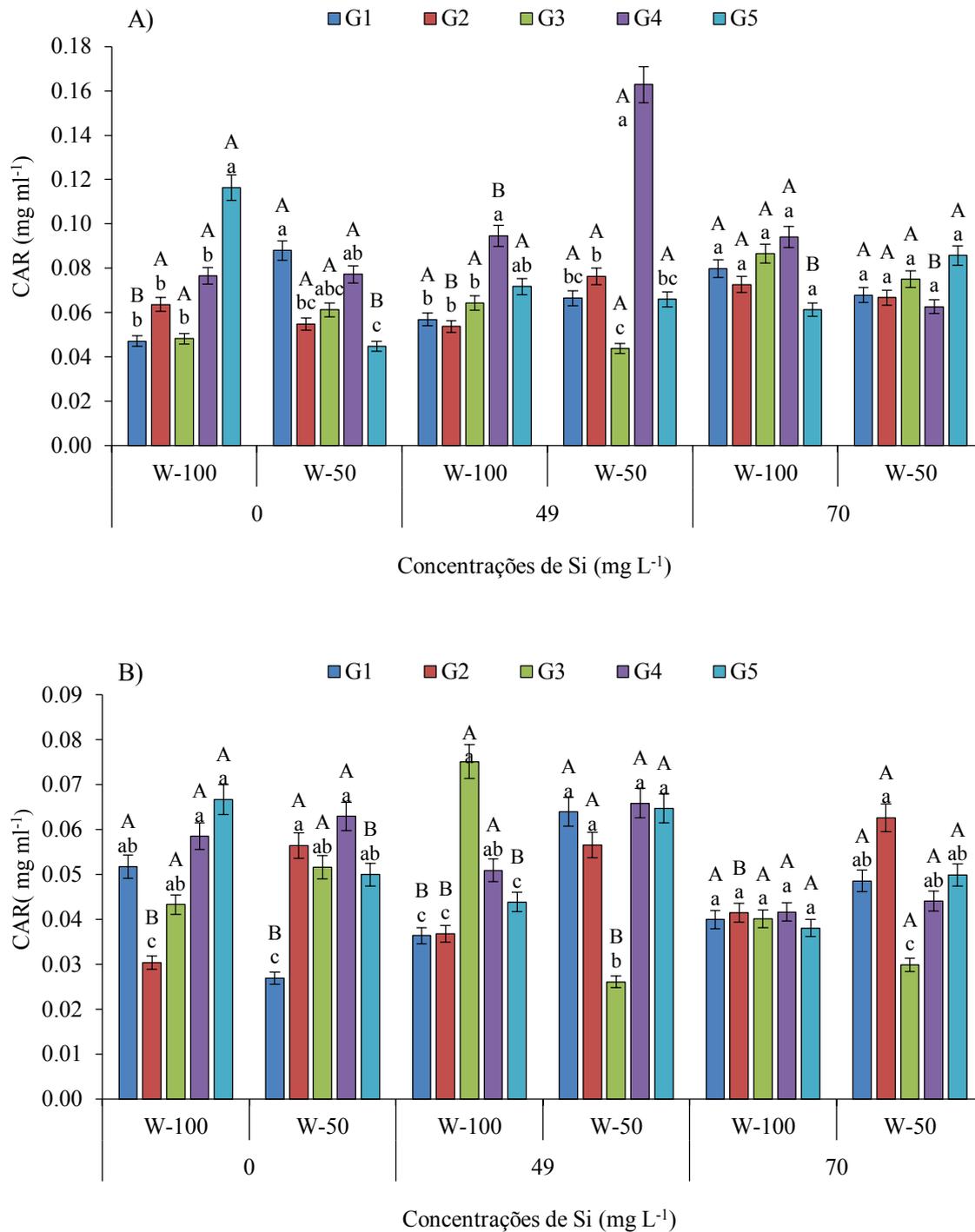
Nesse contexto, foi verificado nos genótipos BR 17 Gurgueia e BRS Rouxinol cultivados com lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si aumento de 43,75% e 37,5% de CAR, respectivamente, em relação à disponibilidade hídrica de 100%. Todavia, observou-se redução de 33,33% de CAR em ‘BR 17 Gurgueia’, cultivado na lâmina de irrigação de 50% e com 70 mg L<sup>-1</sup> de Si (Figura 14A). Desse modo, a aplicação mais apropriada de Si para esse genótipo é a concentração 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, visto que doses mais elevadas promovem o decréscimo de CAR e em consequência disso há menor ajustamento osmótico.

Quanto às concentrações de Si, o ‘BRS Marataoã’ e ‘Costela de Vaca’ verificou-se aumento de 42,85% e 50% de CAR, respectivamente, quando cultivados em 50% da lâmina de irrigação e com 70 mg L<sup>-1</sup> de Si, em relação ao tratamento sem Si. Nessa mesma condição hídrica, ‘BR 17 Gurgueia’ teve incremento de 62,5% de CAR, quando cultivado sob 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, em relação ao tratamento sem Si (Figura 14A). Nesse genótipo foi registrado um potencial hídrico foliar de -1,4 MPa, indicando estresse moderado (TAIZ et al. 2017). Logo, esse incremento de CAR não proporcionou aumento do potencial hídrico foliar (Figura 7), mas a planta continuou a produzir fotoassimilados.

Avaliando a influência do teor de CAR, no estágio V<sub>9</sub>, o ‘Paulistinha’, ‘BRS Rouxinol’ e ‘Costela de Vaca’ expressaram aumento de 50%; 40% e 28,57% de CAR, quando cultivados na lâmina de irrigação de 50% e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si em relação à lâmina de irrigação de 100%. Nessa mesma situação o teor de CAR foi reduzido 71,42% no ‘BRS Marataoã’ (Figura 14B).

Provavelmente isso ocorreu devido ao ajuste osmótico induzido pela prolina (Figura 12B), uma vez que não se observou redução na síntese de proteínas solúveis totais (Figura 13B).

Outro destaque também foi para 'BRS Rouxinol', o qual expressou aumento de 50% de CAR, quando cultivado na lâmina de irrigação de 50% e com 70 mg L<sup>-1</sup> de Si, em relação à disponibilidade hídrica de 100% (Figura 14B). Pelo exposto, o Si atuou como um atenuador do déficit hídrico, uma vez que promove ajuste osmótico mantendo a turgidez celular (PILON et al., 2014).



**Figura 14.** Teor de carboidratos solúveis totais (CAR) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), nos estádios fenológicos V<sub>5</sub> (A) e V<sub>9</sub> (B). Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

#### 4.7. Variáveis de produção

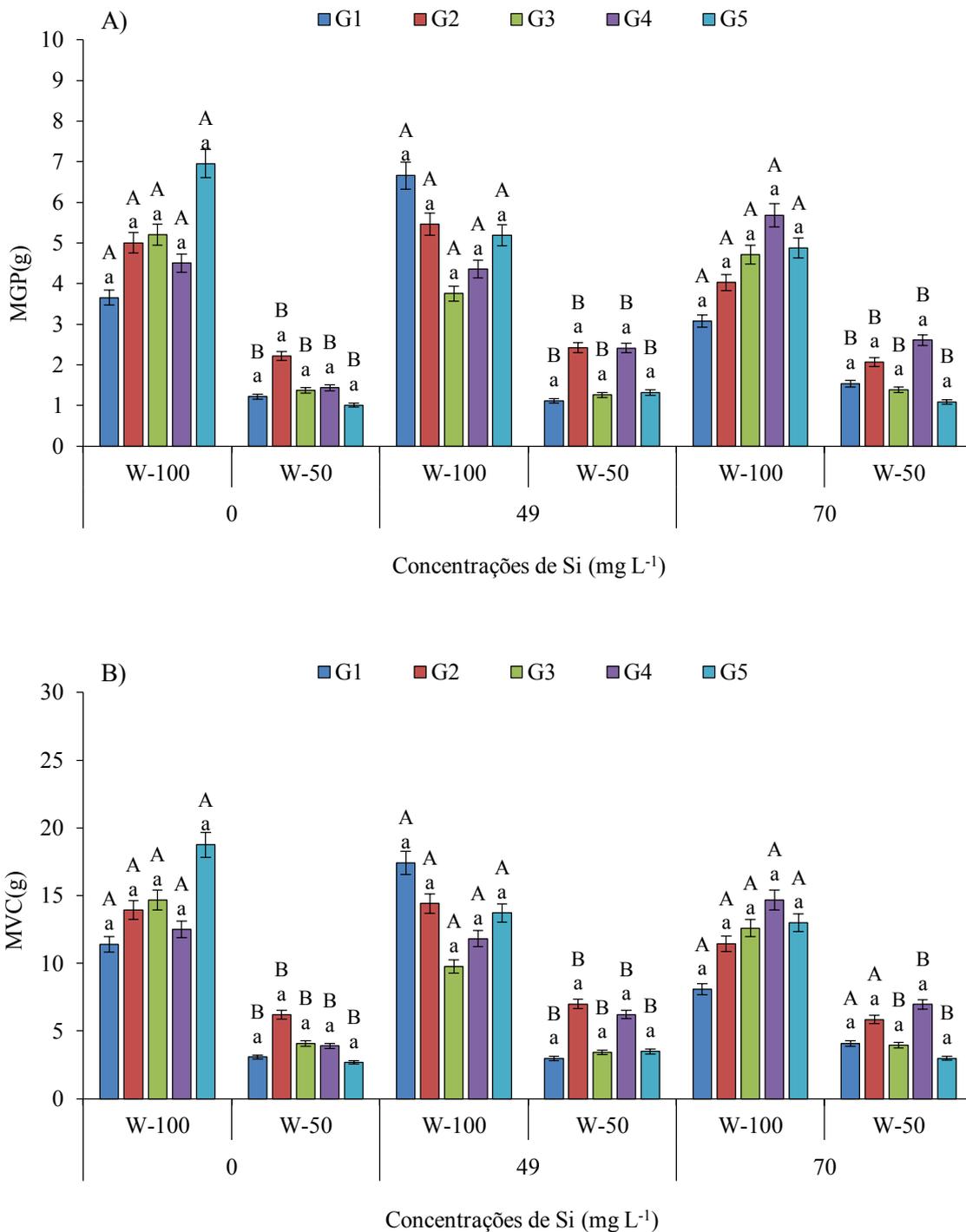
Em relação à produção foram avaliadas as seguintes variáveis: massa de grãos por planta (MGP), massa de vagens com sementes (MVC), massa de vagens sem sementes (MVS) e número de vagens por planta (NVP). Soma-se a essas variáveis, a eficiência no uso da água (EUA) que foi expressa em g/mm durante o ciclo da cultura e da massa seca total (MST) dos estádios  $V_5$  e  $V_9$ .

Avaliando a influência do Si sobre a variável MGP, verificou-se que esse elemento químico não proporcionou, diretamente, aumento de MGP nos genótipos avaliados sob lâmina de irrigação de 50% (Figura 15A). Esses resultados não corroboram aqueles obtidos por Oliveira et al. (2015), ao pesquisar o efeito do Si na cultura da soja, pois foram registrados ganhos significativos no rendimento de grãos de soja. Em outra pesquisa, Castellanos et al.(2016) observaram que a cinza de casca de arroz utilizada como fonte de silício, até a dose de 2000 kg ha<sup>-1</sup> de SiO<sub>2</sub>, aumentou a MGP. A diferença na resposta ocorreu, possivelmente, pelas condições hídricas do estudo, pois tais pesquisadores fizeram suas investigações sem déficit hídrico.

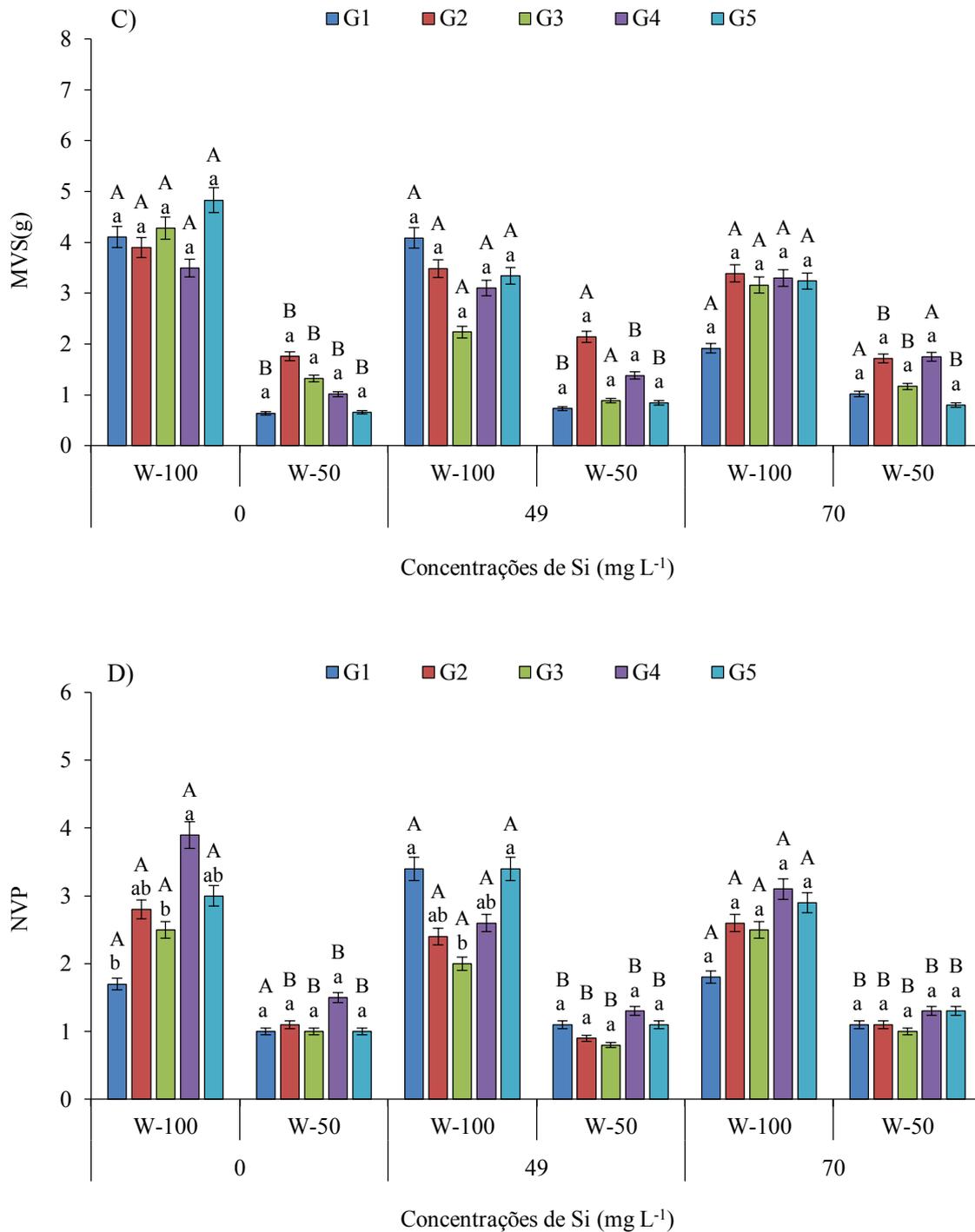
Em relação à MVC, verificou-se redução dessa variável em todos os genótipos, quando cultivados em 50% da lâmina de irrigação (Figura 15B). No entanto, houve ganho em 28, 43% de MVS no genótipo BRS Rouxinol, cultivado na lâmina de irrigação de 50% de água disponível e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, ao compará-lo ao tratamento sem Si (Figura 16A).

