

**ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT
HÍDRICO NAS FASES DE GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL
DE FEIJÃO CAUPI**

WELLISON FILGUEIRAS DUTRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAIBA

CAMPINA GRANDE – PB

FEVEREIRO DE 2015

**ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT
HÍDRICO NAS FASES DE GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL
DE FEIJÃO CAUPI**

WELLISON FILGUEIRAS DUTRA

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 (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo

CAMPINA GRANDE – PB

FEVEREIRO DE 2015

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

D978a Dutra, Wellison Filgueiras.

Ácido salicílico como indutor de tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial de feijão Caupi [manuscrito] / Wellison Filgueiras Dutra. - 2015.
97 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2015.

"Orientação: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".

1. *Vigna unguiculata* (L.) Walp. 2. Atividade antioxidante.
3. Ajustamento osmótico. I. Título.

21. ed. CDD 635.652

**ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT
HÍDRICO NAS FASES DE GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL
DE FEIJÃO CAUPI**

WELLISON FILGUEIRAS DUTRA

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 (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar.

Aprovada em 11 de fevereiro de 2015

Banca Examinadora:



**Prof. Dr. Ronaldo do Nascimento (D. Sc., Fisiologia Vegetal)
Universidade Federal de Campina Grande- UFCG
Examinador**



**Prof. Dr. Liziane Maria de Lima (D. Sc., Ciências Biológicas)
Embrapa Algodão
Examinador**



**Prof. Alberto Soares de Melo (D. Sc., Recursos Naturais)
Universidade Estadual da Paraíba
Orientador**

Ao Grande Arquiteto do Universo.

Aos meus pais, Genilson Dutra e Joseni Filgueiras.

Aos meus irmãos, Alexson e Andresa Wrielly.

Aos meus avós Pedro Belino, Francisco e Francisca Filgueiras (in memoriam).

A minha avó Maria Celestina.

A todos os demais familiares e amigos.

Ofereço

*Ao grande amor da minha vida, presente desde os momentos mais sórdidos
até os considerados mais importantes de minha vida...*

Ao sentimento que juntos alimentamos dia a dia, durante os últimos 5 anos e 8 meses...

A seu jeito atencioso e sempre prestativo de ser, regado a um carinho muito peculiar...

Enfim... A minha esposa Kamilla Maria Targino Maia...

Dedico

AGRADECIMENTOS

A DEUS, o Grande Arquiteto do Universo, pela oportunidade de estar vivo, por iluminar meus passos e me proteger de tudo o que não me acrescenta.

Aos meus pais, GENILSON e JOSENI, pelo carinho, compreensão, amizade, educação, os puxões de orelha, quando se fez necessário, me fazendo ver melhor o que é a vida. Agradeço ainda por acreditarem nos nossos sonhos e não medir esforços para que os filhos tenham a chance de torná-los realidade.

Aos irmãos, ALEXSON e ANDRESA WRIELLY, pelo carinho, a companhia, os conselhos, a confiança e por sempre estarem disponíveis quando solicitado.

A minha amada KAMILLA MARIA, pela presença constante em minha vida, sempre cheia de amor, carinho e atenção. Por confiar e dividir comigo sonhos.

Aos FAMILIARES, de sangue e aos que conquistei na união com minha esposa, pelo o carinho e força concedida quando precisei.

Aos AMIGOS pela amizade sincera e incondicional.

Ao meu orientador PROF. ALBERTO SOARES DE MELO, pela amizade e confiança depositada. Por todos os ensinamentos e pelo exemplo profissional, que serão fundamentais a minha jornada como professor.

Aos MEMBROS DO ECOLAB, em especial a Prof^a Maria Rocha, o Prof. Janivan Suassuna, a Duval, Adriana, Rayssa, Emannuella, Andrezza, Rebeca e Jaqueline, pelo apoio, companheirismo, força e por dividir comigo as atividades de pesquisa.

Ao PROF. JOSÉ GERMANO VERAS NETO, por ceder gentilmente as estruturas do LABDEM, especialmente o purificador de água, quando necessário.

Aos técnicos RENATA e ROBSON, pelo auxílio em relação ao uso dos equipamentos do laboratório de Entomologia e do Herbário.

Ao PROF. MARCOS ERIC BARBOSA BRITO e ALDEMIR DA SILVA, por disponibilizar as sementes para a realização do experimento.

Ao PE. ROBERTO DA SILVA da ETER, por ceder gentilmente o solo, mesmo não sendo utilizado no presente trabalho.

Ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS (PPGCA) da UEPB/Embrapa Algodão, pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos e galgar novos desafios em minha vida.

Ao CORPO DOCENTE do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, em especial os professores Alberto Soares de Melo, José Germano Veras Neto, Pedro Dantas Fernandes, Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses, Roseane Cavalcante dos Santos, Liziane Maria de Lima, que tive o privilégio e a oportunidade de conviver em sala de aula, e a Josemir Moura Maia que sempre me ajudou quando solicitado.

Ao SECRETÁRIO DO PPGCA, e amigo, Danilo Cavalcante de Sousa Forte, pela atenção e prestatividade.

Aos MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA, Prof. Dr. Ronaldo do Nascimento e Prof^ª. Dr^ª. Liziane Maria de Lima, pela atenção e as contribuições ao trabalho.

Aos demais PROFESSORES E MESTRES do ensino fundamental, médio e da graduação, em especial TIA DOMERINA, pelos ensinamentos, o carinho, o exemplo de dedicação, de superação, de força de vontade e, acima de tudo, de amor à vocação de lecionar.

Aos COLEGAS de curso, Adriana, Ana Lígia, Ciro, Gean, Geisenilma, Ingredy, Isaias, Jean, Luanna, Susiane e Thiago, 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 estrutura e o apoio necessário durante o curso de graduação e mestrado.

Obter dados é só o início...

*nos nossos dias atuais, é mais difícil ler corretamente as informações
do que obtê-las (Humberto Gessinger)*

*A fé verdadeira e genuína é uma convicção íntima
de que eu, essencialmente, sou idêntico a DEUS,
("Vós sois deuses", disse Jesus) mas que, existencialmente,
sou infinitamente inferior a DEUS...
(Huberto Rohden)*

*Às vezes, não é preciso mudar o caminho para encontrar algo novo,
é só desacelerar suas passadas... Pois de tanto olhar para o céu
pode-se tropeçar em uma ervilha. A de se ter cuidado...
O ruim não é fazer uma longa jornada, é completá-la sozinho...
Assim, sem querer eu entendi que o bom da viagem é à volta pra "casa"...
(Andresa Wrielly Filgueiras Dutra)*

*Aproveite cada minuto, cada instante. curta seus familiares e amigos...
Trabalhe pelo bem e sempre procurando servir aos outros,
Ninguém lhe procura por acaso...
Seja feliz, e procure espalhar felicidade.
Seja forte e dê exemplo.
(Marcos Salomão)*

SUMÁRIO

Lista de tabelas	viii
Lista de figuras	xi
Resumo	xvi
Abstract	xviii
1. Introdução.....	1
1.1. Objetivo geral.....	3
1.2. Objetivos específicos.....	3
2. Revisão de literatura.....	4
2.1. Considerações gerais sobre o feijão caupi.....	4
2.2. Déficit hídrico na germinação	5
2.3. Mecanismos celulares de tolerância ao déficit hídrico.....	6
2.3.1. Ajustamento osmótico e osmoprotetores	7
2.3.2. Metabolismo oxidativo e enzimas antioxidantes	8
2.4. Ácido salicílico e os processos fisiológicos e bioquímicos.....	10
3. Material e métodos	12
3.1. Localização do experimento.....	12
3.2. Fatores em estudo e tratamentos.	12
3.3. Instalação e condução do experimento.....	13
3.4. Avaliações realizadas	15
3.4.1. Medidas de germinação	15
3.4.2. Crescimento e vigor das sementes.....	15

3.4.3. Acúmulo de fitomassa seca	15
3.4.4. Atividade das enzimas antioxidantes.....	16
3.4.5. Quantificação de prolina livre	18
3.5. Delineamento experimental e análises estatísticas	18
4. Resultados e discussão	19
4.1. Medidas de germinação.....	19
4.2. Crescimento e vigor das sementes	24
4.3. Acúmulo de fitomassa seca	32
4.4. Atividade das enzimas antioxidantes	37
4.5. Teor de prolina livre	55
4.6. Síntese dos principais resultados	58
5. Conclusões	66
6. Referências	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais características das cultivares utilizadas no experimento.	13
Tabela 2: Resumo da análise de variância para as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor de sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST) de cultivares de feijão caupi acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.....	20
Tabela 3: Resumo da análise de variância para as variáveis: superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase e prolina livre no cotilédone + epicótilo + folha (SOD CEF, CAT CEF, APX CEF e PRO CEF) e no hipocótilo + raiz (SOD HR, CAT HR, APX HR e PRO HR), respectivamente, em cultivares de feijão caupi acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000 Campina Grande, PB, 2015.	38
Tabela 4: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Guariba. Campina Grande, PB, 2015.	60

- Tabela 5: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BR 17 Gurguéia. Campina Grande, PB, 2015.....61
- Tabela 6: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Aracê. Campina Grande, PB, 2015.62
- Tabela 7: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Marataoã. Campina Grande, PB, 2015.....63

Tabela 8: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Itaim. Campina Grande, PB, 2015...
 64

Tabela 9: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Potengi. Campina Grande, PB, 2015.
 65

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Cultivares de feijão caupi utilizadas no experimento: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F). Campina Grande, PB, 2015. 12
- Figura 2. Etapas da instalação do experimento, triagem das sementes (A), envolvimento das sementes em folhas de papel toalha para embebição (B), distribuição das sementes nas caixas gerbox (C) e organização das caixas na câmara de germinação (B.O.D) (D). Campina Grande, PB, 2015. 14
- Figura 3. Detalhe da retirada dos cotilédones (A) e da divisão das diferentes plântulas para as análises bioquímicas (B). Campina Grande, PB, 2015. 16
- Figura 4. Porcentagem final de germinação (PFG) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$). 21
- Figura 5. Índice de velocidade de germinação (IVG) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$). 23
- Figura 6. Porcentagem de água nas sementes antes da semeadura (A) e taxa de absorção (B) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (C1), BR 17 Gurguéia (C2), BRS Aracê (C3), BRS Marataoã (C4), BRS Itaim (C5) e BRS Potengi (C6). Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$). 24

- Figura 7. Comprimento da haste caulinar (CC) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).26
- Figura 8. Correlação linear de Pearson entre as variáveis comprimento da haste caulinar (CC) e superóxido dismutase (SOD) (A) e catalase (CAT) (B) nos cotilédones, epicótilos e folhas (CEF), e comprimento total das plântulas (CT) com SOD CEF (C) e CAT CEF (D) da cultivar BRS Guariba acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. 27
- Figura 9. Comprimento da raiz (CR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).....28
- Figura 10. Comprimento total da plântula (CT) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).29
- Figura 11. Vigor das sementes (vigor) nas das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M). 30
- Figura 12. Fitomassa seca da haste caulinar (FSC) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M). 33

- Figura 13. Fitomassa seca da raiz (FSR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).....34
- Figura 14. Fitomassa seca total (FST) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).....36
- Figura 15. Atividade da enzima superóxido dismutase nos cotilédones + epicótilos + folhas (SOD CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).....39
- Figura 16. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos cotilédones, epicótilos e folhas (SOD CEF) e comprimento total das plântulas (CT) (A) e o vigor das sementes (B) da cultivar BR 17 Gurguéia acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.....40
- Figura 17. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase (SOD) nos cotilédones, epicótilos e folhas (CEF), comprimento total das plântulas (CT) e vigor das sementes das cultivares BRS Guariba (Figura 17A e B) e BRS Itaim (Figura 17C e D) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.....41
- Figura 18. Atividade da enzima superóxido dismutase nos hipocótilos + raízes (SOD HR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).42

- Figura 19. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos hipocótilos e raízes (SOD HR) e fitomassa seca da raiz (FSR) da BR 17 Gurguéia (A), e da SOD HR com o comprimento da raiz (CR) das cultivares BRS Marataoã (B), BRS Potengi (C) e BRS Itaim (D) condicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.....44
- Figura 20. Atividade da enzima catalase nos cotilédones + epicótilos + folhas (CAT CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).45
- Figura 21. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos cotilédones, epicótilos e folhas (SOD CEF) e catalase nos cotilédones, epicótilos e folhas (CAT CEF) (A) e CAT CEF com o vigor das sementes (vigor) (B) da cultivar BRS Itaim acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.....46
- Figura 22. Atividade da enzima catalase nos hipocótilos + raízes (CAT HR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).....47
- Figura 23. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos hipocótilos e raízes (SOD HR) e catalase nos hipocótilos e raízes (CAT HR) (A), da CAT HR com o crescimento (CR) (B) e fitomassa seca da raiz (FSR) (C) da BRS Guariba, e da CAT HR e o CR da BR 17 Gurguéia (D) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.49
- Figura 24. Atividade da enzima ascorbato peroxidase nos cotilédones + epicótilos + folhas (APX CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).....50

- Figura 25. Correlação linear de Pearson entre as variáveis ascorbato peroxidase nos cotilédones epicótilos e folhas (APX CEF) e fitomassa seca da haste caulinar (FSC) da cultivar BRS Itaim acondicionada durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015..... 51
- Figura 26. Atividade da enzima ascorbato peroxidase nos hipocótilos + raízes (APX HR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M). 52
- Figura 27. Correlação linear de Pearson entre as variáveis ascorbato peroxidase no hipocótilos e raízes (APX HR), crescimento da raiz (CR) (A) e vigor das sementes (vigor) (B) da cultivar BRS Itaim acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015..... 53
- Figura 28. Teor de prolina livre nos cotilédones + epicótilos + folhas (PRO CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M). 56
- Figura 29. Teor de prolina livre nos hipocótilos + raízes (PRO HR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M)..... 57

RESUMO

DUTRA, WELLISON FILGUEIRAS. M.Sc., Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, Fevereiro de 2015. **Ácido salicílico como indutor de tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial de feijão caupi**. Campina Grande, PB, 2015. p.97. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo.