Quanto ao NVP, observa-se na Figura 16B redução em todos os genótipos, quando cultivados na lâmina de irrigação de 50% em relação à disponibilidade hídrica de 100%. Os genótipos Paulistinha, Costela de Vaca e BR 17 Gurgueia possuem maior quantidade de vagens por planta. Os resultados obtidos estão em desacordo com aqueles obtidos por Crusciol et al.(2013), pois os mesmos verificaram que a aplicação de Si, via foliar, aumentou o número de vagens por planta nas culturas da soja, feijão e amendoim em relação ao tratamento sem Si. No entanto, esses pesquisadores não aplicaram estresse hídrico.

Embora à restrição hídrica tenha promovido redução nas variáveis: NVP, MVS, MVC e MCG, o Si proporcionou o crescimento e o desenvolvimento das plantas de feijão-caupi, que pode ser atribuído ao ajuste osmótico e aumento da atividade antioxidante das enzimas SOD, CAT e APX, potencializadas pelo Si (PILON et al., 2014; KHOSHGOFTARMANESH et al., 2014), as quais expressaram comportamento diferenciado entre os genótipos avaliados e as lâminas de irrigação impostas.



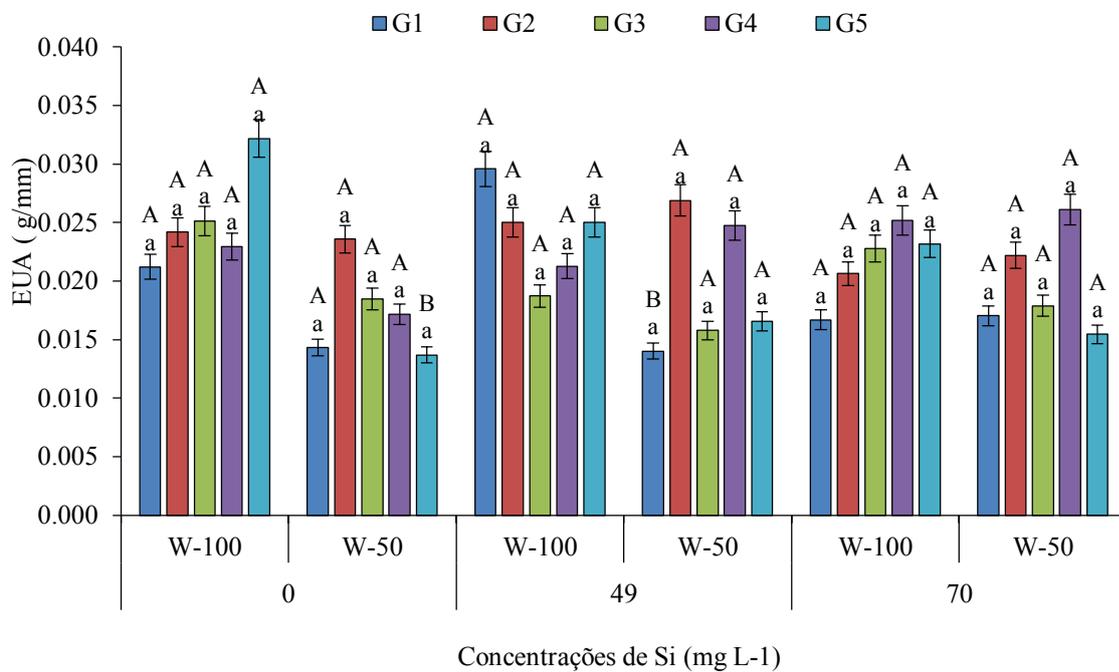
**Figura 15.** Massa de grãos por planta (A); massa de vagens com sementes(B) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio fenológico R<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.



**Figura 16.** Massa de vagens sem sementes (A); número de vagens por planta (B) nos genótipos de feijão-caupi: Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e três concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio fenológico R<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, PB, 2017.

Ao avaliar a eficiência no uso da água (EUA), verificou-se redução de 56,25 % no ‘Costela de Vaca’, quando cultivado na lâmina de irrigação de 50% e sem Si, em relação à lâmina de irrigação de 100%. Quanto às concentrações de Si entre os genótipos, houve aumento em ‘Paulistinha’ (12,5%) e em ‘BRS Rouxinol’ (28,57%), na lâmina de irrigação de 50% e sob 49 mg L<sup>-1</sup> de Si, em relação a não adubação com Si.

Nesse contexto, o Si promoveu uma barreira física devido ao acúmulo desse elemento nas células epidérmicas da superfície foliar (CANTUÁRIO et al., 2014), o que resultou em menor transpiração e melhoria na eficiência no uso da água pelas plantas.



**Figura 17.** Eficiência no uso da água nos genótipos Paulistinha (G1), BRS Rouxinol (G2), BRS Marataoã (G3), BR 17 Gurgueia (G4) e Costela de Vaca (G5), condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e concentrações de Si (0; 49 e 70 mg L<sup>-1</sup>), no estágio R<sub>5</sub>. Letras minúsculas diferenciam os genótipos. Letras maiúsculas diferenciam as duas condições hídricas. Campina Grande, 2017.

#### 4.8. Análise dos componentes principais

A análise multivariada refere-se a todos os métodos estatísticos que, simultaneamente, analisam múltiplas variáveis sobre cada indivíduo ou objeto sob investigação e pode fornecer uma quantidade maior de informações. Dentre as técnicas exploratórias multivariadas, destaca-se

a análise dos componentes principais (ACP), a qual reduz a dimensão de um conjunto de dados existentes nas variáveis originais em componentes principais (CPs), gerando assim novas variáveis com quantidades relevantes de informações HAIR et al., 2009).

Em cada estágio fenológico estudado ( $V_5$ ,  $V_9$  e  $R_5$ ), foram extraídos quatro Componentes Principais ( $CP_1$ ,  $CP_2$ ,  $CP_3$  e  $CP_4$ ) com autovalores maiores que a unidade ( $\lambda > 1$ ) na matriz de covariância, os quais juntos explicam 71,93% da variância total acumulada nos estádios  $V_5$  e  $R_5$  e 78,5% nos estádios  $V_9$  e  $R_5$  (Tabela 8).

No  $CP_1$ , estádios  $V_5$  e  $R_5$ , foram retidas 35,31% da informação relevante para a separação dos genótipos submetidos às duas condições hídricas  $E_0$  e  $E_1$ , sendo este componente formado pela associação das variáveis: MFT, NVP, MVC, MVS, MGP, EUA, APX e PHI.

De acordo com a projeção bidirecional dessas variáveis (Figuras 18A e 18B), no  $CP_1$ , destacam-se os tratamentos  $G_4S_1E_1$  e  $G_4S_2E_0$ , nos quais houve maior redução do PHI no tratamento  $G_4S_1E_1$  e maior NVP, MVS, MVC, MGP no tratamento  $G_4S_2E_0$ . Nesse tratamento, o Si foi benéfico para o incremento dessas variáveis de crescimento possivelmente por proporcionar folhas mais eretas, aumentando assim a taxa fotossintética (HECKMAN, 2013).

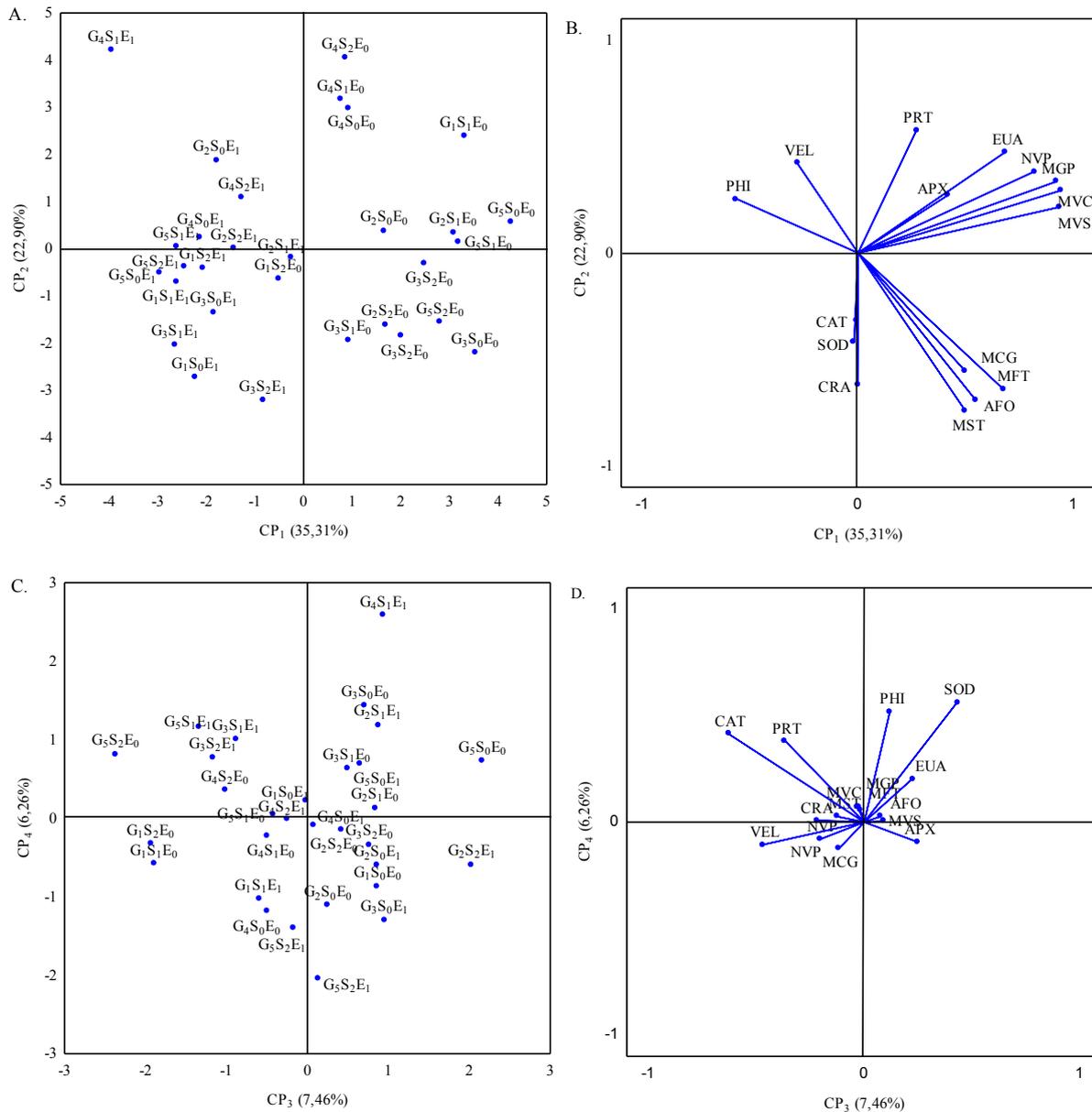
O  $CP_2$  (Figuras 18A e 18B) detém 22,90% da variância total, evidenciando que os tratamentos  $G_4S_1E_1$  e  $G_4S_2E_0$  possuem maior teor de PRT, porém menor AFO, CRA, MST e MCG. Situação contrária é verificada nos tratamentos  $G_3S_2E_1$  e  $G_3S_0E_0$ .

As concentrações de PRT são reduzidas sob restrição hídrica. Dessa forma, o Si mitigou os danos causados sobre essa variável no tratamento  $G_4S_1E_1$ . Em pesquisa com milho, Souza et al. (2014) observaram redução no teor de PRT em plantas de milho sob déficit hídrico e ausência de Si. Para esses pesquisadores, o Si reduziu os efeitos deletérios causados pela restrição hídrica sobre essa variável.

Quanto ao  $CP_3$  (Figuras 18C e 18D), com variância relativa de 7,46%, os tratamentos  $G_5S_2E_0$ ,  $G_1S_2E_0$  e  $G_1S_1E_0$ , possuem maior atividade da CAT, cujos valores foram (23,08; 22,20 e 22,51  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ , respectivamente) e menor VEL, quando comparados aos tratamentos  $G_4S_1E_1$ ,  $G_2S_2E_1$  e  $G_5S_2E_1$ , os quais tiveram redução de 72,31%; 77,07% e 76,81, respectivamente na atividade da CAT. Essa redução provavelmente ocorreu devido ao desequilíbrio entre a produção de EROs e a rápida eliminação por parte da CAT (SHARMA et al., 2012) e /ou o  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode ter sido consumido na peroxidação lipídica em vez de ter sido eliminado pela CAT (MORO et al., 2015).

O  $CP_4$  acumulou 6,26 % da variância total, formado pela SOD, evidenciando que o tratamento  $G_4S_1E_1$  tem a atividade da SOD aumentada, ao compará-lo com o tratamento  $G_1S_2E_1$  na qual a atividade dessa enzima é reduzida em 60,34% (Figuras 18C e 18D). Esse aumento na

atividade da SOD, potencializada pelo Si, propicia a conversão do radical superóxido, gerando oxigênio molecular ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que serão posteriormente eliminados pela APX ou CAT (BARBOSA et al., 2014).



**Figura 18.** Projeção bidimensional dos tratamentos (A e C) e variáveis (B e D) nos quatro primeiros Componentes Principais (CP) e estádios V<sub>5</sub> e R<sub>5</sub>. Genótipos: G<sub>1</sub>-Paulistinha; G<sub>2</sub>-BRS Rouxinol; G<sub>3</sub>-BRS Marataoã; G<sub>4</sub>-BR 17 Gurgueia; G<sub>5</sub>-Costela de Vaca. Concentrações de silício: S<sub>0</sub>- sem silício; S<sub>1</sub>-49 mg L<sup>-1</sup>; S<sub>2</sub>-70 mg L<sup>-1</sup>. E<sub>0</sub>-100% de disponibilidade hídrica; E<sub>1</sub>-50% de disponibilidade hídrica. AFO: área foliar total; MFT: massa fresca total da parte aérea; MST: massa seca total da parte aérea; MVC: massa de vagens com sementes; MVS: massa de vagens sem sementes; MGP: massa de grãos por planta; MCG: massa de cem grãos NVP: número de vagens por planta; VEL: extravasamento de eletrólitos; CRA: conteúdo relativo de água; EUA: eficiência no uso da água; PHI: potencial hídrico foliar; CAT: catalase; SOD: superóxido dismutase; APX: ascorbato peroxidase; PRT: proteínas solúveis; PRL: prolina; CAR: carboidratos solúveis totais. Campina Grande, PB, 2017.

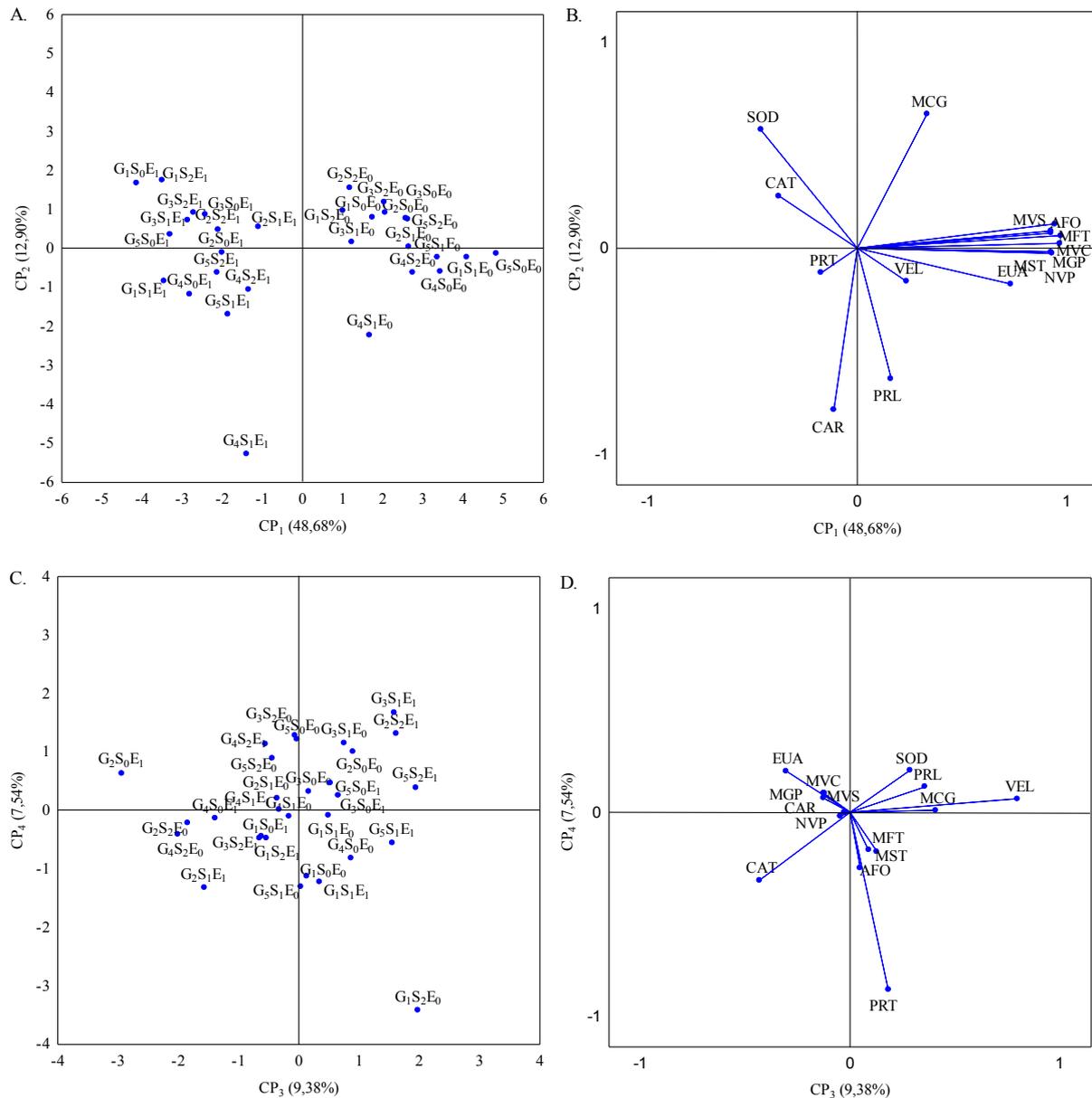
Nos estádios fenológicos V<sub>9</sub> e R<sub>5</sub>, observa-se 78,50 % da variância total, sendo o CP<sub>1</sub> responsável por 48,68% desta variância, separando os tratamentos pelas condições hídricas impostas (Figuras 19A e 19B). Nesse Componente, verifica-se que os tratamentos G<sub>5</sub>S<sub>0</sub>E<sub>0</sub>, G<sub>1</sub>S<sub>1</sub>E<sub>0</sub> e G<sub>4</sub>S<sub>0</sub>E<sub>1</sub>, possuem maior AFO, MFT, MST, NVP, MVC, MVS, MGP e EUA, divergindo dos tratamentos G<sub>1</sub>S<sub>0</sub>E<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub> e G<sub>4</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub>.

Nesse contexto, o Si proporcionou aumento das variáveis AFO, MFT, MST, NVP, MVC, MVS, MGP e EUA no tratamento G<sub>1</sub>S<sub>1</sub>E<sub>0</sub>. Desse modo, o Si favoreceu o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

No que se refere ao CP<sub>2</sub>(Figuras 19A e 19B), com variância de 12,90%, registrou-se nos tratamentos G<sub>1</sub>S<sub>0</sub>E<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>S<sub>2</sub>E<sub>1</sub> e G<sub>3</sub>S<sub>0</sub>E<sub>0</sub> maior atividade da SOD (3,58; 3,11 e 2,54 SOD U min<sup>-1</sup>mg de proteína<sup>-1</sup>), ao compará-los com o tratamento G<sub>4</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub>, o qual expressou o valor de 2,19U min<sup>-1</sup>mg de proteína<sup>-1</sup>. Nesse tratamento houve maior acúmulo de CAR em relação aos tratamentos G<sub>5</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub>. O aumento nos teores de CAR no tratamento G<sub>4</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub> sugere maior ajuste osmótico na planta, regulado pelo Si, o qual manteve a turgescência celular

Verifica-se no CP<sub>3</sub>(Figuras 19C e 19D) retenção de 9,38% do total da variância. Este Componente é formado pelas variáveis CAT e VEL. O tratamento G<sub>2</sub>S<sub>0</sub>E<sub>1</sub> teve maior atividade da CAT (15,35 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>mg proteína<sup>-1</sup>) em relação aos tratamentos G<sub>3</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>S<sub>2</sub>E<sub>0</sub>, cujos valores foram 3,76 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>mgproteína<sup>-1</sup>e 9,60 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup>. Desse modo, a CAT foi responsiva por mitigar os danos oxidativos provocado pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no tratamento G<sub>2</sub>S<sub>0</sub>E<sub>1</sub>, mesmo na ausência de Si.

O Componente CP<sub>4</sub>(Figuras 19C e 19D) retém 7,54% do total da variância, sendo formado pela variável PRT. Merece destaque o tratamento G<sub>1</sub>S<sub>2</sub>E<sub>0</sub>, no qual verificou-se aumento de 31,44% e 35,37% nos teores de PRT, divergindo dos tratamentos G<sub>2</sub>S<sub>0</sub>E<sub>1</sub> e G<sub>3</sub>S<sub>1</sub>E<sub>1</sub>, cujos valores foram de 1,57 mg ml<sup>-1</sup> e 1,48 mg ml<sup>-1</sup> de PRT.



**Figura 19.** Projeção bidimensional de tratamentos (A e C) e variáveis (B e D) nos quatro primeiros Componentes Principais (CP) nos estádios fenológicos V<sub>9</sub> e R<sub>5</sub>. Genótipos: G<sub>1</sub>-Paulistinha; G<sub>2</sub>-BRS Rouxinol; G<sub>3</sub>-BRS Marataoã; G<sub>4</sub>-BR 17 Gurgueia; G<sub>5</sub>-Costela de Vaca. Concentrações de silício: S<sub>0</sub>-sem silício; S<sub>1</sub>-49 mg L<sup>-1</sup>; S<sub>2</sub>-70 mg L<sup>-1</sup>. E<sub>0</sub>-100% de disponibilidade hídrica; E<sub>1</sub>-50% de disponibilidade hídrica. AFO: área foliar total; MFT: massa fresca total da parte aérea; MST: massa seca total da parte aérea; MVC: massa de vagens com sementes; MVS: massa de vagens sem sementes; MGP: massa de grãos por planta; MCG: massa de cem grãos; NVP: número de vagens por planta; VEL: extravasamento de eletrólitos; CRA: conteúdo relativo de água; EUA: eficiência no uso da água; PHI: potencial hídrico foliar; CAT: catalase; SOD: superóxido dismutase; APX: ascorbato peroxidase; PRT: proteínas solúveis; PRL: prolina; CAR: carboidratos solúveis totais. Campina Grande, PB, 2017.

## 5. CONCLUSÕES

O silício proporcionou atenuação do déficit hídrico com aumento no crescimento e no desenvolvimento.

As enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX foram potencializadas com a aplicação foliar de silício, aumentando a tolerância ao déficit hídrico.

BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BR 17 Gurgueia expressaram aumento no teor de prolina, sob déficit hídrico e suplementados com Si, o que promoveu maior osmoproteção as plantas.

O genótipo BRS Marataoã suporta melhor à restrição hídrica por meio da aplicação de Si.

Os genótipos Paulistinha e Costela de Vaca possuem maior quantidade de vagens por planta, quando cultivados na lâmina de irrigação de 100% de disponibilidade hídrica e com 49 mg L<sup>-1</sup> de Si.

## REFERÊNCIAS

ALI, M. A. M., RAMEZANI, A., FAR, S. M., SADAT, K. Application of silicone ameliorates salinity stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**. v. 6, n. 20, p.1367-1372, 2013.

AL-AGHABARY, K.; ZHU, Z.; SHI, Q. H. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. **Journal of Plant Nutrition** v.27,n.1 p. 2101-2115, 2004.

ALMEIDA, A. L. G; ALCÂNTARA, R. M. C. M; NÓBREGA, R. S.A; NÓBREGA.J. C. A; LEITE, L. F. C; SILVA, J. A. L. Produtividade do feijão caupi cv. BR 17 Gurgueia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.3, p.364-369, 2010.

ALVARENGA, I. C. A. Prolina livre em alecrim-pimenta sob estresse hídrico antes da colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, especial, p.539-541, 2011.

ALVES, A.F. CARVALHO, K.F. LIMA, A.A. ALVES, A.F. FERREIRA, T.A. Resposta do silício em condições de estresse salino em feijão-caupi variedade Gurgueia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n.5, p. 124 -128, 2014.

ARRUDA, I.M. CIRINO, V.M. BURATTO, J.S. FERREIRA, J.M. Crescimento e produtividade de genótipos e linhagens de amendoim submetidas a déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 2, p. 146-154, 2015.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, n.2, p.206-216, 2007.

ASHRAF, M.; AKRAM, N. A.; AL-QURAINY, F.; FOOLAD, M. R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.11, n.1, p. 249- 296, 2011.

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

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **Experimentação agrônômica & agroestatística para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. 1ª Ed., Jaboticabal: FUNEP, 2015, 396 p.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v.39, n.1, 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.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife: UFRPE, 2011. 267p.

BYBORDI, A. Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v.11, n.10, p.1610-1620, 2012.

BOUGHALLEB, F.; ABDELLAOUI, R.; BRAHIM, N. B.; NEFFATI, M. Growth, photosynthesis, water use efficiency and osmoregulation of the wild species *Astragalus gombiformis* Pomel. under water deficit. **Brazilian Journal Botany**, v.39, n.1, p.147-156, 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the determination of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.7, p.248-254, 1976.

BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, v.32, n.1, p.21-32, 2013.

BRASIL DECRETO Nº 2954. Aprova o regulamento da lei n º 6894 de 16 de janeiro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, 2004.

BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. **Biotechnology Advances**, v.29, n.6, p.850-859, 2011.

CAMPOS, F. L. FREIRE FILHO, F. R. LOPES, A.C. de A. RIBEIRO, V.Q.; SILVA, R.Q.B. da.; ROCHA, M. de M.. Ciclo fenológico em caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp): uma proposta de escala de desenvolvimento. **Revista Científica Rural**, v.5, n.2, p.110-116, 2000.

CANTUÁRIO, F.S.; LUZ, J.M.Q.; PEREIRA A.I.A.; SALOMÃO L.C.; REBOUÇAS, T.N.H. Podridão apical e escaldadura em frutos de pimentão submetidos a estresse hídrico e doses de silício. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, p.215-219, 2014.

CAVERZAN, A. PASSAIA, G. ROSA, S.B.RIBEIRO, C.W.LAZZAROTO, F.; PINHEIRO, M.M. Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. **Genetics and Molecular Biology**, v.35, n.4, p. 1011-1019, 2012.

CASTELLANOS, C.I.S.; ROSA, M.P.; DEUNER, C.; BOHN, A.; BARROS, A.C.S.A.; ENEGHELL O, G.E. Application to soil of rice husk ash as silicon source: effect in wheat seeds quality produced under salt stress. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n.1, p.95-104, 2016.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; SILVEIRA, J. A. G.; LAUGHINGHOUSE, H. D. ABA mediated proline synthesis in cowpea leaves exposed to water deficiency and rehydration. **Turkish Journal of Agriculture & Forestry**, v.35, n.1 p.309-317, 2011.

COSTA, A.S. FREIRE, A.L.de O.; BAKKES, I.A.; PEREIRA, F.H.F. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga**, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.

CONCEIÇÃO, S.S. **Aclimação de plantas de girassol à salinidade induzida por silício**. Fortaleza, 2015. 83p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará.

CHAKRABORTY, K.; SINGH A. L.; KALARIYA K. A.; GOSWAMI, N.; ZALA, P.V. Physiological responses of peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars to water deficit stress: status of oxidative stress and antioxidant enzyme activities. **Acta Botanica Croatica**, v.74, n.1, p.123-142, 2015.