O feijão caupi é uma das culturas alimentares mais importantes do semiárido brasileiro, entretanto, nessa região a deficiência hídrica é condição comum, sendo um dos fatores mais limitantes para a produção agrícola, principalmente nas fases de germinação e crescimento inicial. Nesse sentido, vem sendo estudada a utilização de algumas substâncias indutoras de resistência, entre elas o ácido salicílico. Objetivou-se, com esse trabalho, avaliar a aplicação de ácido salicílico como indutor de tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial de feijão caupi. A pesquisa constou de um fatorial $6 \times 3 \times 5$, sendo 6 cultivares de feijão caupi (BRS Guariba, BR 17 Gurguéia, BRS Aracê, BRS Marataoã, BRS Itaim e BRS Potengi) submetidas a três condições na pré-semeadura (SE = sem embebição; AS = embebição em ácido salicílico e AD = embebição em água destilada) e cinco potenciais hídricos durante a germinação e o crescimento inicial (-1,0; -0,8; -0,6; -0,4 e 0 MPa) totalizando 90 tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo a parcela composta por 20 sementes. Foram avaliados a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação, o crescimento e acúmulo de fitomassa da haste caulinar, da raiz e total, o vigor das sementes, a atividade da superóxido dismutase (SOD), da catalase (CAT), da ascorbato peroxidase (APX) e o teor de prolina livre. A germinação, o vigor e o crescimento da raiz das plântulas de feijão caupi são melhorados com a embebição em ácido salicílico durante 8 horas. A atividade antioxidante foi incrementada nas plântulas de feijão

caupi com a embebição das sementes em ácido salicílico, especialmente na cultivar BRS Itaim. A BRS Itaim suportou melhor a redução do potencial hídrico com a aplicação de ácido salicílico, haja vista o aumento da atividade da SOD, CAT e APX, o que caracteriza uma maior tolerância ao estresse. A manutenção do crescimento das plântulas de feijão caupi submetidas ao déficit hídrico está relacionada com o aumento da capacidade antioxidativa das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase. A embebição das sementes em solução de ácido salicílico (10^{-5} M) pode ser utilizada na indução de tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial da cultivar BRS Itaim.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., atividade antioxidante, ajustamento osmótico.

ABSTRACT

DUTRA, WELLISON FILGUEIRAS. M.Sc., State University of Paraíba / Cotton Embrapa February 2015. **Salicylic acid as inducer tolerance to drought in the stages of germination and initial growth of cowpea.** Campina Grande, PB, 2015. p.97. Dissertation (Graduate Program in Agrarian Sciences). Major professor: Dr. Alberto Soares de Melo.

Cowpea is one of the most important food crops in the Brazilian semi-arid, however, in this region the water deficiency is a common condition, one of the most limiting factors for agricultural production, especially in the phases of germination and initial growth. In this sense, it has been studied to use some resistance-inducing substances, including salicylic acid. The aim of this work was to evaluate the application of salicylic acid to induce tolerance to drought in the stages of germination and initial growth of cowpea. Research consisted of a factorial 6 x 3 x 5, and 6 cowpea cultivars (BRS Guariba, BR 17 Gurguéia, BRS Aracê, BRS Marataoã, BRS Itaim e BRS Potengi) under three conditions in pre-sowing (SE = without soaking; AS = soaking in salicylic acid and AD = soaking in distilled water) and five potential water during germination and initial growth (-1.0, -0.8, -0.6, -0.4 and 0 MPa) totaling 90 treatments. Experimental design was completely randomized with five replications, and the plot was composed of 20 seeds. We evaluated the percentage of germination, germination speed index, growth and mass accumulation of stem, root and total, seed vigor, the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and free proline content. Germination, vigor and root growth of cowpea seedlings are improved by soaking in salicylic acid for 8 hours. Antioxidant activity was enhanced on seedling by soaking the seeds in salicylic acid, especially in BRS Itaim. BRS Itaim endured better to reduced water potential by applying salicylic acid, given the increased activity of SOD, CAT and APX, which features a higher tolerance to stress. Continued growth of cowpea seedlings subjected to water deficit is associated with increased antioxidative activity of superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase. Soaking

salicylic acid solution (10^{-5} M) can be used to induce tolerance to drought during germination and initial growth of BRS Itaim cultivar.

Keywords: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., antioxidant activity, osmotic adjustment.

1. INTRODUÇÃO

A escassez hídrica ocorre em grandes extensões de áreas cultiváveis do mundo, principalmente nas regiões áridas e semiáridas, a exemplo do Nordeste brasileiro, o que implica, muitas vezes, na exposição vegetal a períodos sazonais de deficiência hídrica (SOUZA et al., 2004; GIROTTO et al., 2012). Nessas regiões, a baixa e/ou má distribuição pluviométrica reduz significativamente a produtividade das plantas, além de restringir áreas onde espécies com importância socioeconômica, como o feijoeiro, poderiam ser cultivadas (NEPOMUCENO et al., 2001; LISAR et al., 2012).

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) é uma cultura de grande potencial atual e estratégico, por possuir adaptação a uma ampla faixa de ambientes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e, ainda, diante das mudanças climáticas e da necessidade crescente de alimento em todo o mundo (FREIRE FILHO et al., 2011). No Brasil o feijão caupi possui grande importância para a população do Nordeste, principalmente, das áreas semiáridas, onde representa um dos principais componentes da dieta alimentar das famílias, fixando a mão de obra no campo e gerando emprego e renda (FREIRE FILHO et al., 2011; COELHO et al., 2013).

Conforme levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015), na safra 2014/2015 a área total ocupada com o cultivo de feijões ultrapassou 3188 mil hectares, tendo uma produção estimada de 3322,9 mil toneladas e produtividade média de 1042 kg ha⁻¹. A participação do feijão caupi na produção nacional de feijão não é definida separadamente pelos órgãos oficiais de pesquisa (CONAB e IBGE), contudo acredita-se que o caupi contribui com cerca de 15% na produção nacional (TEIXEIRA et al., 2010), além de possuir produtividade média estimada entre 330 kg ha⁻¹ (FREIRE FILHO et al., 2011) e 400 kg ha⁻¹ (SABOYA et al., 2013). Acrescente-se que as condições de cultivo, sem o uso de tecnologias e de cultivares melhorada, especialmente na agricultura familiar, bem como a ocorrência de déficit hídrico durante as fases críticas da cultura, são os principais responsáveis pelo baixo rendimento nacional (SABOYA et al., 2013).

A disponibilidade e a manutenção hídrica dos tecidos da semente estão intimamente relacionadas com a germinação e o desenvolvimento de diversas espécies em diferentes regiões. A germinação e o crescimento inicial são considerados as fases fenológicas mais sensíveis ao déficit hídrico, pois a água compõe a matriz necessária à maioria dos processos bioquímicos e fisiológicos, por ativar as vias essenciais no desenvolvimento da plântula, além do controle sobre a estrutura e propriedade das proteínas, das membranas, dos ácidos nucleicos e de outros constituintes celulares (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Nesse sentido, melhorias na qualidade fisiológica e bioquímica das sementes de feijão caupi são importantes, visando aprimorar o seu desempenho germinativo em resposta ao estresse hídrico. Para tanto, a utilização de algumas substâncias indutoras exógenas ou endógenas, tais como os ácidos orgânicos (salicílico, ascórbico e cítrico), podem colaborar na melhoria da eficiência de processos metabólicos ou, ainda, atuar diretamente nas rotas metabólicas, o que resulta em adaptação ao déficit hídrico (MCCUE et al., 2000; AGOSTINI et al., 2013).

O ácido salicílico (AS) é um composto pertencente ao grupo fenólico, amplamente distribuído em todo o reino vegetal (SHI et al., 2005), com inúmeras funções reguladoras no metabolismo das plantas (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014). Já foi verificado efeito do AS sobre a germinação, a regulação do crescimento e do desenvolvimento (KHAN et al., 2003; KABIRI et al., 2012; SHARAFIZAD et al., 2013), a produção de frutos, a absorção e transporte de água e nutrientes (HAYAT et al., 2010), a taxa fotossintética, a condutância estomática, a transpiração (FARIDUDDIN et al., 2003; KHAN et al., 2003), além de atuar como um potente agente antioxidante não-enzimático e ativar os mecanismos de resposta e defesa a estresses ambientais (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014). No entanto, o mecanismo exato de ação do referido ácido não é bem compreendido, em especial, porque ele pode diferir entre espécies, e pode também depender dos fatores ambientais (PÁL et al., 2014).

Acrescente-se que a adaptação das plantas às condições de déficit hídrico é resultado de um complexo de eventos que ocorrem em vários níveis, desde variações morfológicas e anatômicas até ajustes moleculares e bioquímicas (SOUZA et al., 2004). Os resultados destas vias de resposta são o reestabelecimento da homeostase celular, a proteção funcional e estrutural e, conseqüentemente, a tolerância ou resistência ao fator de estresse, sendo esse mecanismo dependente da espécie, cultivar, tempo de exposição, fatores edáficos, entre outros (NASCIMENTO et al., 2011; LISAR et al., 2012).

O complexo de resposta das plantas ao estresse hídrico envolve muitos genes e mecanismos bioquímicos e moleculares, tais como: a detecção, percepção e transdução de sinais, o controle transcripcional, a ativação de mecanismos de pronta resposta ao estresse, entre eles a

desintoxicação de espécies reativas de oxigênio por enzimas antioxidantes (como a superóxido dismutase, a catalase e a ascorbato peroxidase) e a osmoproteção por solutos compatíveis e removedores de radicais livres (como a glutatona e a prolina) (LISAR et al., 2012). Por sua vez, em plantas de gengibre, a aplicação exógena de AS aumentou a atividade antioxidante, bem como o teor de prolina, o que revelou um possível papel regulador do referido ácido em níveis transcricionais e/ou traducionais (GHASEMZADEH e JAAFAR, 2013).

A aplicação exógena de AS vem sendo estudada, principalmente, como indutor de tolerância ao estresse hídrico durante a germinação em sementes de várias espécies, tais como o tomate (SENARATNA et al., 2000), a melancia (SILVA et al., 2012a), o pepino (ÇANAKÇL e MUNZUROGLU, 2007), o feijão comum (AGOSTINI et al., 2013; YAMAMOTO, et al., 2014), o arroz (CHOUDHURY e PANDA, 2004), o trigo (SHARAFIZAD et al., 2013) e a cevada (BANDURSKA e STROINSKI, 2005). Entretanto, não foram encontrados na literatura estudos acerca da aplicação de AS em sementes de feijão caupi e o seu efeito sobre a germinação e o crescimento inicial em condições de deficiência hídrica induzida.

Desta maneira, frente à importância do feijão caupi para a região Nordeste do Brasil (NASCIMENTO et al., 2011), torna-se necessária à realização de estudos por meio de uso de indutores que proporcionem tolerância ao déficit hídrico na fase de germinação e crescimento inicial (AGOSTINI et al., 2013).

1.1. Objetivo geral

Objetivou-se avaliar a aplicação de ácido salicílico como indutor de tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial de feijão caupi.

1.2. Objetivos específicos

- Analisar a germinação das cultivares de caupi (BRS Guariba, BR-17 Gurguéia, BRS Aracê, BRS Marataoã, BRS Itaim e BRS Potengi) sob embebição em ácido salicílico e diferentes potenciais hídricos induzidos por polietilenoglicol 6000;
- mensurar o crescimento e o acúmulo de massa seca durante o crescimento inicial de cultivares de caupi;
- determinar a atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase) e os níveis de prolina livre em cultivares de feijão caupi;
- identificar pelo menos uma cultivar com tolerância à deficiência hídrica, durante a germinação e o crescimento inicial, induzida por aplicação de ácido salicílico na pré-semeadura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações gerais sobre o feijão caupi

O feijão caupi também denominado de feijão-de-corda ou feijão macassar, é uma leguminosa de ampla distribuição mundial, principalmente, nas regiões tropicais, devido às características edafoclimáticas semelhantes ao seu provável local de origem, a África (BRITO et al., 2009). Estima-se que no ano de 2013 a cultura ocupou uma área de 11,927 milhões de hectares no mundo, com produção de 36,225 milhões de toneladas por ano e produtividade de 521,91 kg ha⁻¹, sendo os países da Nigéria, Níger, Tanzânia, Mali e Myanmar os principais produtores mundiais (FAO, 2015).

No Brasil, embora não seja avaliada separadamente pelos órgãos oficiais de pesquisa (CONAB e IBGE), a produção de feijão caupi corresponde a cerca de 15% do feijão total produzido (TEIXEIRA et al., 2010), sendo seu cultivo concentrado nas regiões Norte (55,8 mil ha) e Nordeste (1,2 milhão de hectares), com maiores produtores os estados do Piauí, Ceará e Bahia (TEIXEIRA et al., 2010; BASTOS et al., 2012a). Na Paraíba o feijão caupi é cultivado em quase todas as microrregiões, detendo cerca de 75% das áreas de cultivo com feijão, o que torna o estado um dos principais produtores nacionais (GUEDES et al., 2010).

Nessas regiões o cultivo de caupi é uma das alternativas para geração de empregos para as populações de baixa renda, sendo cultivado basicamente em pequenas propriedades como atividade de subsistência (BASTOS et al., 2012a). O seu cultivo exerce grande importância socioeconômica, pois, além de fixar a mão-de-obra no campo, seus grãos possuem alto valor nutritivo, como elevado teor de proteínas, carboidratos, fibras, minerais e reduzido conteúdo lipídico, sendo o maior consumo verificado na forma de grãos secos (FROTA et al., 2008; BASTOS et al., 2012b). Porém, os grãos verdes são muito apreciados devido ao seu agradável sabor e cozimento rápido.

O feijão caupi é uma cultura com baixa exigência de água e nutrientes, quando comparadas a outras leguminosas como o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e a soja (*Glycine max* L.) (COSTA et al., 2011), o que propicia seu cultivo em todo o Nordeste brasileiro. Contudo, mesmo adaptada às condições edafoclimáticas do Nordeste, esta leguminosa, ainda, possui produtividade média considerada baixa (FREIRE FILHO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2012; SABOYA et al., 2013). A baixa produtividade é resultado de vários fatores, como o uso de sementes não melhoradas, o cultivo em solos de baixa fertilidade e a ocorrência de precipitações irregulares (NASCIMENTO et al., 2011; SABOYA et al., 2013), sendo a deficiência hídrica a principal condição que reduz a produtividade do feijão caupi (MENDES et al., 2007). Para Freitas (2012), esse efeito é mais observado quando o cultivo é realizado em sistema de sequeiro (cultivo na época das chuvas), que é responsável por mais de 70% da produção anual.