CRUSCIOL, A.C. SORATTO, R.P. CASTRO, G.S.A. COSTA, C.H.M. da.; FELIX NETO, J. Aplicação foliar de ácido silícico estabilizado na soja, feijão e amendoim. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 404-410, 2013.

DABROWSKA, G. KATA, A. GOC, A. HEBDA, M.S. SKRZYPEK, A.E. Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. **Acta Biologica Cracoviensia**, v.49, n.1, p.7-17, 2007.

DEMIRAL T, TURKAN I. Exogenous glycine betaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.56, n.1 72-79, 2006.

DONOHUE, R.J.; RODERICK, M.L.; MCVI, T.R.; FARQUHAR, G.D.; 2013. Impact of CO<sub>2</sub> fertilization on maximum foliage cover across the globe's warm, arid environments. **Geophysical Research Letters**, v. 40, n. 12, p.3031–3035, 2013.

DUTRA, A. S.; TEÓFILO, E. M. Envelhecimento acelerado para avaliar o vigor de sementes de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 193-197, 2007.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. **Enfield: Science Publishers**, New York, cap.9, p.178-203, 2011.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**, Editora Planta, 2006, 403p.

FERNANDES-SILVA, A.A.;ÓPEZ-ERNAL ,A.;FERREIRA, C.;VILLALOBOS, Leaf water relations and gas exchange response to water déficit of olive (cv. Cobrançosa) in field grown conditions. **Plant Soil**, v. 402, n.1, p. 191-209, 2016.

FERRAZ, R.L. de S.;MAGALHÃES, I.D.;BELTRÃO, N.E. de M.;MELO, A.S. de.;NETO, J.F. de B.;ROCHA, M. do S. Photosynthetic pigments, cell extrusion and relative leaf water content of the castor be an under silicone and salinity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.9, p.841–8.

FURLAN A.; LLANES, A., LUNA, A., CASTRO, S. Physiological and Biochemical Responses to Drought Stress and Subsequent Rehydration in the Symbiotic Association Peanut-Bradyrhizobium sp. **International Scholarly Research Network**, p.1-8, 2012.

FROTA, K. M. G. MANÓLIO, R.A. GOMES, J.A. Composição química do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), cultivar BRS Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 407-476, 2008.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R.; RODRIGUES, E. V. Feijão-caupi no Brasil: **Produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Terezina: Embrapa Meio-Norte, 2011, 84p.

FREIRE FILHO, F.R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAÚJO, J.P.P. de; WATT, E.E., org. **O caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA/IITA, 1988. p.27-46.

FREITAS, R.M.O. de; DOMBROSKI, J.L.D.; FREITA, C.L. de.; NOGUEIRA, N.W.; PINTO, J.R. de S. physiological responses of cowpea under water stress and rewatering in no-tillage and conventional tillage systems. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 559 -567, 2017.

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

GECHEV, T.S., BREUSEGEM, F.V. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **Bio Essays**, v.28, n.11, p. 1091–1101, 2006.

GUPTA, N.; GAURAV, S.S.; KUMAR, A. Molecular basis of aluminium toxicity in plants: A Review. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n.12, p.21–37, 2013.

GUNTZER, F.; KELLER, C.; MEUNIER, J. D. Benefits of plant silicon for crops: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 1, p. 201-213, 2012.

GRACIANO, E.S.A.; SANTOS, H.R.B.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; Gaseous exchanges, photochemical efficiency and photosynthetic pigments of peanut genotypes under soil water deficit. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.9, n.1, p.27-36, 2016.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, n.6, p.481-494, 2005.

HAIR, J. F.; BLACK, W.; BABIN, B.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise Multivariada de dados**. Porto Alegre: Editora Bookman, 2009. 688 p.

HECKMAN. Silicon: a beneficial substance. **Better Crops**, v.97, n.4, p. 14-16. 2013.

IMTIAZ, M.; RIZWAN, M.S.; MUSHTAQ, M.A.; ASHRAF, M.; SHAHZAD, S.M.; YOUSAF, B.; SA EED, D.A.; RIZWAN, M.; NAWAZ, A.; MEHMOOD, S.; TU, S. Silicon occurrence, uptake, transport and mechanisms of heavy metals, minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects: A review. **Journal of Environmental Management**, v.183, v.3, p. 521-529, 2016.

KABIRI, R.; FARAHDAKSH, H.; NASIBI, F. Effect of drought stress and its interaction with salicylic acid on black cumin (*Nigella sativa*) germination and seedling growth. **World Applied Sciences Journal**, v.18, n.4, p.520-527, 2012.

KAISER, H. F. The application of electronic computers to factor analysis. **Educational and Psychological Measurement**, v. 20, n.1, p. 141-151, 1960.

KAFI, M.; RAHIMI, Z..Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline contents and ion accumulation of purslane (*Portulacaoleracea* L.).**Soil Science Plant & Nutrition** ,v.57, n.2, p.341–347, 2011.

KARUPPANAPANDIAN, T.; WANG, H.; PRABAKARAN, N.; JEYALAKSHMI, K.; KWON, M.; MANOHARON, K.; KIM, W. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.49, n.2, p.168–177, 2011.

KHOSHGOFTARMANESH, A.H.; KHODARAHMI, S.; HAGHIGHI, M. Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress.**Archives of Agronomy and Soil Science**,v. 60,n.5, p.639–653,2014.

LIMA, A.M.de A. CASTRO, V.F.de.;VIDAL,J.B.;ENÉAS-FILHO,J. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse. **Revista Ciência Agronômica**,v. 42, n. 2, p. 398-403,2011.

LIMA, J.V.; LOBATO,A.K.S.Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit.**Physiology Molecular Biology Plants**, v.23,n. 1, p.59-72,2017.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water stress in plants: causes, effects and responses. In RAHMAN, I. M. M, **Water Stress**, Rijeka: INTECH, 2012, p. 1-14.

MANSORI ,M.; CHERNANE, H.; LATIQUE ,S.;BENALIAT ,A.; HSISSOU ,D.;KAOUA ,M.E Seaweed extract effect on water deficit and antioxidative mechanisms in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.).**Journal of applied phycology**,v.27,n.4,p.1689-1698,2015.

MARIJUAN,M.P.;BOSCH,S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, n.12,p.660-666, 2013.

MITRA, J. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants.**Current Science**, v. 80, n. 6, p.758-763, 2001.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. 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.

MOREIRA, A. R.; FAGAN, E. B.; MARTINS, K. V.; SOUZA, C. H. E. Resposta da cultura da soja a adubação de silício foliar. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 3, p. 413-423, 2010.

MORO, A.L.; BROETO, F.; MORO, E. Antioxidative responses, physiological and productive of rice grown under water deficit and silicon fertilization. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 5, p. 3013-3028, 2015.

MOURA, A.R.de.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SILVA, J.A.A.da.; LIMA, T.V.de. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curca* L. sob diferentes regimes hídricos. **Revista Ciência Florestal**, v.26, n.2, p.345-354, 2016.

NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; 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.

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.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; MORAES, J.A.P.V.; BURITY, H.A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.7587, 2005.

NUNES JUNIOR, F.H.N. GONDIM, F.A. FREITAS, V.S. BRAGA, B.B. BRITO, P.O. B de.; MARTINS, K. Crescimento foliar e atividades das enzimas antioxidativas em plântulas de girassol suplementadas com percolado de aterro sanitário e submetidas a estresse hídrico. **Revista Ambiente & Água**, v.12, n.1, p. 71-76, 2017.

NXELE, A. KLEIN, A. NDIMBA, B.K. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. **South African Journal of Botany**, v.108, n.1, p.261–266, 2017.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. **Engenharia Agrícola**, v.25, n.1, p.86-95, 2005.

OLIVEIRA, S. de.; LEMES, E. S.; MENEGHELLO, G. E.; TAVARES, L. C.; BARROS, A. C. S. A. Aplicação de silício via solo no rendimento e na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 5, p. 3029-3042, 2015.

PEREIRA, H. S.; KORNDÖRFER, G. H.; VIDAL, A. A.; CAMARGO, M. S. Fontes de silício para a cultura do arroz. **Scientia Agrícola**, v. 61, n.1 p. 35-42, 2004.

PILON, C.; SORATTO, R. P.; BROETTO, F.; FERNANDES, A. M. Foliar or soil application of silicon alleviate water-deficit stress of potato plants. **Agronomy Journal**, v.106, n.6, p.2325-2334, 2014.

RAHIMI, R.; ROOHI, A. M. V.; ARMAND, N. Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v.4, n. 21, p.1591-1595, 2012.

RODRIGUES, F. A.; OLIVEIRA, L. A.; KORNDÖRFER, A. P. Silício: um elemento benéfico e importante para as plantas. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 134, p. 14-20, 2011.

REIS, T. H. P.; FIGUEIREDO, F. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; BOTREL, P. P. Efeito da associação silício líquido solúvel com fungicida no controle fitossanitário do cafeeiro. **Coffee Science**, v. 3, n.1, p.76-80, 2008.

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, n.1, p.101–107, 2016.

ROCHA, M. M.; VALHO, K. J. M.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, I. S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.3, p.270-275, 2009.

RHEIN, A. F. L.; SANTOS, D. M. M.; LIN, S. D. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob os estresses hídrico e ácido no solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1345-1360, 2011.

SANTOS, C. F.; LIMA, G. P. P.; MORGADO, L. B. Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. **Naturalia**, v. 33, p. 34-44, 2010.

SANTOS, R. RODRIGUES, A.C. BONIFACIO, A. NUNES JUNIOR, A.F.C. TSCHOEKE, P.H. Severidade de antracnose em folhas de sorgo submetido a doses crescentes de silício. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 403-408, 2014.

SAVVAS, D.; NTATSI, G. Biostimulant activity of silicon in horticulture. **Scientia Horticultura**, v. 196,n.30, p. 66-81, 2015.

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

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.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.12, n.1, p.1-26, 2012.

SCHOLANDER, P.F.;HAMMEL,H.T.;HEMMINGSSEN, E.A.;&BRADSTREET, E.D. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v.148, n.3668, p.339-346, 1965.

SILVA,A.C.da.SUASSUNA,J.F.MELO,A.S.de.;COSTA,R.R.;ANDRADE,W.L.de.;SILVA,D.C. da.;Ácido salicílico como atenuador do estresse hídrico na germinação e no desenvolvimento inicial de gergelim.**Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**,v.21, n.3, p.156-162,2017.

SOUSA, J. V.; RODRIGUES, C.R. LUZ, J.M.Q. VALHO, P.C. de.;RODRIGUES,T.M. Foliar application of the potassium silicate in corn: Photosynthesis, growth and yield. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 4, p. 502-513, 2010.

SOUZA, L. C. D.; MOTA SIQUEIRA, J. A.; SOUSA SILVA, J. L.; SILVA, J. N. D.; RESUENO COELHO, C. C.; NEVES, M. G.; LOBATO, A. K. D. 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.

SONOBE K.; HATTORI T.; AN P.; TSUJI W.; ENEJI A. E.; KOBAYASHI S.; KAWAMURA Y.; TANAKA K.; INANAGA S. Effect of silicon application on sorghum root responses to water stress. **Journal of Plant Nutrition**, v.34,n.1, p. 71–82, 2011.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity.**Plant Science**, v.161, n.3, p.613-619, 2001.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.918 p.

TAIZ, L. ZEIGER, E.;MOLLER,I.M.;MURPHY,A.**Fisiologia e desenvolvimento vegetal**.6ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.858 p.

TEIXEIRA, I. R.; SILVA, G. C.; OLIVEIRA, J. P. R.; SILVA, A. G.; PELÁ, A. Desempenho agrônômico e qualidade de sementes de genótipos de feijão caupi na região do cerrado. **Ciência Agrônômica**, v. 41, n.2, p. 300-307, 2010.

TEODORO,P.E.RIBEIRO,L.P.;OLIVEIRA,E.P.de.;CORRÊA,C.C.G.;TORRES,F.E.Acúmulo de massa seca na soja em resposta a aplicação foliar com silício sob condições de déficit hídrico. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 1, p. 161-170, 2015.

TEÓFILO, E. M. et al. Potencial fisiológico de sementes de feijão caupi produzidas em duas regiões do Estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n.3, p. 443-448, 2008.

THILAGAM, V. K., MOHANTY, S., SHAHID, M., TRIPATHI, R., NAYAK, A. K., KUMAR, A. Role of Silicon as Beneficial Nutrient for Rice Crop. **Popular Kheti**, v. 2, n.1, p. 105-107, 2014.

VANTINI, J.S.da. CARLIN, S.D. GIMENEZ, D.P. FERRO, J.A. FERRO, M.I.T. Acúmulo de prolina em raízes de cana-de-açúcar submetidas à seca. **Jaboticabal**, v.44, n.4, p.592-598, 2016.

VENKATACHALAM, P.; JAYALAKSHMI, N.; GEETHA, N.; SAHI, S.V.; SHARMA, N.C.; RENE, E.R.; SARKAR, S.K.; FAVAS, P.J.C. Accumulation efficiency, genotoxicity and antioxidant defense mechanisms in medicinal plant *Acalypha indica* L. under lead stress. **Chemosphere**, v. 171, n.1, p.544-553, 2017.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n.12, p. 1306-1320, 2012.

XU, C.X.; MA, Y.P.; LIU, Y.L. Effects of silicon (Si) on growth, quality and ionic homeostasis of aloe under salt stress. **South African Journal of Botany**, v.98, n.1, p. 26-36, 2015.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v.57, n.3 p.508, 1954.

YIN, L.; WANG, S.; LI, J.; TANAKA, K.; OKA, M. Application of silicon improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of *Sorghum bicolor*. **Acta Physiologia and Plantarum**, v.35, n.11, p.3099-3107, 2013.

YORDANOV, I.; IKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought and stress tolerance. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, especial, p.187-206, 2003.

ZANETTI,L.V.;MILANEZ,C.R.D.;GAMA,V.N.;AGUILAR,M.A.G.;SOUZA,C.A.S;CAMPOS TRINI,E.;FERRAZ,T.M.;FIGUEIREDO,F.A.M.M. de A. Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water déficit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.3, p.215-223, 2016.

## APÊNDICES

**Tabela 5.** Resumo das análises de variância para as variáveis: AFO- área foliar; MST- massa seca total da parte aérea; MFT- massa fresca total da parte aérea; CRA- conteúdo relativo de água; SOD- superóxido dismutase; APX – ascorbato peroxidase; CAT- catalase; PRL- prolina; CAR- carboidratos solúveis totais; PRT- proteínas solúveis totais; VEL- extravasamento de eletrólitos;  $\Psi_w$ - potencial hídrico foliar. Campina Grande, PB,2017.

		Quadrados médios (Estádio V <sub>5</sub> )						
FV	GL	AFO	MST	MFT	CRA	SOD	APX	
Gen (G)	4	4159,86 <sup>(0,00)</sup> **	0,25 <sup>(0,45)</sup>	9,36 <sup>(0,00)</sup> **	134,38 <sup>(0,33)</sup>	0,50 <sup>(0,00)</sup> **	1649,01 <sup>(0,00)</sup> **	
Si	2	1,12 <sup>(0,99)</sup>	0,01 <sup>(0,00)</sup> **	0,17 <sup>(0,86)</sup>	383,78 <sup>(0,04)</sup> *	0,28 <sup>(0,00)</sup> **	1192,79 <sup>(0,00)</sup> **	
Est (W)	1	5468,97 <sup>(0,00)</sup> **	0,15 <sup>(0,00)</sup> **	25,94 <sup>(0,00)</sup> **	1,38 <sup>(0,91)</sup>	0,05 <sup>(0,12)</sup>	33831,34 <sup>(0,00)</sup> **	
Bloco	4	301,26 <sup>(0,76)</sup>	0,03 <sup>(0,19)</sup>	2,06 <sup>(0,15)</sup>	73,71 <sup>(0,63)</sup>	0,00 <sup>(0,87)</sup>	264,80 <sup>(0,12)</sup>	
G x Si	8	1032,56 <sup>(0,13)</sup>	0,03 <sup>(0,23)</sup>	2,38 <sup>(0,05)</sup> *	78,33 <sup>(0,71)</sup>	0,11 <sup>(0,00)</sup> **	8400,23 <sup>(0,00)</sup> **	
G x W	4	2034,44 <sup>(0,01)</sup> **	0,06 <sup>(0,01)</sup> **	3,83 <sup>(0,01)</sup> **	359,20 <sup>(0,01)</sup> **	0,11 <sup>(0,00)</sup> **	5020,18 <sup>(0,00)</sup> **	
Si x W	2	1141,19 <sup>(0,17)</sup>	0,02 <sup>(0,39)</sup>	0,46 <sup>(0,68)</sup>	95,78 <sup>(0,44)</sup>	0,08 <sup>(0,03)</sup> *	11544,79 <sup>(0,00)</sup> **	
G x Si x W	8	765,78 <sup>(0,31)</sup>	0,02 <sup>(0,29)</sup>	1,81 <sup>(0,17)</sup>	100,89 <sup>(0,54)</sup>	0,14 <sup>(0,00)</sup> **	3578,79 <sup>(0,00)</sup> **	
Resíduo	116	649,43	0,02	1,22	116,06	0,02	141,71	
CV (%)		24,73	26,23	20,88	14,99	32,10	14,88	
FV	GL	CAT	PRL	CAR	PRT	VEL	$\Psi_w$	
Gen (G)	4	486,65 <sup>(0,00)</sup> **	16855,68 <sup>(0,00)</sup> **	0,10 <sup>(0,00)</sup> **	0,42 <sup>(0,00)</sup> **	1226,72 <sup>(0,01)</sup> **	17,02 <sup>(0,00)</sup> **	
Si	2	108,60 <sup>(0,00)</sup> **	2778,31 <sup>(0,00)</sup> **	0,11 <sup>(0,00)</sup> **	0,65 <sup>(0,00)</sup> **	1990,03 <sup>(0,00)</sup> **	17,82 <sup>(0,01)</sup> **	
Est. (W)	1	22,38 <sup>(0,01)</sup> **	1280,12 <sup>(0,08)</sup>	0,10 <sup>(0,00)</sup> **	0,62 <sup>(0,00)</sup> **	874,78 <sup>(0,12)</sup>	143,35 <sup>(0,00)</sup> **	
Bloco	4	5,50 <sup>(0,24)</sup>	220,60 <sup>(0,72)</sup>	0,00 <sup>(0,54)</sup>	0,08 <sup>(0,01)</sup> **	695,45 <sup>(0,12)</sup>		
G x Si	8	103,84 <sup>(0,00)</sup> **	11805,46 <sup>(0,00)</sup> **	0,10 <sup>(0,00)</sup> **	0,12 <sup>(0,00)</sup> **	2087,75 <sup>(0,00)</sup> **	12,70 <sup>(0,00)</sup> **	
G x W	4	264,71 <sup>(0,00)</sup> **	2249,79 <sup>(0,00)</sup> **	0,08 <sup>(0,00)</sup> **	0,03 <sup>(0,26)</sup>	1292,57 <sup>(0,01)</sup> **	11,46 <sup>(0,03)</sup> *	
Si x W	2	131,50 <sup>(0,00)</sup> **	8247,84 <sup>(0,00)</sup> **	0,08 <sup>(0,00)</sup> **	0,06 <sup>(0,07)</sup>	728,84 <sup>(0,14)</sup>	70,03 <sup>(0,00)</sup> **	
G x Si x W	8	514,04 <sup>(0,00)</sup> **	20389,53 <sup>(0,00)</sup> **	0,12 <sup>(0,00)</sup> **	0,04 <sup>(0,09)</sup>	503,64 <sup>(0,22)</sup>	17,14 <sup>(0,00)</sup> **	
Resíduo	116	3,99	424,75	3E-4	0,02	373,13	4,23	
CV (%)		17,50	13,36	18,64	9,32	23,39	35,97	

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; Gen: genótipos; Si: silício; W: estresse; CV: coeficiente de variação; \*\*, \*: significativos a 1 e 5%, respectivamente.

**Tabela 6.** Resumo das análises de variância para as variáveis: AFO- área foliar; MST- massa seca total da parte aérea; MFT- massa fresca total da parte aérea; CRA- conteúdo relativo de água; SOD- superóxido dismutase; APX – ascorbato peroxidase; CAT- catalase; PRL- prolina; CAR- carboidratos solúveis totais; PRT- proteínas solúveis totais; VEL -extravasamento de eletrólitos. Campina Grande, PB, 2017.

		Quadrados médios (Estádio V9)					
FV	GL	AFO	MST	MFT	CRA	VEL	SOD
Gen (G)	4	12561,50 <sup>(0,01)**</sup>	0,47 <sup>(0,31)</sup>	13,75 <sup>(0,50)</sup>	49,23 <sup>(0,57)</sup>	11,71 <sup>(0,71)</sup>	1,12 <sup>(0,00)**</sup>
Si	2	2792,86 <sup>(0,50)</sup>	0,17 <sup>(0,64)</sup>	13,86 <sup>(0,43)</sup>	94,87 <sup>(0,24)</sup>	28,93 <sup>(0,27)</sup>	1,75 <sup>(0,00)**</sup>
Est (W)	1	956547,11 <sup>(0,00)**</sup>	42,61 <sup>(0,00)**</sup>	2967,61 <sup>(0,00)**</sup>	242,87 <sup>(0,05)*</sup>	56,45 <sup>(0,11)</sup>	1,99 <sup>(0,00)**</sup>
Bloco	4	12541,21 <sup>(0,01)**</sup>	0,84 <sup>(0,08)</sup>	45,20 <sup>(0,03)*</sup>	1705,86 <sup>(0,00)**</sup>	57,92 <sup>(0,03)*</sup>	0,25 <sup>(0,00)**</sup>
G x Si	8	3087,42 <sup>(0,63)</sup>	0,13 <sup>(0,94)</sup>	9,24 <sup>(0,80)</sup>	61,54 <sup>(0,50)</sup>	28,29 <sup>(0,26)</sup>	0,31 <sup>(0,00)**</sup>
G x W	4	11163,90 <sup>(0,03)*</sup>	0,45 <sup>(0,33)</sup>	13,01 <sup>(0,52)</sup>	70,21 <sup>(0,38)</sup>	35,28 <sup>(0,18)</sup>	0,17 <sup>(0,03)*</sup>
Si x W	2	13020,52 <sup>(0,04)*</sup>	0,12 <sup>(0,72)</sup>	1,76 <sup>(0,89)</sup>	8,95 <sup>(0,87)</sup>	176,38 <sup>(0,00)**</sup>	0,20 <sup>(0,05)*</sup>
G x Si x W	8	4122,61 <sup>(0,42)</sup>	0,42 <sup>(0,38)</sup>	20,33 <sup>(0,27)</sup>	48,22 <sup>(0,67)</sup>	68,85 <sup>(0,00)**</sup>	0,16 <sup>(0,02)*</sup>
Resíduo	116	4033,96	0,39	16,32	67,28	22,27	0,06
CV (%)		26,31	29,36	27,81	14,36	5,10	9,87
FV	GL	APX	CAT	PRL	CAR	PRT	
Gen (G)	4	2141,02 <sup>(0,00)**</sup>	730,40 <sup>(0,00)**</sup>	32422,65 <sup>(0,00)**</sup>	0,004 <sup>(0,00)**</sup>	0,42 <sup>(0,00)**</sup>	
Si	2	6631,50 <sup>(0,00)**</sup>	14,26 <sup>(0,51)</sup>	85185,27 <sup>(0,00)**</sup>	0,005 <sup>(0,01)**</sup>	0,65 <sup>(0,00)**</sup>	
Est (W)	1	11,25 <sup>(0,83)</sup>	1328,66 <sup>(0,00)*</sup>	1392,02 <sup>(0,22)</sup>	0,006 <sup>(0,03)*</sup>	0,62 <sup>(0,00)**</sup>	
Bloco	4	429,62 <sup>(0,15)</sup>	26,06 <sup>(0,31)</sup>	316,81 <sup>(0,85)</sup>	0,001 <sup>(0,27)</sup>	0,08 <sup>(0,01)**</sup>	
G x Si	8	2682,32 <sup>(0,00)**</sup>	446,30 <sup>(0,00)**</sup>	22039,88 <sup>(0,00)**</sup>	0,003 <sup>(0,02)*</sup>	0,12 <sup>(0,00)**</sup>	
G x W	4	2356,94 <sup>(0,00)**</sup>	497,28 <sup>(0,00)**</sup>	15000,89 <sup>(0,00)**</sup>	0,004 <sup>(0,00)**</sup>	0,03 <sup>(0,26)</sup>	
Si x W	2	798,47 <sup>(0,04)*</sup>	6,37 <sup>(0,74)</sup>	36046,92 <sup>(0,00)**</sup>	0,003 <sup>(0,07)</sup>	0,06 <sup>(0,07)</sup>	
G x Si x W	8	7013,34 <sup>(0,00)*</sup>	1004,31 <sup>(0,00)**</sup>	12814,40 <sup>(0,00)**</sup>	0,004 <sup>(0,00)**</sup>	0,04 <sup>(0,09)</sup>	
Resíduo	116	250,25	21,66	939,61	0,001	0,02	
CV (%)		19,18	31,63	13,08	70,60	9,32	

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; Gen: genótipos; Si: silício; W: estresse; CV: coeficiente de variação; \*\*, \*: significativos a 1 e 5%, respectivamente.

**Tabela 7.** Resumo das análises de variância para as variáveis: NVP- número de vagens por planta; MVC- massa de vagens com sementes; MVS – massa de vagens sem sementes; MGP- massa de grãos por planta; EUA- eficiência no uso da água. Campina Grande, PB, 2017.

FV	GL	Quadrados médios (Estádio R5)				
		NVP	MVC	MVS	MGP	EUA
Gen (G)	4	2,39 <sup>(0,00)</sup> **	18,77 <sup>(0,61)</sup>	1,85 <sup>(0,37)</sup>	2,99 <sup>(0,57)</sup>	0,00 <sup>(0,36)</sup>
Si	2	0,08 <sup>(0,87)</sup>	10,19 <sup>(0,69)</sup>	2,96 <sup>(0,18)</sup>	1,04 <sup>(0,77)</sup>	0,00 <sup>(0,67)</sup>
Est (W)	1	96,00 <sup>(0,00)</sup> **	2893,71 <sup>(0,00)</sup> **	193,12 <sup>(0,00)</sup> **	394,24 <sup>(0,00)</sup> **	0,00 <sup>(0,00)</sup> **
Bloco	4	0,95 <sup>(0,20)</sup>	19,63 <sup>(0,58)</sup>	0,48 <sup>(0,89)</sup>	3,22 <sup>(0,53)</sup>	0,00 <sup>(0,73)</sup>
G x Si	8	1,15 <sup>(0,07)</sup>	28,50 <sup>(0,42)</sup>	1,45 <sup>(0,57)</sup>	4,13 <sup>(0,43)</sup>	0,00 <sup>(0,22)</sup>
G x W	4	0,68 <sup>(0,36)</sup>	25,11 <sup>(0,46)</sup>	2,12 <sup>(0,30)</sup>	4,48 <sup>(0,46)</sup>	0,00 <sup>(0,14)</sup>
Si x W	2	0,31 <sup>(0,60)</sup>	39,64 <sup>(0,24)</sup>	5,98 <sup>(0,03)</sup> *	2,55 <sup>(0,36)</sup>	0,00 <sup>(0,38)</sup>
G x Si x W	8	0,74 <sup>(0,30)</sup>	23,10 <sup>(0,57)</sup>	1,09 <sup>(0,75)</sup>	3,80 <sup>(0,49)</sup>	0,00 <sup>(0,63)</sup>
Resíduo	116	0,62	27,80	1,74	4,09	1E-4
CV (%)		41,49	60,55	56,77	62,18	47,52

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; Gen: genótipos; Si: silício; W: estresse; CV: coeficiente de variação; \*\*, \*: significativos a 1 e 5%, respectivamente.

**Tabela 8.** Cargas das variáveis: AFO- área foliar;MST- massa seca total da parte aérea ; MFT- massa fresca total da parte aérea;CRA- conteúdo relativo de água; SOD- superóxido dismutase;APX – ascorbato peroxidase;CAT- catalase; PRL- prolina; CAR- carboidratos solúveis totais ; PRT- proteínas solúveis totais ; VEL– extravasamento de eletrólitos de eletrólitos;PHI- potencial hídrico foliar;: NVP- número de vagens por planta;MVC- massa de vagens com sementes; MVS – massa de vagens sem sementes;MGP- massa de grãos por planta;EUA- eficiência no uso da água;MCG- massa de cem grãos,autovalores e variância relativa dos respectivos Componentes Principais nos estádios fenológicos V<sub>5</sub>,V<sub>9</sub> e R<sub>5</sub> .Campina Grande,PB,2017.