2.2. Déficit hídrico na germinação

A baixa disponibilidade de água é um dos problemas que mais afetam a agricultura do mundo, sendo o fator determinante para o sucesso ou fracasso da produção agrícola. Os efeitos da deficiência hídrica sobre o vegetal é dependente de inúmeros fatores, entre eles: a intensidade e a duração do estresse, a capacidade de tolerância ao estresse (intrínseca da cultura) e a fase fenológica da cultura (KABIRI et al., 2012), sendo a germinação e o crescimento inicial as fases mais sensíveis à ocorrência de déficit hídrico (TAIZ e ZEIGER, 2009), o que resulta, frequentemente, em baixa taxa de germinação e diminuição do crescimento e acúmulo de fitomassa nas plântulas.

A germinação é o processo fisiológico do desenvolvimento que leva ao crescimento do embrião e a emergência da plântula, sendo esse, um dos estágios mais críticos no ciclo de vida de uma planta, visto que as plântulas são altamente vulneráveis aos estresses ambientais (CASTRO e HILHORST, 2004). Durante a formação da semente, é intensa a síntese das substâncias de reserva complexas a partir de substâncias simples, com a desidratação, a atividade metabólica diminui (quiescência), permanecendo mínima até o momento da reidratação. Quando se dá absorção de água, há a reativação do metabolismo da semente (catabolismo), ocorrendo à degradação das reservas para a produção de energia química necessária ao crescimento do embrião e emergência da plântula (FLOSS, 2004).

Dessa forma, a água é o fator determinante para o processo de germinação das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000), e deve estar disponível numa quantidade adequada durante o processo germinativo. Contudo, o solo nem sempre oferece condições ótimas para a

germinação das sementes, principalmente na região Nordeste, em virtude da escassez hídrica, típica da região. Nessas condições, o solo possui potenciais hídricos muito negativos que dificultam a absorção da água necessária para o processo de germinação (MACHADO NETO et al., 2006).

Com isso, o entendimento do mecanismo de resposta vegetal à deficiência hídrica, durante as fases críticas de cultivo, é de grande importância e parte fundamental para a obtenção de cultivares mais tolerantes a seca (FURLAN et al., 2014). Nesse sentido, vários trabalhos com sementes de feijão comum (MACHADO NETO et al., 2006; CUSTÓDIO et al., 2009; COELHO et al., 2010; AGOSTINI et al., 2013), trigo (GIROTTI et al., 2012; FURLAN et al., 2014), calêndula (CARVALHO et al., 2007) e girassol (HÄRTER et al., 2014) foram conduzidos sob diferentes potenciais de água, com o objetivo de avaliar a germinação, o vigor e o crescimento inicial em diferentes níveis de estresse.

Para tanto, algumas soluções osmóticas têm sido utilizadas para simular déficit hídrico, dentre elas, pode-se citar o polietilenoglicol (PEG), o manitol, o cloreto de cálcio (CaCl_2), o cloreto de potássio (KCl) e o cloreto de sódio (NaCl) (CUSTÓDIO et al., 2009). Porém, entre estas soluções, a mais utilizada para o estudo de restrições hídricas é o polietilenoglicol (PEG), (FURLAN et al., 2014).

2.3. Mecanismos celulares de tolerância ao déficit hídrico

A restrição de água no solo, fenômeno recorrente em regiões áridas e semiáridas, provoca redução no potencial hídrico da planta e, conseqüentemente, no turgor, levando a uma limitação das funções fisiológicas e bioquímicas das células; nessas condições as plantas ativam mecanismos complexos de resposta à escassez hídrica, envolvendo mudanças deletérias e/ou adaptativas, com o intuito de evitar ou tolerar o período de estresse (LISAR et al., 2012).

Há um grande interesse da comunidade científica pela compreensão dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos de tolerância vegetal aos diversos tipos de estresses abióticos (ASHRAF e FOOLAD, 2007), em especial o estresse hídrico, por ocorrer em grandes áreas do mundo. Conforme Lisar et al. (2012), tolerância ao déficit hídrico é a habilidade da planta manter seu metabolismo sob baixas concentrações de água, sendo essa, relacionada, a capacidade de proteção da integridade das membranas e de proteínas, por meio de mecanismos regulatórios.

Entre os mecanismos regulatórios dos vegetais em resposta ao estresse hídrico estão: a manutenção do turgor com o ajuste osmótico, o aumento da elasticidade celular, a diminuição no tamanho da célula, o aumento da resistência protoplasmática (MITRA, 2000), além do aumento

da atividade de enzimas antioxidantes na célula (GRATÃO et al., 2005). Ressalta-se, porém, que a ativação desses mecanismos é dependente da espécie vegetal e, com isso, determina o seu nível de tolerância ao estresse (SILVA et al., 2012b).

2.3.1. Ajustamento osmótico e osmoprotetores

A falta de água no solo, muitas vezes, causa um estresse oxidativo nas plantas, o que impede o funcionamento normal da célula e, em nível mais avançado, pode causar a morte vegetal (MENESES et al., 2006). Nessas condições, os vegetais tentam manter o seu potencial hídrico por meio da acumulação de osmoprotetores e/ou solutos compatíveis no interior da célula, independente do volume resultante da perda de água (TAIZ e ZEIGER, 2009), além da adoção de recursos estruturais para melhorar o funcionamento celular sob estresse hídrico (LISAR et al., 2012).

Desta maneira, a função primária dos solutos compatíveis é evitar a perda de água, mantendo a turgescência e também o gradiente para a absorção de água pela célula (LISAR et al., 2012). Assim, o ajuste osmótico é visto como uma das principais respostas das plantas ao estresse hídrico, estando relacionado ao grau de tolerância vegetal (RHEIN et al., 2011). Para Carlin e Santos (2009), diversas substâncias possuem função osmoprotetora, entre elas destacam-se o aminoácido prolina, a glicina betaína e o carboidrato não redutor trealose, que agem protegendo as membranas e suas enzimas dos danos provocados pela desidratação.

Entre esses solutos, a prolina possui destaque na literatura como soluto chave no ajuste osmótico, considerado o mais ocorrente nos vegetais em resposta a estresses ambientais, seu acúmulo é bastante reportado em plantas sob deficiência hídrica, o que é importante para a minimização dos efeitos deletérios da seca (CARLIN e SANTOS, 2009; FAYEZ e BAZAID, 2014). Além de seu papel como um osmorregulador, a prolina contribui com o estabelecimento de membranas e proteínas, na eliminação de radicais livres e no ajuste do potencial redox da célula em condições de estresse, com diferentes concentrações nas mais variadas espécies sendo, geralmente, proporcional ao nível de tolerância do vegetal (ASHRAF e FOOLAD, 2007).

Além do ajustamento osmótico, a prolina tem outras funções importantes na planta, entre elas, a reserva de carbono e nitrogênio, a desintoxicação do excesso de amônia e a estabilização de membranas (KAVI KISHOR et al., 2005). Os mesmos autores relatam, ainda, que a prolina pode interagir com enzimas para preservar a estrutura e a atividade das proteínas estruturais.

Pesquisas constataram o acúmulo de prolina em feijão caupi cultivado em condições de estresse hídrico (COSTA et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2013) e salino (PRAXEDES et al., 2009), onde sua concentração foi diretamente proporcional ao nível de tolerância da planta ao estresse. Da mesma maneira, o acúmulo de prolina em condições de estresse, tem sido relatado, também, em outras culturas, como milho (TURAN et al., 2009), cana-de-açúcar (RHEIN et al., 2011) e arroz (SHARMA e DUBEY, 2005).

2.3.2. Metabolismo oxidativo e enzimas antioxidantes

A evolução dos processos metabólicos aeróbios, tais como a respiração e a fotossíntese, inevitavelmente, acarretam em produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), principalmente nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, sendo que, em condições de estresse hídrico, sua produção e acúmulo é aumentada (MITTLER et al., 2004; BARBOSA et al., 2014). Isso se deve ao rompimento do equilíbrio entre a produção de EROs e a atividade antioxidante, induzindo um aumento dos compostos oxidantes (KIM e KWAK, 2010).

O excesso de espécies reativas de oxigênio causam danos nas membranas e macromoléculas, afetam o metabolismo celular das plantas sob estresse hídrico, podendo levar a morte celular (LISAR et al., 2012; BARBOSA et al., 2014). Entre as principais consequências do acúmulo de EROs na célula estão a peroxidação dos lipídios, a oxidação de proteínas, a inibição enzimática, danos em nível de DNA e RNA e, conseqüentemente, a senescência, o mau funcionamento da fotossíntese e a necrose das folhas (SCANDALIOS, 2005). Essas propriedades citotóxicas justificam a evolução de matrizes complexas relacionadas a mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos de desintoxicação celular (APEL e HIRT, 2004; GILL e TUTEJA, 2010).

O processo de sinalização e defesa contra o estresse hídrico tem sido associada ao nível de EROs e a atividade de enzimas antioxidantes, o que indica ser um mecanismo regulador de mudanças fisiológicas na planta a partir da redução do potencial hídrico celular (GRATÃO et al., 2005; BARBOSA et al., 2014). Acrescente-se que o equilíbrio da atividade dessas enzimas nas células é fundamental para a determinação do nível estacionário de espécies reativas de oxigênio (APEL e HIRT, 2004).

As enzimas do mecanismo antioxidativo das plantas estão presentes em diferentes compartimentos celulares e contribuem efetivamente para o controle das EROs, o que confere um estágio de homeostase redox no sistema, destacando-se entre essas enzimas a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), a ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), a glutathiona redutase

(GR, EC 1.6.4.2), as peroxidases (POD, EC 1.11.1.7), a catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e a polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1) (BARBOSA et al., 2014).

As superóxidos dismutase são metalo-enzimas encontradas em quase todos os compartimentos celulares, constituindo a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo provocado pelo excesso de formação de EROs, atuando na dismutação do radical superóxido, transformando-o em peróxido de hidrogênio e oxigênio (GRATÃO et al., 2005; GILL e TUTEJA, 2010; BARBOSA et al., 2014). Sua ativação pode ocorrer em qualquer compartimento celular, incluindo mitocôndrias, cloroplastos, microssomos, glioxissomos, apoplastos e citosol.

Ressalte-se que a SOD é a única enzima, nas plantas, capaz de eliminar o poder tóxico causado pelo radical superóxido, gerando H_2O_2 que é posteriormente eliminado pela catalase (CAT) ou pela a ascorbato peroxidase (APX) (GECHEV et al., 2006). As SODs são classificadas de acordo com seus cofatores metálicos: cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD) (GILL e TUTEJA, 2010). Barbosa et al. (2014) destacam que as plantas contêm uma Mn-SOD localizada na matriz mitocondrial e uma Cu/Zn-SOD citosólica, com Fe-SOD e/ou Cu/Zn-SOD, presentes no estroma do cloroplasto.

A catalase (CAT) é uma das principais enzimas na eliminação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerado durante a fotorrespiração e a β -oxidação de ácidos graxos, estando presente nos peroxissomos, nos glioxissomos e, em algumas plantas, na mitocôndria (BARBOSA et al., 2004). Entre as enzimas antioxidantes, a CAT é a única que consegue catalisar a remoção de H_2O_2 sem a necessidade de um redutor, constituindo, dessa maneira, um mecanismo eficiente de remoção de H_2O_2 (SCADALIOS, 2005; SHARMA et al., 2012). Uma molécula de CAT pode converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 por minuto (GILL e TUTEJA, 2010), sendo efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de H_2O_2 nas células, por isso são, juntamente com as enzimas do ciclo do ascorbato-glutationa, como a ascorbato peroxidase, indispensáveis para a remoção do peróxido de hidrogênio (BARBOSA et al., 2014), em plantas submetidas ao estresse hídrico.

As peroxidases são enzimas que removem o H_2O_2 , utilizando uma pequena molécula redutora para agir como um co-fator de regeneração (SHARMA et al., 2012). Além da remoção do H_2O_2 , as peroxidases estão envolvidas em vários processos fisiológicos nas plantas, entre eles, o metabolismo da auxina, a formação de suberina, defesa contra patógenos, alongamento celular e defesa contra estresses bióticos e abióticos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). A ascorbato peroxidase (APX) é uma heme-proteína, da classe da super família das peroxidases, específica na eliminação do peróxido de hidrogênio em plantas, sendo indispensável na proteção dos cloroplastos e outros componentes da célula contra danos provocados pelo peróxido de

hidrogênio e radicais hidroxila produzidos (ASADA, 1992), exigindo a presença do ácido ascórbico como redutor (BARBOSA et al., 2014). Possui elevada especificidade para o peróxido de hidrogênio, permitindo a eliminação do H_2O_2 até mesmo em baixas concentrações (SHARMA et al., 2012).

2.4. Ácido salicílico e os processos fisiológicos e bioquímicos

O AS, regulador de crescimento endógeno de natureza fenólica, é considerado uma molécula de sinalização importante na indução de mecanismos de defesa, contra fatores bióticos e abióticos nas plantas (HORVÁTH et al., 2007). Pertencente ao grupo dos hormônios vegetais, o AS é considerado uma molécula muito promissora, por representar um novo meio de induzir a tolerância contra estresses bióticos e abióticos em culturas com importância socioeconômica (KANG et al., 2014), a exemplo do feijão caupi. No entanto, o mecanismo exato do modo de ação do ácido salicílico ainda é mal compreendido, especialmente por ser diferente entre as espécies, e depender dos fatores ambientais (PÁL et al., 2014).