	Estádio V <sub>5</sub> e R <sub>5</sub>				Estádio V <sub>9</sub> e R <sub>5</sub>				
	CP <sub>1</sub>	CP <sub>2</sub>	CP <sub>3</sub>	CP <sub>4</sub>	CP <sub>1</sub>	CP <sub>2</sub>	CP <sub>3</sub>	CP <sub>4</sub>	
CRA	0,00	-0,62	-0,22	0,01	AFO	0,92	0,08	0,05	-0,27
AFO	0,55	-0,69	0,08	0,03	VEL	0,24	-0,16	0,80	0,07
VEL	-0,28	0,42	-0,47	-0,11	MFT	0,92	0,07	0,09	-0,18
MFT	0,67	-0,64	-0,03	0,07	MST	0,93	-0,02	0,13	-0,19
MST	0,50	-0,74	-0,13	0,03	NVP	0,92	-0,02	-0,05	-0,02
NVP	0,82	0,38	-0,20	-0,08	MVC	0,97	0,06	-0,13	0,09
MVC	0,94	0,29	-0,02	0,05	MVS	0,94	0,12	-0,13	0,07
MVS	0,94	0,22	0,09	0,00	MGP	0,97	0,02	-0,12	0,09
MGP	0,92	0,34	-0,03	0,07	EUA	0,73	-0,17	-0,31	0,20
EUA	0,68	0,47	0,22	0,20	CAT	-0,38	0,26	-0,43	-0,33
CAT	-0,01	-0,31	-0,63	0,41	SOD	-0,46	0,58	0,28	0,20
APX	0,42	0,27	0,25	-0,09	PRT	-0,17	-0,12	0,18	-0,87
SOD	-0,02	-0,42	0,43	0,56	CAR	-0,11	-0,78	-0,03	0,00
PRT	0,27	0,58	-0,37	0,38	PRL	0,16	-0,63	0,36	0,13
PHI	-0,57	0,26	0,12	0,52	MCG	0,33	0,65	0,41	0,01
MCG	0,49	-0,55	-0,11	-0,12	-	-	-	-	-
Λ	5,65	3,66	1,19	1,00	Λ	7,30	1,94	1,41	1,13
σ%	35,31	22,90	7,46	6,26	σ%	48,68	12,90	9,38	7,54

λ: autovalor e σ%: variância relativa.

## GENOTYPIC VARIATION ON THE ANTIOXIDATIVE RESPONSE OF COWPEACULTIVARS EXPOSED TO OSMOTIC STRESS<sup>1</sup>

EDILENE DANIEL DE ARAÚJO<sup>2\*</sup>, ALBERTO SOARES DE MELO<sup>2</sup>, MARIA DO SOCORRO ROCHA<sup>2</sup>, REBECA FERREIRA CARNEIRO<sup>2</sup>, MAURISRAEL DE MOURA ROCHA<sup>3</sup>

**ABSTRACT** - The cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], also known as cowpea, is of fundamental socioeconomic importance to the northeast of Brazil, and has become one of the main sources of protein in the diet of the rural population. However, in this region, it has become necessary to identify genotypes that are better adapted to drought. In addition, research is needed regarding the action of substances that promote tolerance to stress factors. The aim of this study was to evaluate the antioxidative response of cowpea cultivars under osmotic stress conditions using potassium nitrate as an attenuator. Five osmotic potentials were tested in the substrate (0.0, -0.2, -0.4, -0.6, and -0.8 MPa), and three seed treatments (pre-soaking in distilled water, pre-soaking in potassium nitrate, and without pre-soaking) were tested in three cowpea cultivars (BRS Itaim, BRS Aracê, and BRS Potengi). The design was randomized with 45 treatments and four replications. The data were submitted to analysis of variance ( $P < 0.05$ ), and in cases of significance, regression analysis was conducted to quantitate the factors. Our results indicate that an increase in proline content in cowpea plants may be seen as indicative of the intensity of water stress on germination and the initial stages of growth of the plant. The BRS Itaim cultivar best tolerates drought conditions with the application of potassium nitrate, given the increased activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase, and ascorbate peroxidase.

**Keywords:** *Vigna unguiculata*. Enzymes. Catalase. Hydrical stress.

## VARIAÇÃO GENOTÍPICA NA RESPOSTA ANTIOXIDATIVA DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI EXPOSTOS AO ESTRESSE OSMÓTICO

**RESUMO** - O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], também conhecido como feijão macassar, representa fundamental importância socioeconômica para o Nordeste do Brasil, constituindo-se como uma das principais fontes proteicas na alimentação da população rural. Todavia, nessa região é necessário identificar genótipos mais adaptados ao déficit hídrico, bem como conhecer a ação de substâncias promotoras de tolerância a fatores de estresse. O objetivo desse trabalho foi avaliar a resposta antioxidativa de cultivares feijão-caupi sob condições de estresse osmótico, utilizando como atenuador o nitrato de potássio. Foram testados cinco potenciais osmóticos no substrato (0,0; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa) e três tratamentos de sementes (pré-embebição em água destilada; pré-embebição em nitrato de potássio e sem pré-embebição) em três cultivares (BRS Itaim, BRS Aracê e BRS Potengi). Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e sementes por repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ( $P < 0,05$ ) e nos casos de significância foi realizada a análise de regressão para fator de natureza quantitativa. Os resultados indicam que um aumento no teor de prolina em feijão-caupi pode ser visto como indicativo da intensidade do estresse hídrico na germinação e nos estágios iniciais de crescimento da planta. A cultivar BRS Itaim tolera melhor as condições de seca com a aplicação de nitrato de potássio, dado o aumento da atividade de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata*. Enzimas. Catalase. Estresse hídrico.

\*Corresponding author

<sup>1</sup>Received for publication in 08/14/2016; accepted in 03/06/2017.

Paper approved from IV CONAC 2016.

<sup>2</sup>Department of Agrarian Sciences, Universidade do Estado da Paraíba, Campina Grande, PB, Brazil; araujo.biologiauebp@outlook.com, alberto@uepb.edu.br, marialirium@hotmail.com, rebecaf90@hotmail.com.

<sup>3</sup>Embrapa, Teresina, PI, Brazil; mmrocha@cpamn.embrapa.br.

## INTRODUCTION

Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], also known as “feijão-de-corda” and “feijão-macassar,” is one of the main food sources in the north and northeast regions of Brazil, and is a basic food of the low-income population (NASCIMENTO et al., 2011); in addition to its nutritive importance, it generates employment and income for these regions (FREIRE FILHO, 2011).

As with other crops of economic importance, the cowpea is subject to various abiotic factors that affect its growth, development, and yield. Among these factors, water availability is the most limiting. In northeast Brazil, water scarcity is a common condition that reduces the yield of cowpea and other important crops (MENDES et al., 2007).

This reduction in water availability can affect the metabolism of the plant by leading to morphophysiological and biochemical alterations such as reduction of leaf area, stomatal closure, growth of the root system, and increase in enzymatic activity (TAIZ; ZEIGER, 2013).

In addition to restrictions in nutrient acquisition, water stress causes oxidative stress through excessive production of reactive oxygen species (ROS). To eliminate ROS, plants use antioxidant enzymatic systems that produce superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) as their primary defense against these free radicals (LISAR et al., 2012).

Potassium nitrate has been studied in various agricultural crops to understand its mechanisms of action in species such as melon (ANDRADE JÚNIOR et al., 2011), “pau-d’alho” (LOPES et al., 2015), and cabbage (KAISER et al., 2016), cultivated under saline conditions. However, studies related to potassium nitrate and water deficiency in cowpea remain scarce.

This study aimed to characterize the morphophysiological and antioxidative responses of cowpea genotypes to water-deficit conditions, using potassium nitrate as an attenuator.

## MATERIAL AND METHODS

The study was carried out from January to May 2016, in the Laboratory of Ecophysiology of Cultivated Plants (ECOLAB), located in the Três Marias Integrated Research Complex, at the State University of Paraíba, Campus I, Campina Grande, Paraíba.

Three cowpea cultivars were used (BRS Itaim, BRS Aracê, and BRS Potengi), in a  $3 \times 3 \times 5$  factorial scheme, subjected to three conditions in the pre-sowing (NI = no imbibition; IPW = imbibition in purified water, and IPN = imbibition in potassium nitrate [ $10^{-5}$  M]). Imbibition treatments were 8 hours

long with five different water potentials, induced by polyethylene glycol 6000 (PEG 6000), during germination and initial growth ( $-0.8$ ,  $-0.6$ ,  $-0.4$ ,  $-0.2$  MPa, and  $0$  = purified water), which, factorially combined, resulted in 45 treatments.

The seeds were initially selected to eliminate those with physical or biological damage and/or malformation. After selection, they were weighed and transferred to a spinning roll, built using PVC tubing, in addition to a fungicide (Captan®) at a dose of  $0.22 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  of seed, maintained under rotation for 5 minutes; afterward, the seeds remained at rest for 24 hours. After this period, the seeds were divided into three groups, two of which were wrapped in rolls of paper towel (BRASIL, 2009) for later imbibition in potassium nitrate solution ( $10^{-5}$  M) indistilled water for a period of 8 hours. The third group was maintained in a polyethylene terephthalate bottle, sealed for the same period, to avoid any alteration in the moisture content of the seeds.

After the imbibition period, all seeds were distributed into acrylic boxes (Gerbox®), 50 seeds per box, containing four sheets of Germitest® paper, previously moistened with purified water and osmotic solutions of PEG 6000 ( $-0.8$ ,  $-0.6$ ,  $-0.4$ , and  $-0.2$  MPa) at a proportion of  $2.5 \text{ g } \text{g}^{-1}$  of paper. The boxes were then sealed with plastic film and weighed on an analytical scale to obtain the total weight (box + paper + seeds + plastic film), which was used as a reference in the daily replacement of water. Last, the boxes were placed in a biochemical oxygen demand germination chamber regulated at  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  with a photoperiod of 12 hours (BRASIL, 2009), where they remained for 14 days. Water consumption was monitored daily by weighing the boxes; the water was replaced until the initial weight of the set (box + paper + seeds + plastic film) was achieved.

The quantity of PEG 6000 necessary for each osmotic solution was determined using the equation proposed by Michel and Kaufmann (1973). The dilution was performed in 200 mL of purified water ( $25^\circ\text{C}$ ), which was then added to 100 mL of the same solvent. Last, the solution was maintained in sealed glass flasks at ambient temperature to minimize water loss and, consequently, any alteration in the potential, until the moment of use.

Over the 13 days of the experiment, germination was evaluated by counting, considering as germinated seeds those with a radicle with a minimum length of 2 mm (REHMAN et al., 1996). These data were used to calculate the final germination percentage (G%) and germination speed index (GSI) (CARVALHO; CARVALHO, 2009).

After radicle lengths were measured, with a ruler in centimeters, the parts of the seedlings (stem) were organized separately in paper bags, properly identified, and placed in a forced-air oven at a temperature of  $65^\circ\text{C}$  for 48 hours, after which, the total dry phytomass (TDP) was obtained using an

analytical scale.

At the end of the experiment (14th day), the primary leaves (PL) of the most representative and tallest seedling of each treatment were randomly collected to quantify the activities of the antioxidant enzymes (SOD, APX, and CAT) and proline as an indicator of osmoregulation.

For enzymatic extraction, 200 mg of the fresh material (leaf) was ground, separately, in 2 mL of potassium phosphate buffer (final concentration, 50 mM; final pH 7) added to ascorbic acid (0.1 mM), ethylenediaminetetraacetic acid (0.1 mM), and polyvinylpyrrolidone (5%). The extracts were then centrifuged at 20,000 rpm at a temperature of 4°C for 15 minutes. The supernatant was vacuumed, allocated in Eppendorf® tubes, and maintained in a refrigerator until the analyses.

CAT activity was measured following the oxidation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 240 nm. The enzymatic reaction of the extract was determined in the presence of the 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) containing 20 mM of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The reaction was monitored every 15 seconds, at an absorbance of 240 nm, for 90 seconds (SUDHAKAR; LAKSHMI; GIRIDARAKUMAR, 2001). CAT activity was expressed in nanomoles of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> per gram of fresh matter per minute. Proline concentration was determined according to the methodology described by Bates, Waldren and Teare (1973), determined based on the standard curve of L-Proline, with results expressed in nanomoles per gram of fresh matter and the reading was performed in a spectrophotometer at 520 nm of absorbance.

The activity of the SOD was determined by the inhibition of the photoreduction of the nitrotetrazole blue chloride (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971). Aliquots of 0.1 mL of the protein extract were transferred to test tubes containing reaction medium composed of the 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), ethylenediaminetetraacetic acid (0.1 mM), L-methionine (13 mM), and nitrotetrazole blue chloride (75 µM).

The reaction was initiated by the addition of 2 µM riboflavin, followed by illumination of the reaction medium with 30-W fluorescent lamps in a closed box. After 5 minutes, the reaction was interrupted by turning off the lights; the readings were performed at 560 nm. One unit of the SOD activity was expressed in UA g<sup>-1</sup> dry matter per minute.

To measure APX activity, the consumption of ascorbate was detected by the decrease in absorbance at 290 nm (NAKANO; ASADA, 1981). Aliquots of 0.1 mL of the extract were transferred to test tubes containing 2.7 mL of the 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.0) and 0.8 mM L-ascorbate.

The reaction was initiated by the addition of hydrogen peroxide (2 mM) and the enzymatic activity was expressed in nanomoles of per gram of fresh matter per minute.

The experimental design was completely randomized, with four replicates; the experimental plot comprised 50 seeds (BRASIL, 2009). The data of the response variables were subjected to analysis of variance by F test ( $P \leq 0.05$ ) and the regression models, for the quantitative factor, were fitted according to the coefficient of determination up to a 0.05 significance level. The analyses and graphs were made using Sisvar v. 5.3, Microsoft Excel, and Table Curve 2D.