Nesse sentido, várias pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de verificar a capacidade do AS em mitigar os efeitos deletérios do estresse hídrico sobre as plantas, bem como o seu mecanismo de ação (KABIRI et al., 2012; HABIBI et al., 2013; AGOSTINI et al., 2013; FAYEZ e BAZAID, 2014; HASANUZZAMAN et al., 2014; YAMAMOTO et al., 2014). A partir dessas, provou-se o benefício da aplicação de menores concentrações de AS em várias funções fisiológicas e bioquímicas das plantas cultivadas em condições de estresse, entre elas: a fotossíntese, o ajustamento osmótico e o metabolismo antioxidante (HAYAT et al., 2010). Entretanto, os mesmos autores, revelam, ainda, que altas concentrações de AS podem desencadear um elevado nível de estresse na planta. O mesmo foi verificado por Kang et al. (2014), os quais indicam que a aplicação exógena de AS pode atuar como uma ferramenta poderosa contra vários estresses abióticos, induzindo uma grande variedade de processos que permitem a planta manter o metabolismo mesmo em condições adversas de cultivo.

Entre os benefícios observados com a aplicação exógena de AS podem ser citados: o aumento da germinação e do crescimento de plântulas (SHAKIROVA et al., 2003), o acréscimo na altura da planta, na área foliar e no diâmetro do caule (HUSSEIN et al., 2007), o incremento no teor de pigmentos fotossintetizantes (HAYAT et al., 2005), o aumento na taxa da fotossíntese líquida, da concentração interna de carbono, da eficiência do uso da água, da condutância estomática e da transpiração (FARIDUDDIN et al., 2003; KHAN et al., 2003).

Em diferentes condições de estresse, a aplicação exógena de baixas concentrações de AS, melhorou significativamente a germinação e o crescimento inicial de *Arabidopsis thaliana* (ALONSO-RAMÍREZ et al., 2009). Da mesma forma, Sharafizad et al. (2013), avaliando o pré-tratamento com AS na germinação de sementes de trigo sob estresse hídrico, verificaram um aumento na porcentagem de germinação das sementes, quando embebidas em solução de baixa concentração de AS (0,7 mM), com concomitante aumento na atividade de enzimas antioxidantes, sendo os melhores resultados encontrados nas sementes submetidas ao potencial menos negativo (-5 bar) e a água destilada. Acrescentam, ainda, que níveis de estresse mais elevados (-10 e -15 bar) junto a alta concentração de AS (2,7 mM) reduziram o vigor das sementes. De modo contrário, não foi verificado efeito da aplicação de ácido salicílico na germinação de feijão comum submetido a diferentes potenciais hídricos (0 a -1,2 MPa), entretanto, a embebição em AS (0,01 mM) por 24 horas mitigou, parcialmente, os efeitos do déficit hídrico durante o crescimento inicial das plântulas (AGOSTINI et al., 2013).

Quanto ao acúmulo de solutos, Shakirova et al. (2003), avaliando a aplicação exógena de AS em plântulas de trigo, registraram um maior acúmulo de prolina em suas células, a qual mitigou os efeitos maléficos da salinidade. Resultados semelhantes foram constatados por Hayat et al. (2008), avaliando plantas de tomate cultivadas em condições de estresse hídrico e aplicação exógena de AS. Os mesmos autores reportaram, ainda, que a aplicação exógena de AS aumentou a atividade de enzimas antioxidantes, como a catalase (CAT), a ascorbato peroxidase (APX) e a superóxido dismutase (SOD). Esses resultados indicam uma possível regulação das atividades de enzimas antioxidantes pelo ácido salicílico (HAYAT et al., 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização do experimento

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB), localizado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, Campina Grande – PB.

3.2. Fatores em estudo e tratamentos

O trabalho constou de um fatorial 6 x 3 x 5, sendo 6 cultivares de feijão caupi (Figura 1) (Tabela 1) submetidos a 3 condições na pré-semeadura (SE = sem embebição; AS = embebição em ácido salicílico (10^{-5} M) e AD = embebição em água purificada, ambas durante o período de 8 horas) e 5 potenciais hídricos, induzidos por polietilenoglicol 6000, durante a germinação e o crescimento inicial (-1,0; -0,8; -0,6; -0,4 e 0 MPa, para o potencial de 0 MPa foi utilizado apenas a água purificada), que fatorialmente combinados resultaram em 90 tratamentos.



Figura 1. Cultivares de feijão caupi utilizadas no experimento: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F). Campina Grande, PB, 2015.

Tabela 1. Principais características das cultivares utilizadas no experimento.

Cultivares	Caracteres						
	Porte	Ciclo	NDF	FS	CS	P100S	CC
BRS Guariba	semiereto	65-70	41	arredondada	branca	20,35*	branca
BR17 Gurguéia	enramador	75	52	reniforme	esverdeada	16,70*	cores
BRS Aracê	semiprostado	70-75	41	arredondada	verde-oliva	23,70*	branca
BRS Marataoã	semiprostado	70-75	42	arredondada	esverdeada	21,10*	cores
BRS Itaim	ereto	60-65	35	reniforme	branca	25,35*	Branca
BRS Potengi	semiereto	70-75	39	arredondada	branca	23,70*	branca

OBS: NDF- número médio de dias para a floração; FS- forma da semente; CS- cor da semente; P100S- peso de 100 sementes; CC- classe comercial. *valores constatados nas sementes utilizadas no presente estudo.

3.3. Instalação e condução do experimento

Inicialmente foi realizada uma triagem das sementes com o objetivo de eliminar aquelas que continham danos físicos, biológicos e/ou má formação (Figura 2A). Após a triagem, as sementes foram pesadas e transferidas para rolo giratório, construído de tubo de PVC, juntamente com fungicida (Captan®) na dosagem de 0,22 g 100 g⁻¹ de sementes, mantendo-o sob rotação durante 5 minutos e, em seguida, as sementes permaneceram em repouso por 24 horas. Passado esse tempo, as sementes foram divididas em três lotes, sendo dois deles envolvidos em papel toalha na forma de rolos (Figura 2B) para posterior embebição em solução de AS (10⁻⁵M) (AGOSTINI et al., 2013) e em água purificada (AD) por um período de 8 horas. O terceiro lote foi mantido em garrafa, tipo pet, lacrada pelo mesmo período, para evitar qualquer alteração na umidade das sementes.

Após o período de embebição, todas as sementes foram distribuídas em caixas de acrílico (Gerbox®) (Figura 2C), 20 sementes por caixa, contendo quatro folhas de papel Germitest®, previamente umedecidas com água purificada e soluções osmóticas de polietilenoglicol 6000 (-1,0; -0,8; -0,6 e -0,4 MPa) na proporção de 2,5 g g⁻¹ de papel. Em seguida as caixas foram vedadas com filme plástico, pesadas em balança analítica ($\epsilon = 0,0001$ g), obtendo a massa do conjunto caixa + papel + sementes + filme plástico, a qual foi utilizada como base para a reposição hídrica diária. Por fim as caixas foram alocadas em câmara de germinação, tipo B.O.D (Figura 2D), regulada a 27 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas (BRASIL, 2009), onde permaneceram durante 14 dias. O consumo hídrico foi monitorado diariamente por meio da pesagem das caixas contendo as sementes, e a reposição de água foi efetuada até atingir a massa inicial do conjunto caixa + papel + sementes + filme plástico.

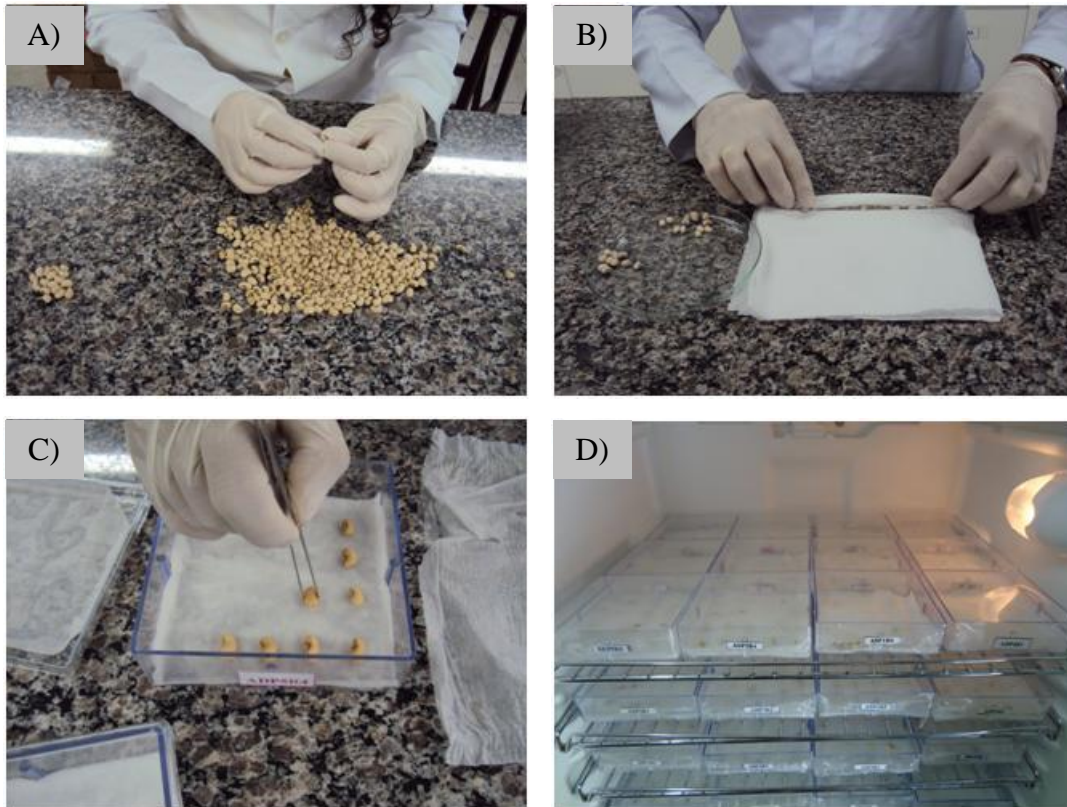


Figura 2. Etapas da instalação do experimento, triagem das sementes (A), envolvimento das sementes em folhas de papel toalha para embebição (B), distribuição das sementes nas caixas gerbox (C) e organização das caixas na câmara de germinação (B.O.D) (D). Campina Grande, PB, 2015.

A determinação da quantidade de polietilenoglicol (PEG 6000) necessária para cada solução osmótica foi realizada utilizando-se da equação (1) proposta por Michel e Kaufmann (1973), com a qual se obteve os seguintes valores: 88,715 g 0,3 L⁻¹ de água para o potencial negativo de 1,0 MPa, 78,585 g 0,3 L⁻¹ para -0,8 MPa, 53,505 g 0,3 L⁻¹ para -0,6 MPa e 35,872 g 0,3 L⁻¹ para -0,4 MPa. A diluição foi realizada em 200 mL de água purificada (25 °C) sendo, em seguida, acrescido de 100 mL do mesmo solvente. Por fim, a solução foi mantida em frascos de vidro vedados, temperatura ambiente, com o intuito de minimizar a perda de água e, conseqüentemente, a alteração no potencial, até o momento da utilização.

$$\text{Equação 1. } \Psi_w = - (1,18 \times 10^{-2}) \times C - (1,18 \times 10^{-4}) \times C^2 + (2,67 \times 10^{-4}) \times CT + (8,39 \times 10^{-7}) \times C^2T$$

Em que: Ψ_w = potencial hídrico da solução (bar);

C = concentração (gramas de PEG 6000 L⁻¹ de água)

T = temperatura (°C).

3.4. Avaliações realizadas

3.4.1. Medidas de germinação

Durante 13 dias, no mesmo horário, foram realizadas as contagens de germinação, considerando como germinadas as sementes que emitissem a radícula com extensão mínima de 2 mm (REHMAN et al., 1996). Com posse desses dados, foi realizado o cálculo da porcentagem final de germinação (PFG) e do índice de velocidade de germinação (IVG) (CARVALHO e CARVALHO, 2009) (Equação 2).

$$\text{Equação 2. IVG} = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} + \dots + \frac{Gn}{Nn}$$

Em que: G1, G2 e Gn: número de plântulas computadas na primeira, segunda e última contagem;
N1, N2 e Nn: número de dias após a semeadura na primeira, segunda e última contagem.

3.4.2. Crescimento e vigor das sementes

No 14º dia, foram coletadas ao acaso 10 plântulas por tratamento, considerando apenas as mais representativas, em seguida realizam-se a retirada dos cotilédones (Figura 3A) e a divisão da plântula em haste caulinar (epicótilo + hipocótilo) e raiz. Posteriormente os comprimentos da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT) foram mensurados utilizando-se de régua milimetrada, sendo os resultados expressos em centímetros. Com posse da germinação e do comprimento total das plântulas, também foi calculado o vigor das sementes (Vigor) de acordo com a equação 3 (AGRAWAL, 2003).

$$\text{Equação 3. Vigor} = \frac{cp}{n}$$

Em que: cp: comprimento total das plântulas;

n: número de sementes germinadas no último dia de contagem.

3.4.3. Acúmulo de fitomassa seca

Após a aferição dos comprimentos, as partes da plântula (haste caulinar e raiz) foram organizadas, separadamente, em sacos de papel devidamente identificados e alocadas em estufa de circulação de ar forçado a uma temperatura de 65 °C durante 48 horas. Ao final, obteve-se, por meio de pesagem em balança analítica (e = 0,0001 g), a fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST).

3.4.4. Atividade das enzimas antioxidantes

Também ao final do experimento (14^o dia), foram coletadas ao acaso 5 plântulas por tratamento, considerando apenas as plântulas mais representativas, sendo essas divididas em duas partes: 1- cotilédones + epicótilo + folhas primárias (quando existentes) (CEF) e 2- hipocótilo + raiz (HR) (Figura 3B), as quais foram utilizadas para a quantificação das atividades das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX).

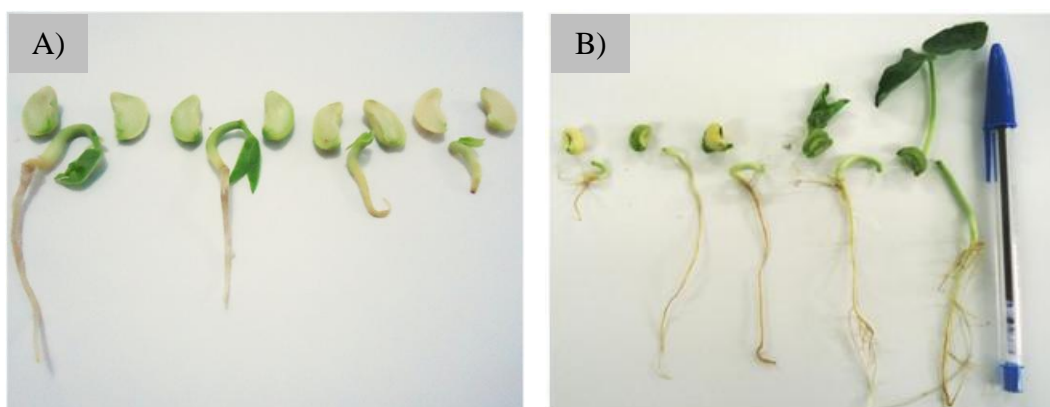


Figura 3. Detalhe da retirada dos cotilédones (A) e da divisão das diferentes plântulas para as análises bioquímicas (B). Campina Grande, PB, 2015.

Para a extração enzimática, 200 mg de material fresco (CEF e HR) foram triturados, separadamente, em 2 mL de tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH final 7) acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (5%). Em seguida os extratos foram centrifugados a 20000 g e temperatura de 4 °C durante 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado, alocados em tubos tipo eppendorf e mantidos em refrigerador até o momento das análises. O mesmo foi utilizado para a determinação de proteínas solúveis conforme a metodologia de Bradford (1976) e da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX).

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 (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971). Para tanto, alíquotas de 40 µL do extrato enzimático foram adicionados a tubos de ensaio, protegidos da luz, contendo o meio de reação (1,5 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 100 mM e pH 7,8) acrescido de EDTA (0,1 mM), metionina (13 mM) e cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) (750 mM). A reação foi iniciada pela adição de riboflavina (concentração final 7 µM) e a concomitante transferência dos tubos para a caixa de reação vedada, com iluminação interna (35W) e

temperatura ambiente, onde permaneceram durante 15 minutos. Em seguida, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro regulado em 560 nm. Foram considerados como brancos da reação, os tubos com extrato mantidos no escuro (os quais representam 0% da redução de NBT) (branco do escuro) e os tubos sem o extrato mantidos sob iluminação (os quais representam 100% da redução do NBT) (branco do claro). Uma unidade de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária inibir em 50% a fotorredução do NBT em comparação com o branco do claro, sendo a atividade expressa em $\text{U min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$. Acrescente-se que as reações foram realizadas em triplicata.

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_2O_2) pela enzima presente no extrato. A reação foi iniciada 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 (concentração final 50 mM e pH 7) e acrescido de peróxido de hidrogênio (20 mM). Em seguida, após uma leve agitação, a mistura foi levada a espectrofotômetro onde foi monitorado o decréscimo da absorbância a 240 nm, durante o período de 1,5 minutos, com leituras realizadas a cada 15 segundos. Para a realização dos cálculos utilizou-se da lei de Lambert Beer (Equação 4). Ao final a atividade da catalase foi expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$.

Equação 4. $A = \varepsilon \cdot b \cdot c$

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

ε = 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 mol L^{-1} .

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada com base no consumo do ascorbato (NAKANO e ASADA, 1981) por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância a 290 nm. Para tanto, 100 μL de extrato enzimático foram misturados ao meio de reação (2,7 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH 6,0) acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). A reação foi iniciada pela adição de 200 μL de peróxido de hidrogênio (2 mM) a solução e com a concomitante transferência da cubeta de quartzo para o espectrofotômetro, onde foi monitorado o decréscimo da absorbância durante 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10 segundos. Para a realização dos cálculos também se utilizou da equação de Lambert Beer (Equação 4), 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 $\text{nmol de ascorbato min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$.

3.4.5. Quantificação de prolina livre

Inicialmente foram realizados os mesmos procedimentos de coleta e divisão das plântulas, em cotilédones + epicótilos + folhas e hipocótilos + raízes, conforme descrito para a atividade enzimática. A quantificação de prolina livre nos tecidos foi realizada pelo método colorimétrico proposto por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011). Para tanto 250 mg de material fresco foram triturados em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL) e centrifugado a 2000 g por 10 minutos, o sobrenadante foi aspirado e utilizado nas determinações.

O desenvolvimento da cor foi obtido por meio do aquecimento, em banho-maria regulado a 100 °C, dos tubos de ensaio rosqueáveis contendo a mistura extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1:1 (volume total 3 mL), durante uma hora. Após esse período os tubos foram resfriados em banho de gelo, sendo posteriormente adicionado 2 mL de tolueno aos mesmos, os quais foram agitados vigorosamente por 20 segundos e mantidos e repouso por 10 minutos, para que ocorresse a separação das fases.

Acrescente-se que o sobrenadante foi aspirado, alocado em cubeta de vidro e transferido para espectrofotômetro onde se obteve a leitura da absorbância no comprimento de onda de 520 nm, utilizando o tolueno puro como branco. Em seguida, a concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L- prolina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 mg L⁻¹) e expressa em $\mu\text{mol g}$ de matéria fresca⁻¹. Para o cálculo de prolina foi utilizada a média da absorbância obtida na triplicata.

3.5. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo a parcela experimental composta por 20 sementes (BRASIL, 2009). Os dados das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($\alpha \leq 0,05$), as médias dos fatores qualitativos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$) e os modelos de regressão, para o fator quantitativo, foram ajustados de acordo com o coeficiente de determinação até 5% de significância (STORCK et al., 2011). As variáveis foram relacionadas por meio da correlação de Pearson. Para as análises e confecção dos gráficos utilizou-se os *Softwares* SAEG 9.1., Excel e Table Curve 2D.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Medidas de germinação

O condicionamento das sementes durante a pré-semeadura, os potenciais hídricos e a interação entre esses fatores influenciaram todas as variáveis de germinação, crescimento ($p < 0,01$) e o vigor das sementes ($p < 0,05$) (Tabela 2). Ainda na Tabela 2, observou-se que os tratamentos induziram efeitos distintos nas cultivares ($p < 0,01$), sendo as respostas dependentes do tipo de condicionamento e da disponibilidade de água, fato esse esperado por se tratar de materiais divergentes geneticamente.

A porcentagem final de germinação (PFG) das diferentes cultivares foi reduzida com o aumento da restrição hídrica, principalmente, nas sementes acondicionadas sem embebição (SE) durante a pré-semeadura (Figura 4). Já os tratamentos com embebição em água purificada (AD) e em ácido salicílico (AS) induziram respostas semelhantes na germinação das cultivares nos diferentes potenciais hídricos (Figura 4), sendo os maiores valores de PFG encontradas, em média, naquelas embebidas com AS (Tabela 2). Verificou-se ainda, com a embebição das sementes, uma tendência à manutenção da porcentagem final de germinação em todas as cultivares até o potencial hídrico de $-0,6$ MPa, exceto para BRS Marataoã, a qual registrou queda acentuada da germinação em função da diminuição do potencial hídrico.

Quanto às cultivares, os maiores valores de PFG foram verificadas na BR 17 Gurguéia, seguida da BRS Itaim, BRS Aracê, BRS Guariba e BRS Potengi (Tabela 2). Na BR 17 Gurguéia verificou-se, também, menor redução de germinação das sementes sem embebição (14,94%) em função do aumento da restrição hídrica, e a manutenção da PFG média com a embebição em AD (99,6%) e AS (99,4%) (Figura 4B). Tendência semelhante foi verificada na BRS Itaim, obtendo PFG média de 88,6% para embebição em AD e 89,4% para embebição em AS, e germinação máxima estimada em 93,59% e 94,46% nos potenciais estimados de $-0,44$ e $-0,46$ MPa, respectivamente (Figura 4E).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor de sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST) de cultivares de feijão caupi acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

F. V.	G. L.	Quadrado médios								
		PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST
Cultivar (C)	5	16812,160**	0,765**	255,203**	155,462**	739,771**	391452,42**	0,046**	0,0226**	0,108**
Condição (E)	2	33633,633**	2,388**	37,401**	202,642**	418,697**	236016,41**	0,108**	0,0516**	0,303**
Potencias (P)	4	26255,560**	3,489**	269,607**	281,851**	1024,0**	507491,20**	0,239**	0,0334**	0,439**
Int. CxE	10	1192,694**	0,071**	7,085**	10,854**	25,609**	10665,53**	0,021**	0,0034**	0,029**
Int. CxP	20	2143,231**	0,064**	88,202**	30,816**	89,300**	32947,66**	0,023**	0,0011**	0,028**
Int. ExP	8	2626,478**	0,097**	8,863**	3,548**	13,901**	3451,366*	0,022**	0,0014**	0,026**
Int. CxExP	40	325,767**	0,015**	4,271**	4,336**	10,795**	4258,57**	0,017**	0,0004**	0,018**
Resíduo	360	28,084	0,002	0,293	0,698	1,136	1378,07	0,00014	0,000079	0,00026
C. V (%)		7,02	13,49	23,10	16,96	14,69	29,62	16,22	20,05	13,90
Médias das cultivares										
BRS Guariba		74,866c	0,331c	1,290d	3,150e	4,440d	74,045c	0,045e	0,033cd	0,077d
BR 17 Gurguéia		98,466a	0,535a	6,080a	7,213a	13,294a	265,607a	0,107a	0,070a	0,177a
BRS Aracê		77,333b	0,311c	1,543cd	4,093d	5,636c	107,241b	0,058d	0,030d	0,086c
BRS Marataoã		51,842d	0,246e	1,562c	4,256d	5,766c	67,661c	0,100b	0,036c	0,136b
BRS Itaim		79,400b	0,357b	1,589c	5,836b	7,411b	123,694b	0,067c	0,062b	0,129b
BRS Potengi		71,866c	0,283d	1,996b	5,019c	7,001b	113,786b	0,060d	0,034cd	0,093c
DMS		2,480	0,021	0,253	0,391	0,498	17,372	0,005	0,004	0,007
Médias das condições										
Sem embebição		58,236c	0,198b	1,805c	3,601c	5,374c	80,047c	0,044c	0,023b	0,065c
Embebição em AD		83,413b	0,416a	2,433b	5,414b	7,840b	142,072b	0,097a	0,054a	0,150a
Embebição em AS		84,870a	0,417a	2,792a	5,768a	8,560a	153,897a	0,078b	0,055a	0,134b
DMS		1,440	0,012	0,147	0,227	0,289	10,090	0,003	0,002	0,004

F.V – Fontes de variação; G. L. – Graus de liberdade; C. V. – Coeficiente de variação; Int. – Interação; **, * - Significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Em contra partida, os maiores decréscimos da PFG em resposta ao aumento da restrição hídrica foram observados na cultivar BRS Marataoã. Para as sementes SE, a diminuição do potencial hídrico de 0 para -0,76 MPa resultou numa depleção de 1716,24% na porcentagem final de germinação, enquanto que para os tratamentos com embebição em AD e AS as reduções foram de 21,31% e 18,58% para cada acréscimo de -0,1 MPa no potencial hídrico (Figura 4D).

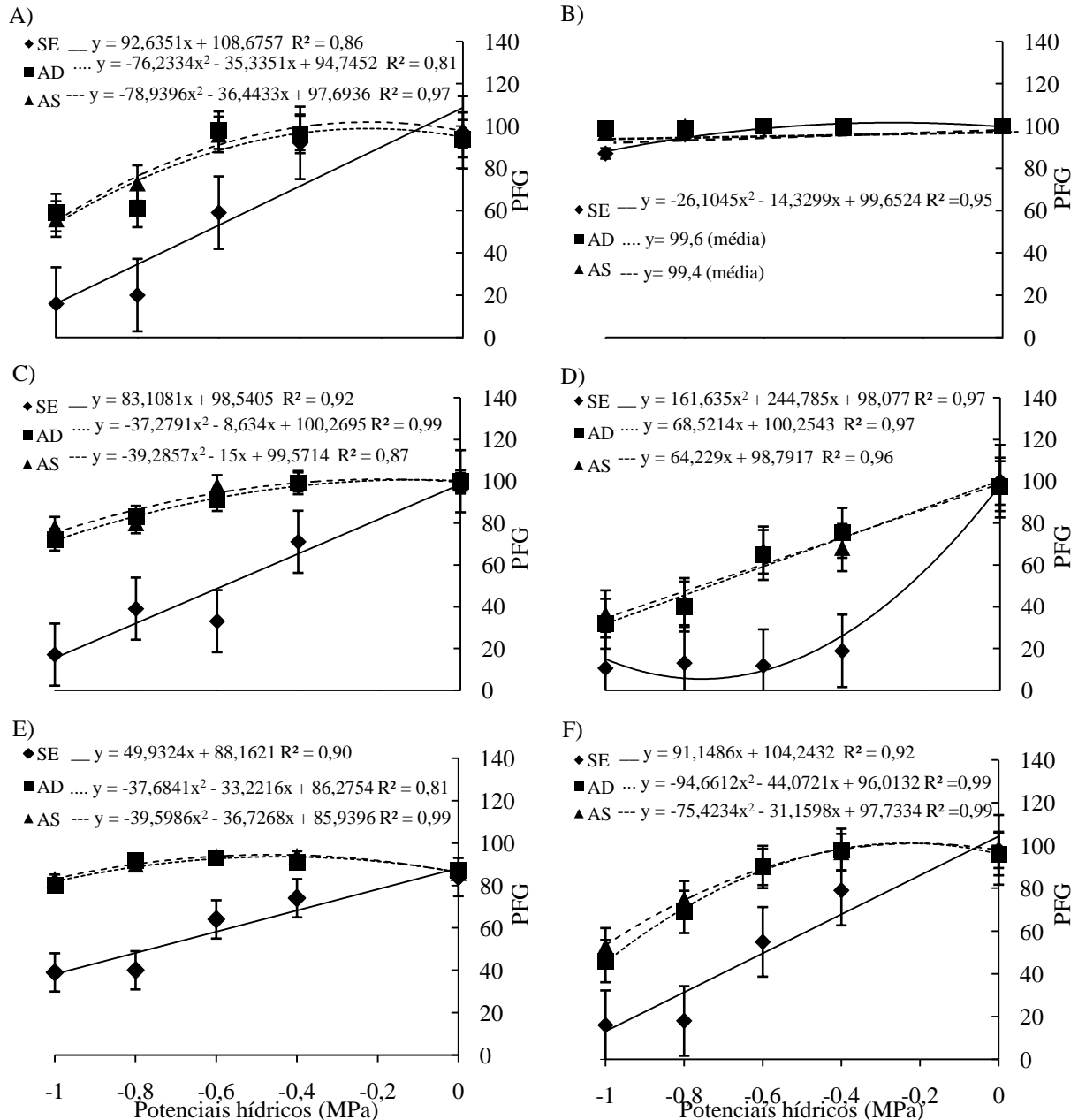


Figura 4. Porcentagem final de germinação (PFG) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).