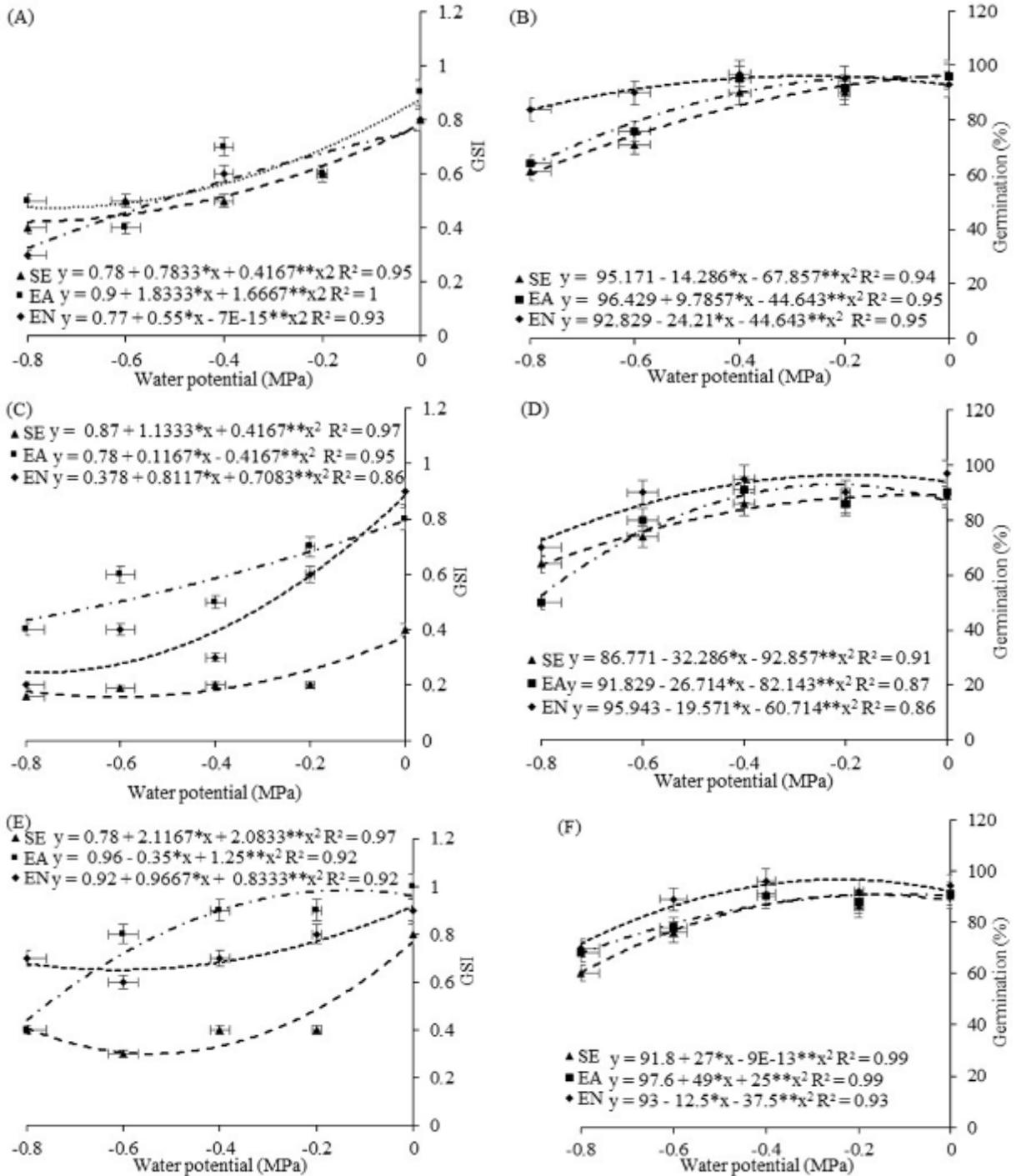
## RESULTS AND DISCUSSION

There was significant interaction between the seedlings that were soaked and not soaked in distilled water and potassium nitrate and subjected to water potentials for the GSI, G%, seedling height (SH), total dry phytomass (TDP), activities of superoxide dismutase (SOD, CAT, APX, and proline (Figures 1–4).

The observation of the germination capacity of seeds under stress is one of the most common methods for determining the tolerance level of plants, as it corresponds to one of the most critical stages in the plant life cycle (MOTERLE et al., 2008).

The highest GSI values were equal to 0.9 IPW (Figure 1A), IPN (Figure 1C), and dry weight (Figure 1E) at 0.0 MPa, respectively. The reductions were estimated from the values of 50% NI, 44.44% IPW, and 62.50 IPN for the cultivar BRS Itaim, obtained through a decreasing quadratic fit, in the seeds hydroconditioned in solutions with a water potential of 0 MPa, for the respective variables.

The results in Figure 1 (B, D, and F) demonstrate that the imbibition in PN for the three cultivars (BRS Itaim, BRS Aracê, and BRS Potengi) positively influenced the germination percentage at the water potential of -0.4 MPa, despite showing a slight reduction in comparison to the potential of -0.8 MPa. The imbibitions of the seeds rapidly reach stage II in which there is enzyme activation for the membranes and organelles, such as mitochondria, responsible for the digestion of the reserves (carbohydrates, proteins, and lipids). This results in the increase in the concentration of metabolites in the cell protoplasm and, consequently, a decrease in the osmotic potential (more negative water potential) in the seed (GUIMARÃES; DIAS; LOUREIRO, 2008), which limits water loss to the substrate because movement of water occurs from a region of higher water potential (less negative) to a region of lower water potential (more negative).



**Figure 1.** Germination speed index - GSI (A, C and E), Germination – G (B, D and F) of the cowpea cultivars: ‘BRS Itaim’ (A and B), ‘BRS Aracê’ (C and D) and ‘BRS Potengi’ (E and F), conditioned during pre-sowing and subjected to different water potentials induced by PEG 6000. NI - no imbibition; IPW - imbibition in purified water and IPN - imbibition in nitrate.

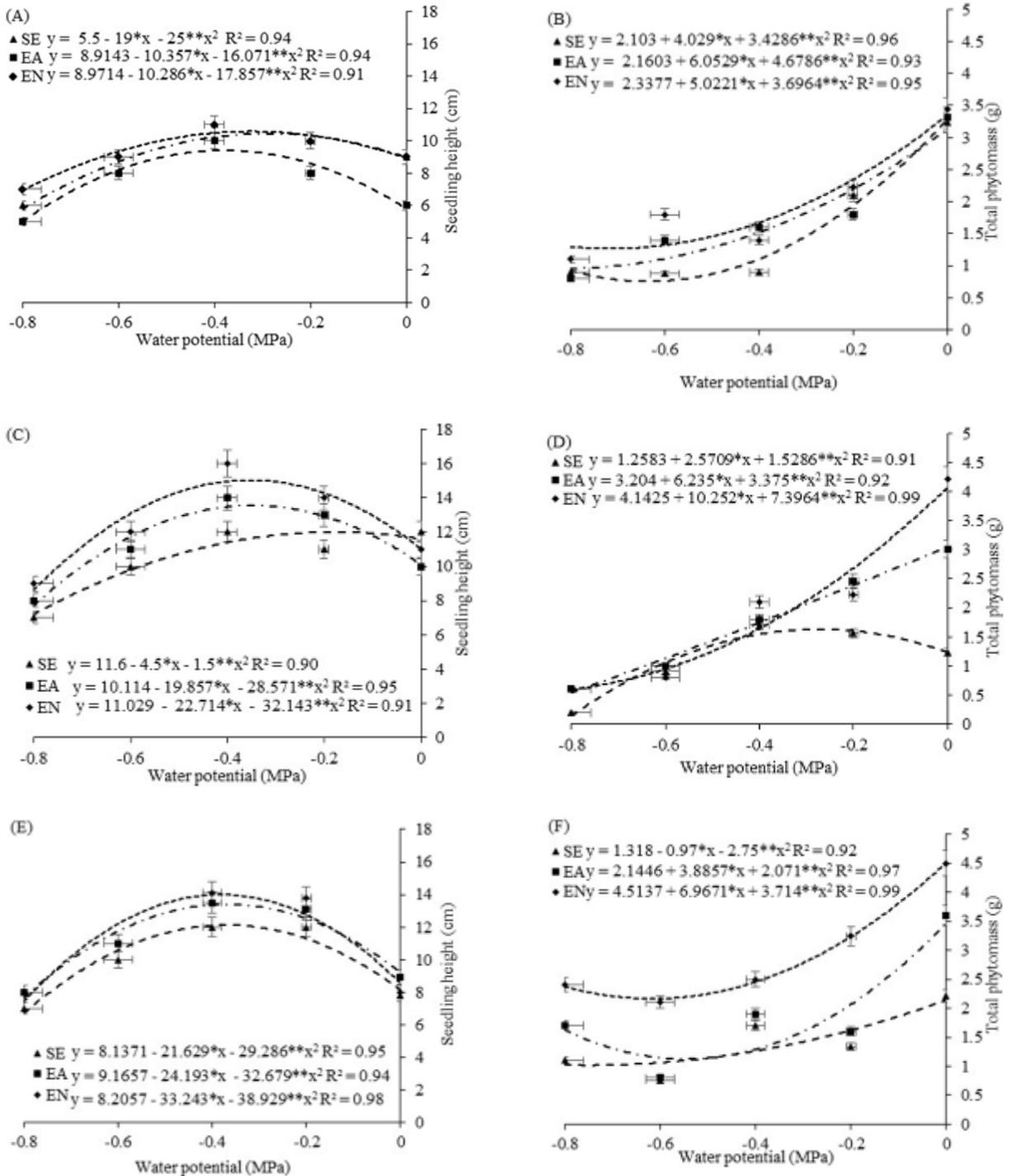
Both in the absence and presence of PN in the cowpea cultivars, there were higher height values at the water potential of -0.4 MPa (Figure 2, A, C, and E) in the seedlings of three cultivars. In the present study, the decrease in the water potentials negatively influenced seedling height and total dry phytomass (TDP) of the cowpea cultivars, especially those not subjected to imbibition during the pre-sowing (Figure 2). With the imbibition of the

seeds in IPN, there was a significant improvement in the growth parameters (seedling height and TDP) of the cowpea cultivars (Figure 2), reinforcing the hypothesis that the IPN acts as an efficient growth regulator and modulator of numerous responses in plants (PRAZERES et al., 2015).

The effect of different water potentials on the physiology and morphology of various species, such as common bean (CUSTÓDIO; SALOMÃO;

MACHADO NETO, 2009; YAMAMOTO et al., 2014), wheat (GIROTTO et al., 2012), and sunflower (HÄTER et al., 2014) has been intensively studied in order to elucidate the effects of water deficiency, as well as the mechanisms of response to the water stress. The authors, evaluating the effect of different water potentials during germination and

initial growth stages, observed a decrease in growth with an increase in water restriction, a behavior explained by the reduction in cell elongation, with a consequent increase in the synthesis of the secondary wall under water stress (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).



**Figure 2.** Seedling height - SH (A, C and E), total dry phytomass - TDP (B, D and F) of the cowpea cultivars: ‘BRS Itaim’ (A and B), ‘BRS Aracê’ (C and D) and ‘BRS Potengi’ (E and F), conditioned during the pre-sowing and subjected to different water potentials induced by PEG 6000. NI – no imbibition; IPW – imbibition in purified water and IPN – imbibition in nitrate.

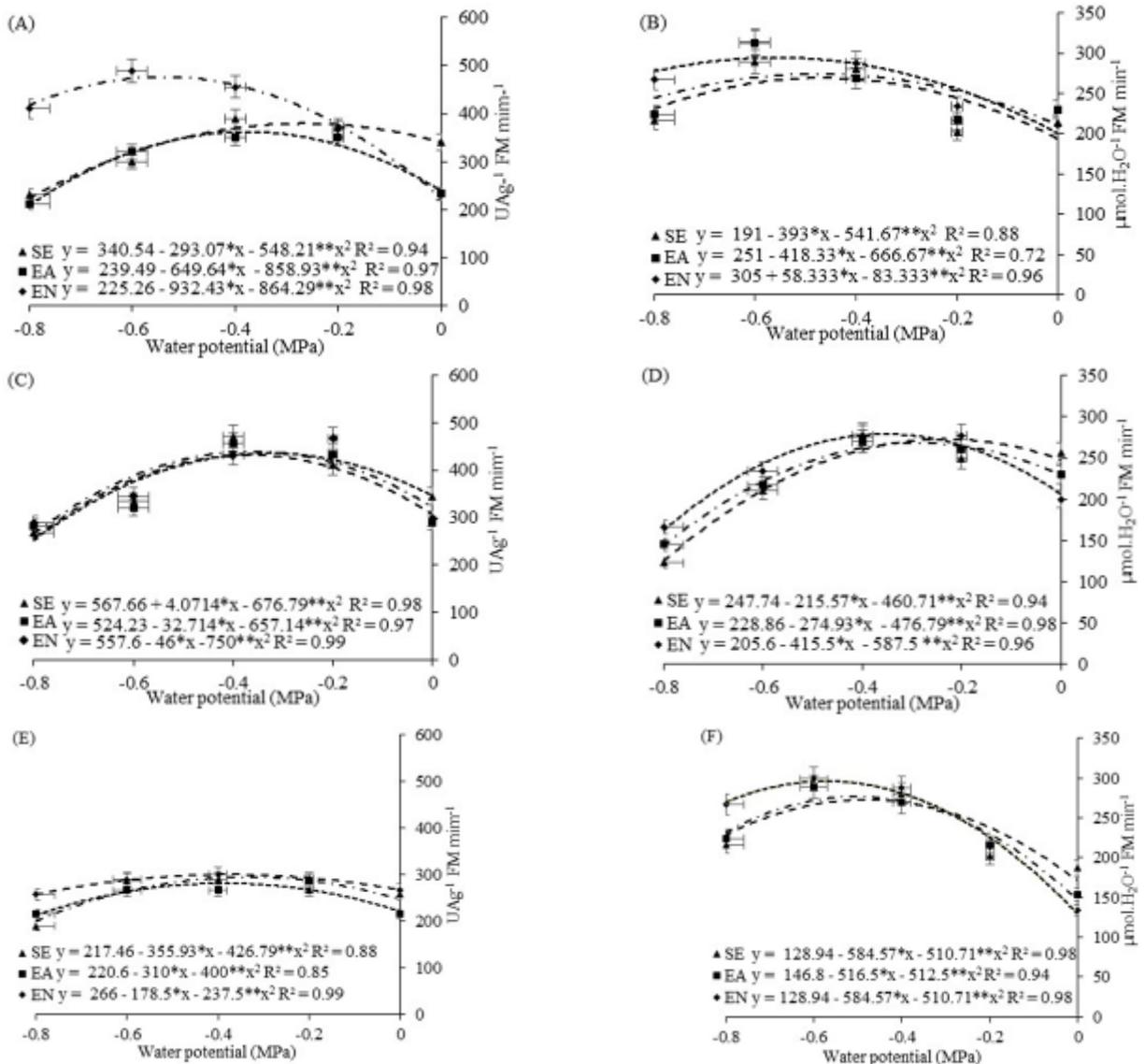
It was possible to observe, in the cowpea seedlings subjected to the most negative potential (-4.0 MPa), that the reduction of growth in seedling height and TDP is dependent on the interaction of conditioning × cultivar, which is usually higher than 50%. Giroto et al. (2012), evaluating the behavior of wheat genotypes at different water potentials induced by PEG 6000 and mannitol, observed that at a potential of -0.4 MPa, or at more negative potentials, the growth of the seedlings decreased by at least 50%, but varied among the genotypes.