A diminuição da germinação sob baixa disponibilidade de água é uma resposta comum, visto que nessas condições o potencial hídrico se encontra, muitas vezes, inferior ao verificado no embrião, dificultando, portanto, a absorção da água essencial para a ativação do metabolismo das sementes, como a atividade enzimática, estando em concordância com relatos anteriores (MACHADO NETO et al., 2006; CUSTÓDIO et al., 2009; AGOSTINI et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2014) verificados em sementes de feijão comum submetidas a potenciais hídricos mais negativos (inferiores a -1 MPa).

Por outro lado, o efeito positivo da embebição sobre a germinação pode ser resultado de uma reorganização e ativação de processos celulares (GUIMARÃES et al., 2008), entre eles a translocação de ácido giberélico do embrião para os tecidos reserva (FLOSS, 2004), que induz o aumento da síntese e/ou ativação das enzimas hidrolíticas, responsáveis pela disponibilização das reservas do endosperma para o embrião (CASTRO e HILHORST, 2004), principalmente nas sementes embebidas em ácido salicílico (10^{-5} M). O resultado disso é o aumento do teor de metabólitos no protoplasma das células e, conseqüentemente, da pressão de turgescência responsável pelo alongamento celular na região da radícula (GUIMARÃES et al., 2008).

Existem relatos conflitantes sobre o efeito do ácido salicílico sobre a germinação das sementes (CARVALHO et al., 2007; KABIRI et al., 2012; HABIBI et al., 2013; AGOSTINI et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2014). Por exemplo, Habibi et al. (2013) e Sharafizad et al. (2013) verificaram maior porcentagem de germinação do agrião e trigo com a embebição das sementes em baixas concentrações de AS (0,5 mM a 0,7 mM), não diferindo do tratamento com água destilada, respectivamente. Acrescente-se, ainda, que o aumento da concentração do AS diminuiu a germinação do agrião e trigo. De modo contrário, o pré-tratamento em solução de AS (0,01 mM) não aumentou a germinação de sementes de feijão comum em relação aos demais tratamentos (YAMAMOTO et al., 2014), contudo sua aplicação é vista como promissora por amenizar, parcialmente, os efeitos deletérios do estresse hídrico (AGOSTINI et al., 2013).

O índice de velocidade de germinação (IVG) das cultivares de feijão caupi (Figura 5) foi mais sensível à redução do potencial hídrico do que a porcentagem final de germinação em todas as condições avaliadas. Os maiores valores de IVG foram verificados no maior potencial hídrico (0 MPa) com destaque para as sementes submetidas à embebição, que tiveram este índice significativamente superior ao obtido nas sementes sem embebição (Figura 5).

Não houve diferença significativa entre os tipos de embebição avaliados (AD e AS) (Tabela 2), contudo a aplicação de AS reduziu o IVG das cultivares BRS Aracê e BRS Marataoã no potencial de 0 MPa em comparação com a AD (Figura 5C e D). Observou-se, ainda, um aumento do referido parâmetro na BRS Aracê submetida ao potencial de -0,6 MPa, o que pode

ser um indicativo do efeito positivo do AS em condições de deficiência hídrica. Tal hipótese foi reforçada pelo comportamento verificado na cultivar BRS Itaim, esta quando submetida aos potenciais hídricos intermediários (-0,4 a -0,8 MPa) e embebição em AS, obteve valores de IVG superiores aos encontrados com a embebição em AD (Figura 5E), mesmo com percentuais hídricos semelhantes nas sementes (Figura 6A).

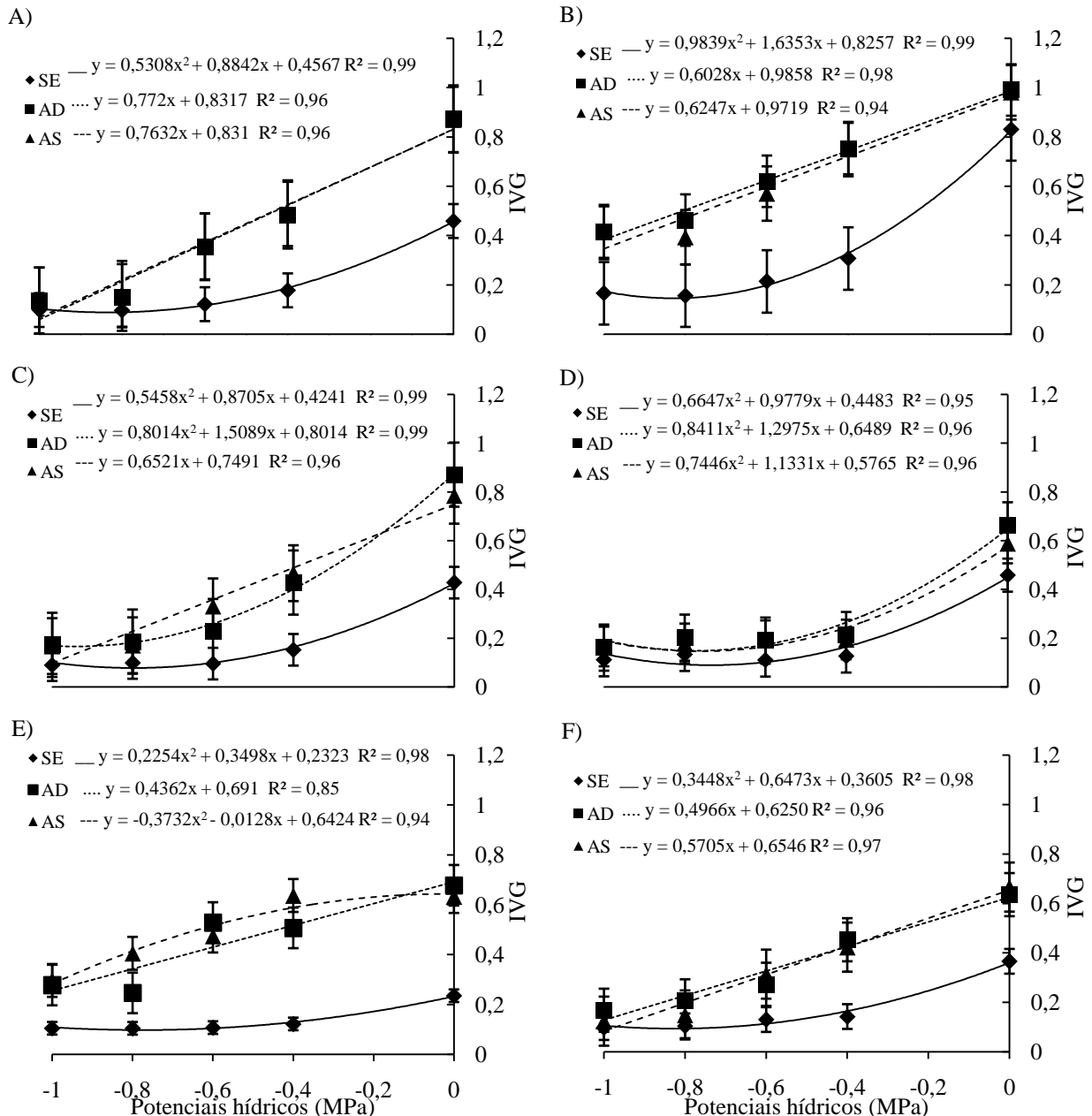


Figura 5. Índice de velocidade de germinação (IVG) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

Em semelhança aos dados encontrados para a PFG, os maiores e menores índices de velocidade de germinação entre as cultivares foram constatados na BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã, respectivamente (Figura 5B e D). Essa superioridade da BR 17 Gurguéia em relação a BRS Marataoã pode ser reflexo do maior percentual de água observado na semente antes da semeadura (Figura 6A). A cultivar BRS Itaim quando submetida à embebição com solução de AS durante a pré-semeadura, obteve a menor redução de IVG entre as cultivares (127,83%) em função do aumento da restrição hídrica. O mesmo ocorreu com a cultivar BR 17 Gurguéia (157,38%) quando embebida em AD.

Nesse caso, a maior taxa de embebição das sementes na BRS Itaim (Figura 6B) pode ter favorecido a manutenção do IVG, pois, comumente, nessas condições as sementes rapidamente atingem a fase II da embebição, na qual ocorre à ativação de enzimas, membranas e organelas, como as mitocôndrias, responsáveis pela digestão das reservas (carboidratos, proteínas e lipídios). O resultado disso é o aumento da concentração de metabólitos no protoplasma das células e, conseqüentemente, uma diminuição do potencial osmótico (potencial hídrico mais negativo) na semente (GUIMARÃES et al., 2008), o que limitaria a perda de água para o substrato, visto que o movimento da água se dá de uma região de maior potencial (menos negativo) para uma de menor potencial hídrico (mais negativo).

Por outro lado, mesmo com altas taxas de absorção e percentagem de água na semente (Figura 6A e B), as cultivares BRS Guariba e BRS Aracê mostraram-se mais suscetíveis à redução de água, no que diz respeito ao IVG, com decréscimos de 1125,66% e 672,26% nas sementes tratadas com AS e 1293,13% e 753,46% nas embebidas em AD, respectivamente.

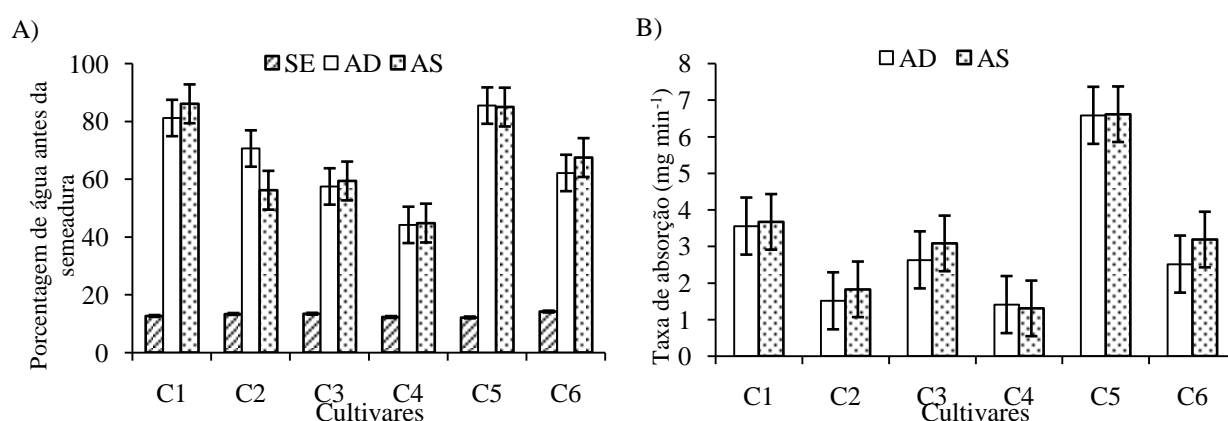


Figura 6. Porcentagem de água nas sementes antes da semeadura (A) e taxa de absorção (B) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (C1), BR 17 Gurguéia (C2), BRS Aracê (C3), BRS Marataoã (C4), BRS Itaim (C5) e BRS Potengi (C6). Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

4.2. Crescimento e vigor das sementes

Uma das principais respostas das plantas ao déficit hídrico é a redução do crescimento provocado pela diminuição do turgor com conseqüente limitação da expansão celular. No presente trabalho, a diminuição dos potenciais hídricos influenciou negativamente o comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT) das cultivares de feijão caupi, especialmente, aquelas não submetidas à embebição durante a pré-semeadura (Tabela 2). Com a embebição das sementes em AS foi averiguado uma melhora significativa nos parâmetros de crescimento (CC, CR e CT) das cultivares de feijão caupi (Tabela 2), reforçando a hipótese de que o AS atua como um eficiente regulador de crescimento e modulador de inúmeras respostas em plantas (HAYAT et al., 2010).

O efeito de diferentes potenciais hídricos sobre a fisiologia e morfologia de várias espécies, como feijão (MACHADO NETO et al., 2006; CUSTÓDIO et al., 2009; YAMAMOTO et al., 2014), trigo (GIROTTTO et al., 2012) e girassol (HÄTER et al., 2014), vem sendo intensamente estudado, com o objetivo de elucidar os efeitos da deficiência hídrica nas plantas, bem como os mecanismos de resposta ao estresse. Os autores supracitados, avaliando o efeito de diferentes potenciais hídricos durante as fases de germinação e crescimento inicial, verificaram um decréscimo no crescimento global com o aumento da restrição hídrica, corroborando com os resultados científicos na pesquisa em questão, comportamento esse explicado pela diminuição do alongamento celular com conseqüente aumento da síntese de parede secundária sob déficit hídrico (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Foi possível observar, nas plântulas de feijão caupi submetidas ao potencial mais negativo (-1,0 MPa), que a redução do crescimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT) é dependente da interação do condicionamento x cultivar, sendo, em geral, superior a 40%. Girotto et al. (2009), avaliando o comportamento de genótipos de trigo em diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000 e Manitol, verificaram que sob o potencial de -0,4 MPa, ou mais negativo, as plântulas tiveram seu crescimento reduzido em pelo menos 50%, variando, no entanto entre os genótipos.

No presente estudo, as maiores e menores reduções de crescimento foram encontradas nas cultivares BR-17 Gurguéia e BRS Itaim sob limitação hídrica, com valores médios de 1169,92% e 71,11% no CC, 153,48% e 66,67% no CR e 381,02% e 63,18% no CT, respectivamente. Por outro lado, a cultivar BR 17 Gurguéia obteve os maiores valores médios de CC (Figura 7B), CR (Figura 9B) e CT (Figura 10B) em todos os condicionamentos (SE, AD e AS), o mesmo comportamento verificado para a germinação e o IVG. Entretanto, pode-se inferir

que esse comportamento não está relacionado com maior tolerância ao déficit hídrico da BR 17 Gurguéia em relação às demais cultivares, visto que o mesmo é derivado, principalmente, do alto crescimento encontrado nos potenciais de 0 e -0,4 MPa. Conjectura essa reforçada pela semelhança observada entre o crescimento das plântulas submetidas aos potenciais mais negativos (-0,8 e -1,0 MPa) em todos os condicionamento (SE, AD e AS).

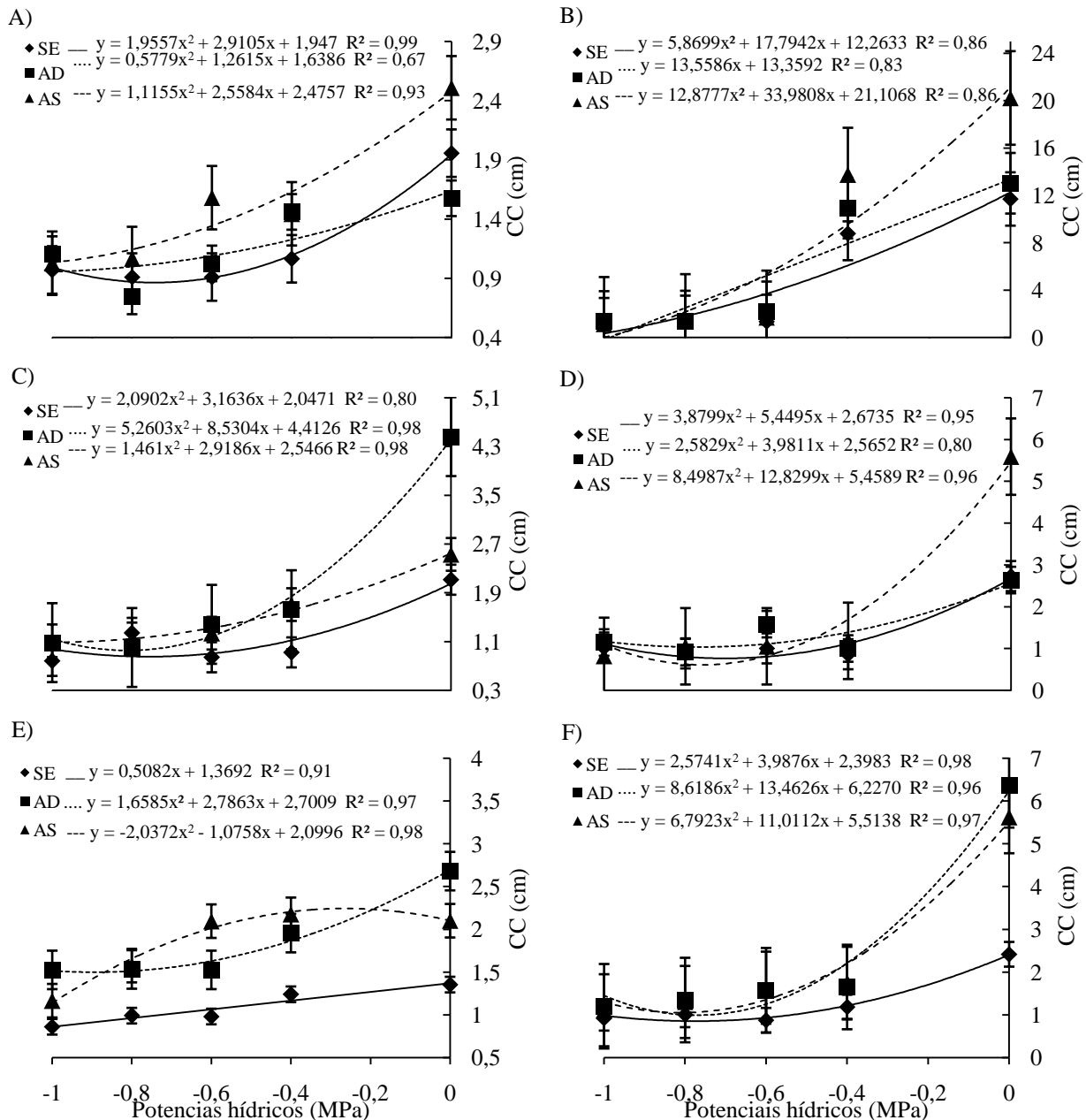


Figura 7. Comprimento da haste caulinar (CC) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).

Ainda na BR 17 Gurguéia, observou-se com a aplicação de AS, acréscimo significativo no CC (57,99%) (Figura 7A) e no CT (20,65%) (Figura 10A) das plântulas submetidas ao potencial de 0 MPa, o mesmo verificado no potencial de -0,4 MPa (CC =27,05% e CT= 19,51%), quando comparados aos valores obtidos com a embebição em AD. Porém, com a diminuição do potencial hídrico a partir desse ponto, não foram verificadas diferenças entre os condicionamentos. Efeitos semelhantes foram verificados para as cultivares BRS Guariba (Figura 7A) e BRS Marataoã (Figura 7D), todavia, o aumento do crescimento da BRS Guariba sob embebição em AS, em relação a AD, ocorreu até o potencial de -0,8 MPa.

Este aumento do comprimento, até mesmo sob déficit hídrico, pode estar associado ao efeito regulador do AS sobre o mecanismo antioxidante das plântulas (HORVÁTH et al., 2007; HAYAT et al., 2010), conjectura essa reforçada pela existência de correlação entre o CC, CT e a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (Figura 8A e C) e catalase (CAT) (Figura 8B e D) nos cotilédones, epicótilos e folhas (CEF) da BRS Guariba, sendo os maiores crescimentos encontrados com a maior atividade enzimática.

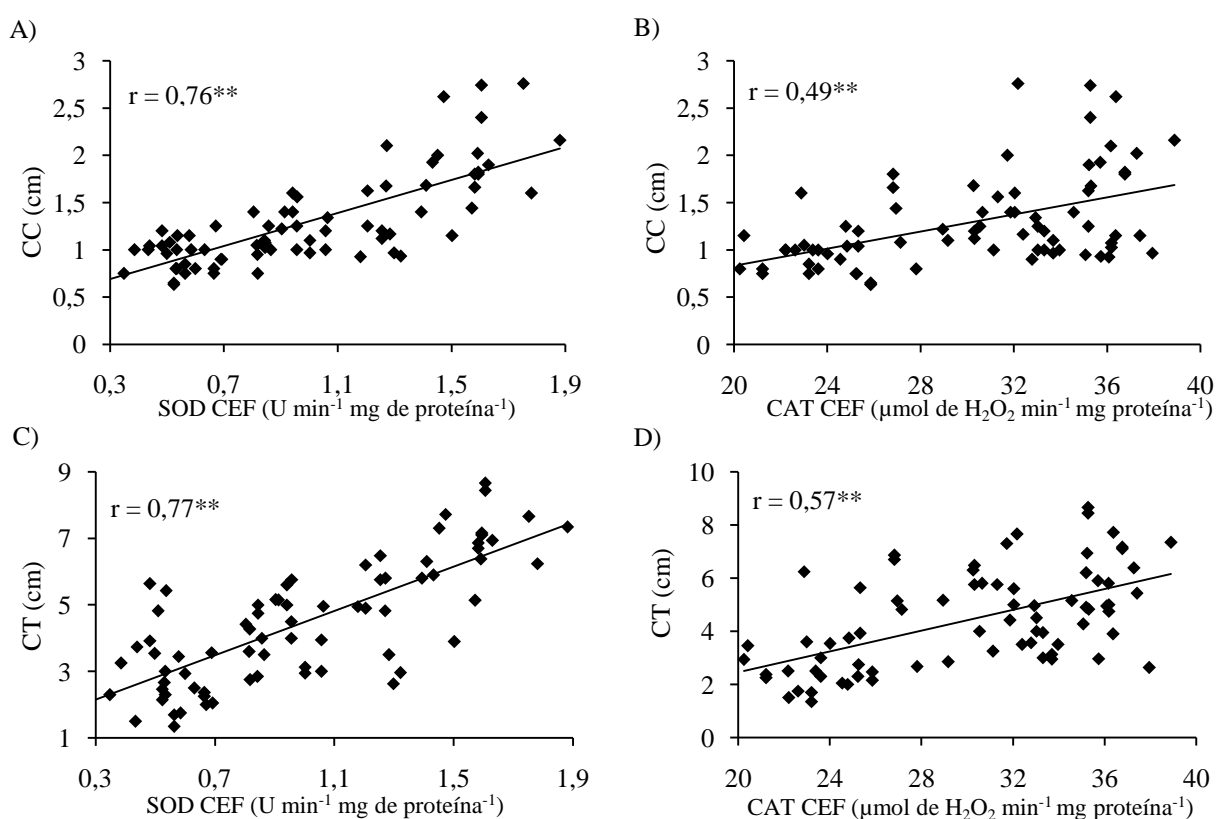


Figura 8. Correlação linear de Pearson entre as variáveis comprimento da haste caulinar (CC) e superóxido dismutase (SOD) (A) e catalase (CAT) (B) nos cotilédones, epicótilos e folhas (CEF), e comprimento total das plântulas (CT) com SOD CEF (C) e CAT CEF (D) da cultivar BRS Guariba acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

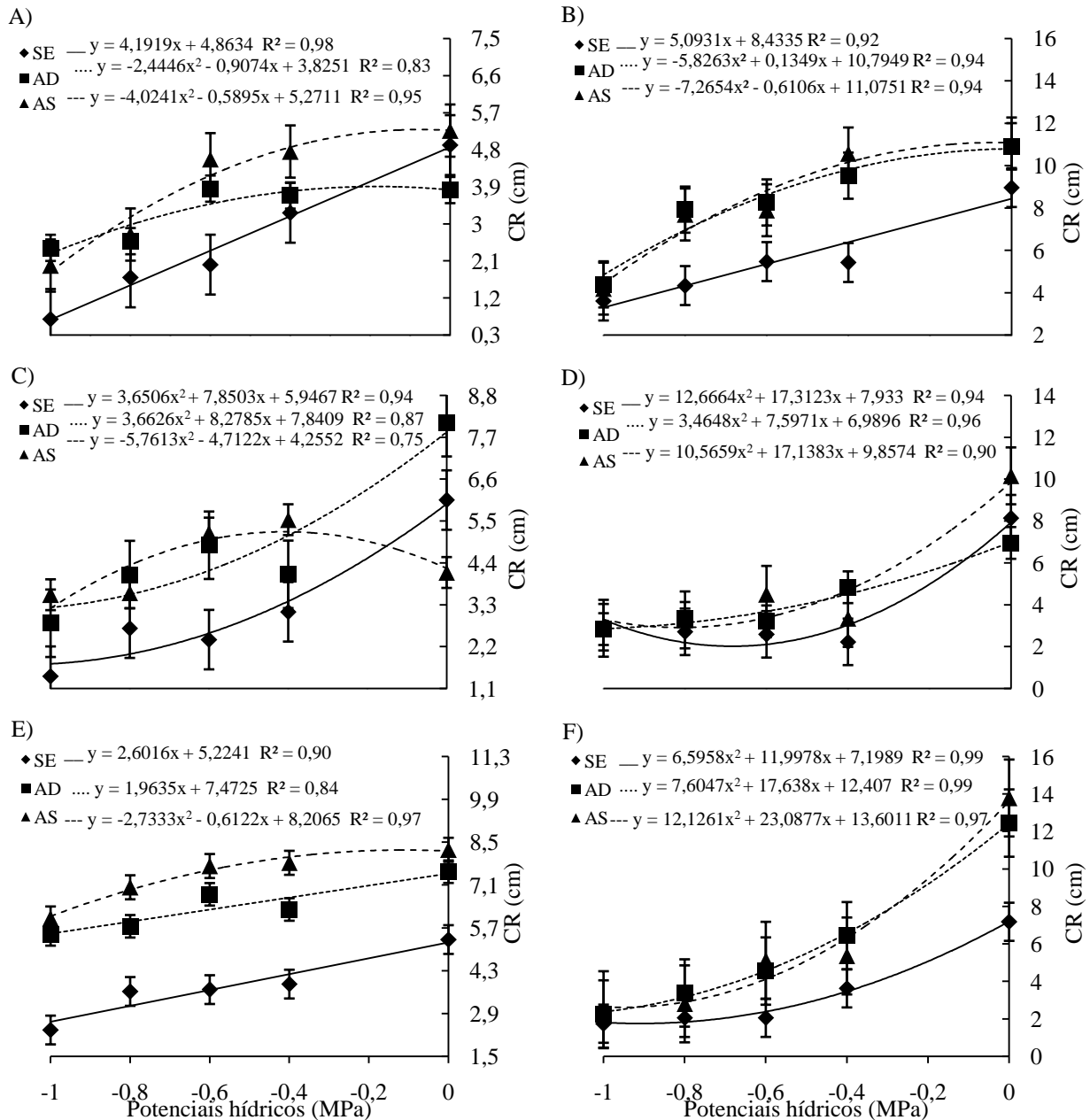


Figura 9. Comprimento da raiz (CR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

Destaque-se, que nas cultivares BRS Aracê, BRS Itaim e BRS Potengi a embebição das sementes em AS reduziu o CC das plântulas sob o potencial de 0 MPa, quando comparado à embebição em AD (Figura 7C, E e F). Ainda na BRS Itaim, a embebição das sementes em AS promoveu um acréscimo no crescimento da plântula com a diminuição da disponibilidade de água, obtendo-se os máximos estimados de CC (2,25 cm) no potencial estimado de -0,264 MPa, CR (8,24 cm) no potencial de -0,112 MPa e CT (10,46 cm) no potencial de -0,177 MPa.

Comumente, os primeiros processos celulares a serem afetados pela deficiência hídrica são a divisão e a expansão celular, especialmente a expansão, os quais estão relacionados com o crescimento das plantas. Desta maneira, frente ao observado na cultivar BRS Itaim, pode-se inferir que o AS possui um papel efetivo nos processos de expansão e divisão celular, haja vista a manutenção do crescimento das plântulas com a variação dos potenciais hídricos até -0,6 MPa.