Regarding the cultivars, the greatest increment in TDP was also observed in the cultivar BRS Potengi (0.56 g/plant), whereas the lowest value (0.20 g/plant) was observed in the cultivar BRS Itaim (Figure 2B). In these cultivars, the imbibition in PN improved the TDP of the seedlings at the potentials of 0 and -0.4 MPa (Figure 2B). The same was observed in BRS Potengi subjected to the

negative potential of 0.4 MPa (Figure 2F). However, at the other potentials, there were no significant differences between the TDP of seedlings from seeds soaked in IPW and IPN (Figure 2B).

Water potential, in addition to the conditioning of the seeds in the pre-sowing, altered SOD activity in the cotyledon leaves (SOD CL) of cowpea (Figure 3). In general, seed imbibition positively influenced SOD CL activity (Figure 3).

The imbibition in IPN led to a significant increase in the SOD activity of all cultivars (Figure 3A) when exposed to a water potential of -0.6 MPa. It should be pointed out that the highest SOD value (476.75 UA g<sup>-1</sup> FM minute<sup>-1</sup>), with the imbibition in IPN, was obtained in BRS Itaim cultivated at the potential of 0.6 MPa, of SOD CL between the potentials of -0.6 and -0.4 MPa (Figure 3, C and E), which was superior to all activities recorded in the other cultivars.



**Figure 3.** Activity of superoxide dismutase - SOD (A, C and E), Catalase - CAT (B, D and F) of the cowpea cultivars: ‘BRS Itaim’ (A and B), ‘BRS Aracê’ (C and D) and ‘BRS Potengi’ (E and F), conditioned during the pre-sowing and subjected to different water potentials induced by PEG 6000. NI – no imbibition; IPW – imbibition in purified water and IPN – imbibition in nitrate.

The CAT activity in cotyledon leaves (CAT CL) decreased with the increase in water restriction in all cowpea cultivars (Figure 3, B, D, and F), regardless of the conditioning, and there was a decrease in the activity of this enzyme at the water potential of  $-0.4$  MPa (Figure 3).

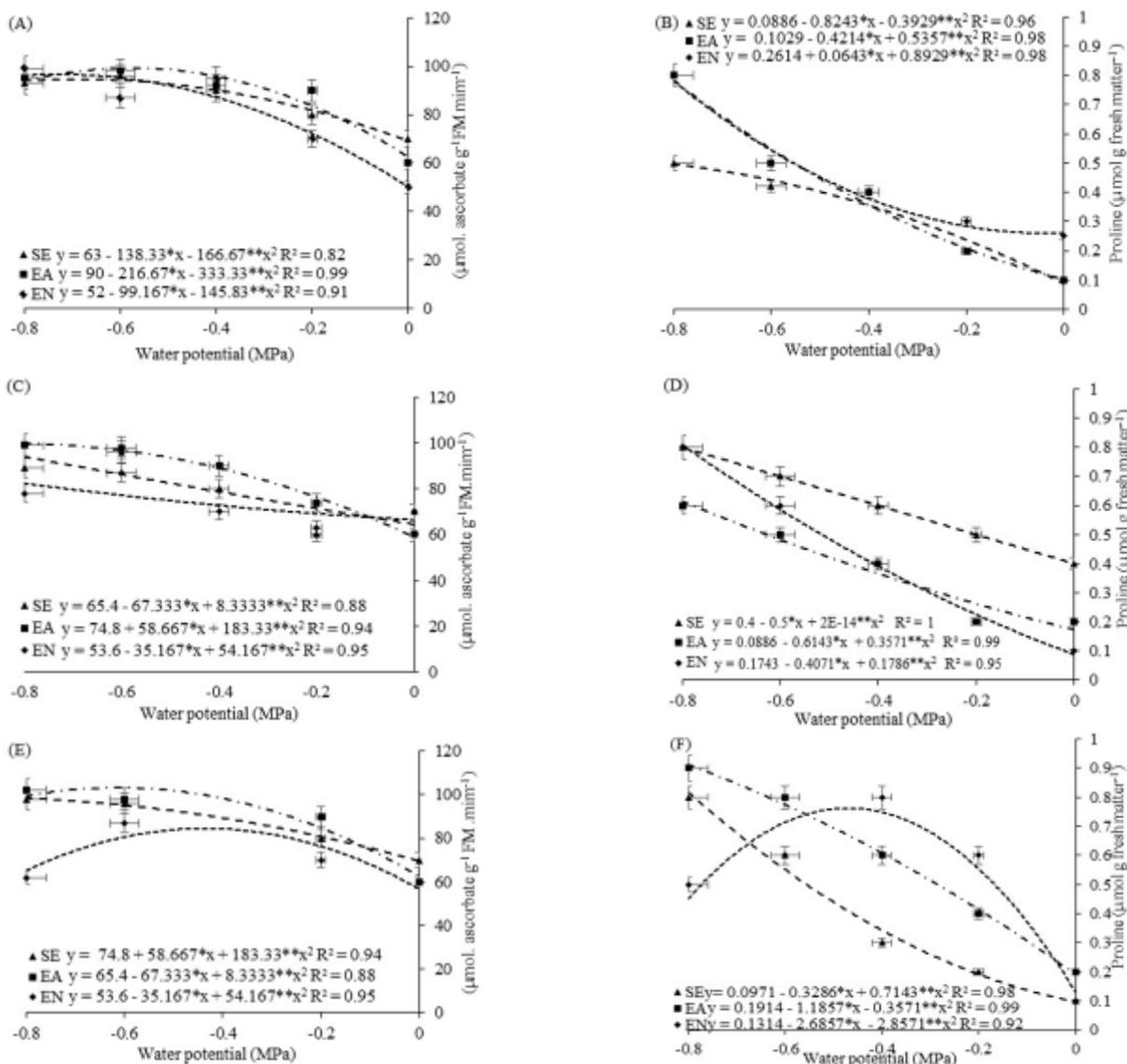
The imbibition in IPN significantly influenced CAT CL activity (Figure 3) with respect to NI and IPW. It should be highlighted that the imbibition of the seeds in IPW resulted in significantly lower CAT CL activity than that observed for NI (Figure 3).

The highest values of CAT CL were observed in the cultivar BRS Itaim; the PN led to higher CAT activity in the cotyledon leaves by 315.21% than did the treatments NI and DW, respectively (Figure 3B).

The occurrence of these environmental stresses can increase or decrease CAT activity in plants, and the behavior depends on the intensity,

duration, and type of stress (SHARMA et al., 2012). In cowpea subjected to water deficiency, there was an increase in CAT activity in the leaves as the stress become more intense, but it decreased again as the plants were rehydrated (SILVA, 2014). In sunflower plants subjected to different osmotic potentials, there was an increase in CAT activity due to increased water restriction (BALOĞLU et al., 2012). The opposite was observed in rice (SHARMA; DUBEY, 2005) and thale cress (*Arabidopsis thaliana*) (HE et al., 2014), where CAT activity decreased with increased water stress.

In the present study, APX was more expressive in the leaf (APX L) of all cultivars evaluated. In terms of conditioning, imbibition improved APX activity in the cowpea cultivars, with a superiority of IPW for APX L (Figure 4), whereas the APX L activity was significantly increased with the PN.



**Figure 4.** Activity of the enzyme ascorbate peroxidase - APX (A, C and E), Proline – PRO (B, D and F) of the cowpea cultivars: ‘BRS Itaim’ (A and B), ‘BRS Aracê’ (C and D) and ‘BRS Potengi’ (E and F), conditioned during the pre-sowing and subjected to different water potentials induced by PEG 6000. NI – no imbibition; IPW – imbibition in purified water and IPN – imbibition in nitrate.

This increase in APX L activity may have allowed greater control of the levels of hydrogen peroxide in the cell, avoiding damage caused by oxidative stress, which induces the cultivar to adapt to the water deficit, with significant reflexes on the accumulation of TDP (Figure 4, A, C, and E).

Conversely, there was a significant effect of IPN on APX L activity in the cultivar BRS Potengi, which was greater in seedlings subjected to the more negative potentials ( $-0.8$  MPa) and at  $0$  MPa (Figure 4E). For the other cultivars (BR Itaim and BRS Aracê), the increments caused by the PN application were observed at the intermediate potentials ( $-0.4$  to  $-0.8$  MPa) (Figure 4, A, C, and E).

APX is a central component of the glutathione-ascorbate cycle with an essential role in intracellular control of ROS levels (SHARMA et al., 2012). APX has greater affinity for  $H_2O_2$  than CAT, using two ascorbate molecules to reduce hydrogen peroxidase to water, with simultaneous generation of two molecules of monohydroascorbate. APX expression was higher in plants during the different stress conditions, which may be an important mechanism of control in the overgeneration of ROS (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

In the present study, the decrease in water availability gradually increased the concentration of free proline in the leaves (PRO L) of the cowpea cultivars (Figure 4, B, D, and F), regardless of the conditioning, which is consistent with the behavior observed in various crops subjected to water deficit, which include cowpea (COSTA et al., 2011; SILVA, 2014), common bean (AGOSTINI; MACHADO-NETO; CUSTÓDIO, 2013; YAMAMOTO et al., 2014), pigeon pea (MONTEIRO et al., 2014), and sunflower (BALOĞLU et al., 2012).

Regarding the types of conditioning, the lowest PRO L concentrations were obtained in seedlings from seeds with imbibition, especially in distilled water, a result contrary to that observed in seedlings from seeds without imbibition (Figure 4). In comparison to ED, the IPN treatment improved the PRO L accumulation in the cowpea cultivars, suggesting that PN participates in the activation of the osmoregulatory mechanism of the crop. A similar behavior was observed in common bean plants exposed to water deficit induced by PEG (AGOSTINI; MACHADO-NETO; CUSTÓDIO, 2013; YAMAMOTO et al., 2014).

The cultivars with highest PRO L concentration (BRS Itaim and BRS Aracê) achieved the best results for the parameters of germination, growth, and phytomass accumulation (Figures 1 and 2), in addition to having higher antioxidant activity (Figure 3). Thus, it can be inferred that proline acts as a signaling molecule for water stress in cowpea, and its concentration is directly proportional to the level of damage. Monteiro et al. (2014) report that proline is a biochemical and physiological indicator

of the effects of salt and water stresses on pigeon pea seedlings; however, these authors did not observe improvements in the growth parameters with the increase of proline in pigeon pea plants under more severe stress.

## CONCLUSIONS

The genotypic variation of cowpea seeds in solution with osmotic concentration potentials of  $-0.4$  MPa PEG 6000, soaked in nitrate, promotes an increment in germination percentage, emergence speed index, seedling height, activity of SOD, CAT, APX, and proline. Among the cultivars studied, BRS Itaim better tolerates the reduction of water potentials with the PN application, given the increase in the activity of the antioxidant enzyme, CAT, in cowpea seedlings.

## ACKNOWLEDGMENTS

To the State University of Paraíba (UEPB) and the Laboratory (ECOLAB), for providing the facility and staff; to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), for granting the scholarship (DCR) and financial support, through the Paraíba Research Support Foundation (FAPESQ).

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, E. A. T.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Induction of water deficit tolerance by cold shock and salicylic acid during germination in the common bean. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 209-219, 2013.
- ANDRADE JÚNIOR, W. P. A. et al. Efeito do nitrato de potássio na redução do estresse salino no meloeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 3, p. 110-119, 2011.
- BALOĞLU, M. C. et al. Antioxidative and physiological responses of two sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars under PEG-mediated drought stress. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 36, n. 6, p. 707-714, 2012.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, Cham, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase – improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New

York, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretária de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395 p.

CARVALHO, N.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 4. ed., Jaboticabal, SP: 2000. 588 p.

CARVALHO, R. I. N.; CARVALHO, D. B. Germinação de sementes de um ecótipo de paspalum da região de Guarapuava- Pr. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 1187-1194, 2009.

COSTA, R. C. L. et al. ABA-mediated proline synthesis in cowpea leaves exposed to water deficiency and rehydration. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 35, n. 3, p. 309-317, 2011.

CUSTÓDIO, C. C.; SALOMÃO, G. R.; MACHADO NETO, N. B. Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas a diferentes soluções osmóticas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 4, p. 617-623, 2009.

FREIRE FILHO, F. R. **Feijão-caupi no Brasil: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. 1. ed. Teresina, PI: EMBRAPA MEIO-NORTE, 2011. 84 p.

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

GIROTTO, L. et al. Tolerância seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 192-199, 2012.

GUIMARÃES, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; LOUREIRO, M. E. Hidratação de sementes. **Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 2, n. 1, p. 31-39, 2008.

HÄTER, L. S. H. et al. Physiological and biochemical performance of sunflower seeds subjected to different osmotic potentials. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2014.

HE, Q. et al. Endogenous salicylic acid levels and signaling positively regulate Arabidopsis response to polyethylene glycol-simulated drought stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 33, n. 4, p. 871-880, 2014.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

LISAR, S. Y. S. et al. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: RAHMAN, I. M. M. (Ed.). **Water Stress**. Rijeka: Intech, 2012. cap. 1, v. 1, p. 1-14.

LOPES, J. C. et al. Germinação e vigor de sementes de pau d'alho sob estresse salino. **Brazilian Journal of Forestry Research**, Colombo, v. 35, n. 82, p. 169-177, 2015.

MENDES, R. M. S. et al. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 1, p. 95-103, 2007.

MICHEL, B. E. KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Rockville, v. 51, n. 5, p. 914-916, 1973.

MONTEIRO, J. G. et al. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 1, p. 18-25, 2014.

MOTERLE, L. M. et al. Influência do estresse hídrico sobre o desempenho fisiológico de sementes de híbridos simples de milho-pipoca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1810-1817, 2008.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NASCIMENTO, S. P. et al. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011.

PRAZERES, S. S. et al. Crescimento e trocas gasosas de plantas de feijão-caupi sob irrigação salina e doses de potássio. **Revista Agr@ambiente**, Boa Vista, v. 9, n. 2, p. 111-118, 2015.

REHMAN, S. et al. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of Acacia seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 1, p. 45-57, 1996.

SILVA, A. R. F. **Componentes de produção e fisiológicos em ecótipos de Vigna sob reposição hídrica**. 2014.86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias; Área de concentração em

Agrobioenergia e Agricultura Familiar) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidant defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, Cairo, v. 2012, n. 1, p. 1-26, 2012.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. M. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdã, v. 162, n. 8, p. 854-864, 2005.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, Amsterdã, v. 161, n. 3, p. 613-619, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013. 918 p.

YAMAMOTO, C. J. T. et al. Water-deficit tolerance induction during germination of Jalo Precoce bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar. **Acta Physiologiae Plantarum**, Berlin, v.36, n.11, p.2897-2904, 2014.