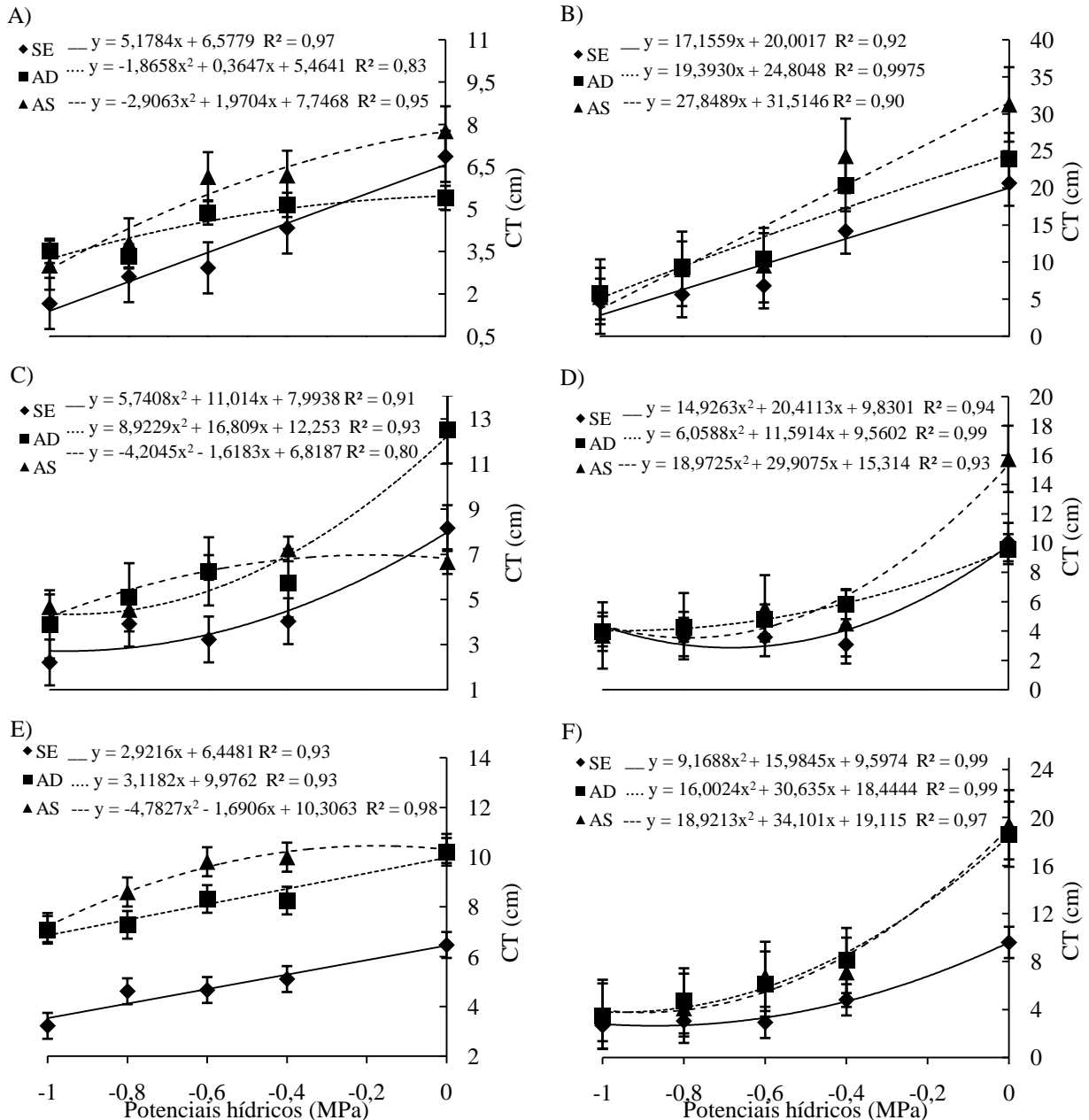


Figura 10. Comprimento total da plântula (CT) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

O vigor é entendido como o poder e a capacidade da semente germinar e crescer em condições adversas de cultivo (HABIBI et al., 2013; SHARAFIZAD et al., 2013), a exemplo da deficiência hídrica. No presente estudo, o aumento da restrição hídrica reduziu o vigor das sementes de feijão caupi em todos os condicionamentos avaliados (Figura 11), o que se deveu as reduções já constatadas na germinação e no crescimento da plântula.

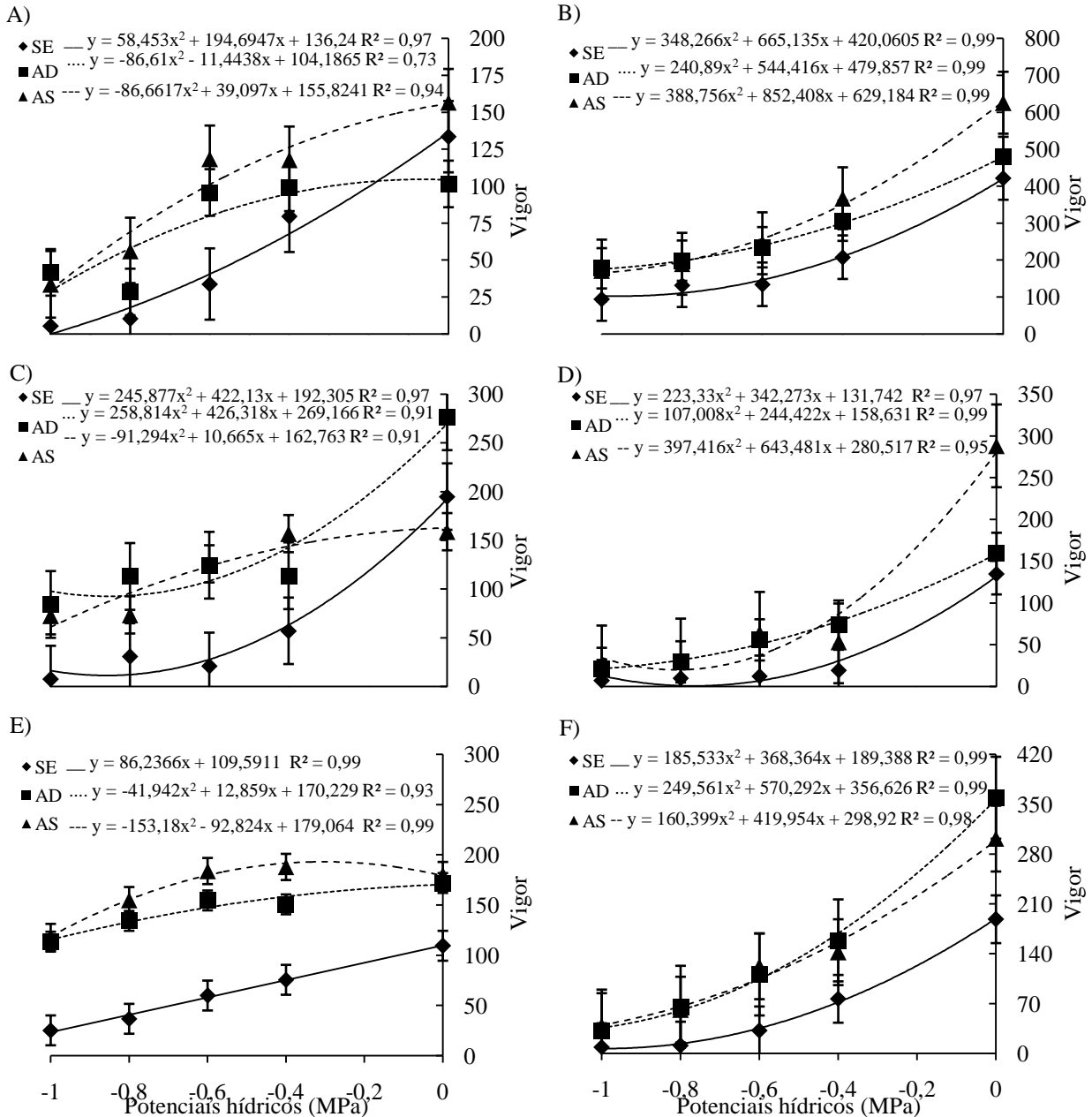


Figura 11. Vigor das sementes (vigor) nas cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).

Tais resultados são consistentes com relatos anteriores, verificados em sementes de feijão comum (MACHADO NETO et al., 2006; AGOSTINI et al., 2013), cominho preto (KABIRI et al., 2012) e trigo (SHARAFIZAD et al., 2013) submetidas a deficiência hídrica durante a germinação, sendo considerada uma resposta típica da planta à falta de água. Nessas condições há um desencadeamento de reações bioquímicas na célula, levando, na maioria dos casos, a uma limitação das funções fisiológicas e, conseqüentemente, a reduções no vigor das sementes sob baixos potenciais hídricos, principalmente naquelas não embebidas (Figura 11).

Por outro lado, a embebição em ácido salicílico durante a pré-semeadura aumentou o vigor médio das sementes de feijão caupi (Tabela 2), podendo estar relacionado com o aumento da atividade antioxidante nas células com conseqüente redução dos danos provocados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plântulas sob estresse hídrico.

Nas cultivares BRS Guariba, BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã o tratamento com AS melhorou significativamente o vigor das sementes no potencial de 0 MPa (Figura 11A, B e D). Com a diminuição do potencial de 0 para -0,4 MPa, ou mais, não foi verificada diferença estatística entre os dois tipos de embebição (AD e AS) para as cultivares BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã, diferentemente do observado para a BRS Guariba, onde a aplicação de AS foi efetiva no aumento do vigor das sementes até o potencial hídrico de -0,8 MPa (Figura 11A). Em outro aspecto, a cultivar BRS Itaim submetida à aplicação de AS, teve o vigor das sementes incrementado com a diminuição do potencial até -0,303 MPa, obtendo-se o máximo estimado de 193,13 (Figura 11E). Nas outras cultivares (BRS Aracê e BRS Potengi), a embebição em ácido salicílico durante a pré-semeadura reduziu o vigor das sementes no maior potencial (0 MPa), obtendo, nos demais potenciais, valores semelhantes aos encontrados com a embebição em AD (Figura 11C e F).

Avaliando o efeito do choque térmico e da aplicação de ácido salicílico como indutores de tolerância ao déficit hídrico em feijão comum, Yamamoto et al. (2014) não verificaram efeito significativo do AS sobre o vigor das sementes, contudo houve um aumento do mesmo com a redução do potencial osmótico até -0,51 MPa, seguido de uma queda até -1,2 MPa. Os autores supracitados revelaram, ainda, que esse comportamento pode ser um indicativo de que uma leve restrição de água pode melhorar o vigor das sementes, como observado na BRS Itaim (Figura 11E), visto que aumenta a disponibilidade de oxigênio e diminui a taxa de absorção de água, a qual possui relação direta com os danos provocados nos tecidos da semente pela rápida embebição.

4.3. Acúmulo de fitomassa seca

Em concordância com os resultados observados para os crescimentos da haste caulinar, da raiz e total, a redução do potencial osmótico e o condicionamento antes da semeadura também influenciaram o acúmulo de fitomassa da haste caulinar, da raiz e total das cultivares de feijão caupi. Os efeitos do déficit hídrico sobre o acúmulo de fitomassa foram amenizados nas cultivares de feijão caupi submetidas à embebição em AD e AS durante a pré-semeadura. A embebição das sementes incrementou significativamente o acúmulo de fitomassa das cultivares de feijão caupi, sendo os maiores valores de fitomassa da haste caulinar (FSC) e total (FST) encontrados com a embebição em AD. Já a embebição em solução de AS aumentou a fitomassa seca da raiz (FSR) das plântulas, no entanto o aumento não foi significativo, quando comparado a embebição em AD (Tabela 2).

Os resultados verificados para FSC e FST sob aplicação de AS podem ser considerados atípicos, visto que no presente estudo o mesmo ácido incrementou o crescimento da plântula (Tabela 2), contrapondo, assim, a forte correlação observada entre o crescimento e o acúmulo de fitomassa das cultivares de feijão caupi. Respostas semelhantes foram averiguadas por Agostini et al. (2013) e Yamamoto et al. (2014), na ocasião, os autores observaram um maior acúmulo de fitomassa nas plântulas oriundas de sementes tratadas com AS, comportamento este relacionado com o aumento do crescimento do feijoeiro comum, porém não houve diferença entre o AS e o tratamento controle (embebição em água destilada).

O acréscimo da restrição hídrica influenciou negativamente o acúmulo de matéria seca da haste caulinar (FSC), independentemente do condicionamento, em todas as cultivares de feijão caupi, exceto na BRS Itaim (Figura 12E), onde os valores de FSC obtidos nas sementes embebidas em AD ajustaram-se ao modelo quadrático, com o máximo estimado de 0,118 g/planta encontrado no potencial referente a -0,276 MPa, valor esse significativamente superior ao máximo estimado (0,092 g/planta) encontrado com a embebição em AS no potencial de -0,488 MPa. Esse comportamento contribuiu diretamente com as menores reduções de FSC observada entre as cultivares. Por outro lado, a cultivar mais sensível ao aumento da restrição hídrica foi a BRS Aracê, sendo constatados decréscimos na FSC de 822,41% nas plântulas oriundas de sementes sem embebição, 1503,73% com embebição das sementes em água purificada e 932,48% com a embebição em ácido salicílico (Figura 12C).

Em relação às cultivares, o maior acúmulo médio de FSC foi verificado também na BR 17 Gurguéia (0,107 g/planta), superando em 137,77% o menor valor (0,045 g/planta) encontrado na BRS guariba (Tabela 2). Ainda nessas cultivares, a embebição em AS melhorou a FSC das plântulas nos potenciais 0 e -0,4 MPa (Figura 12B e A), o mesmo foi verificado na BRS Potengi

submetida ao potencial negativo de 0,4 MPa (Figura 12F), no entanto, nos demais potenciais, não foram encontradas diferenças significativas entre a FSC das plântulas oriundas de sementes embebidas em AD e AS (Figura 12B e A).

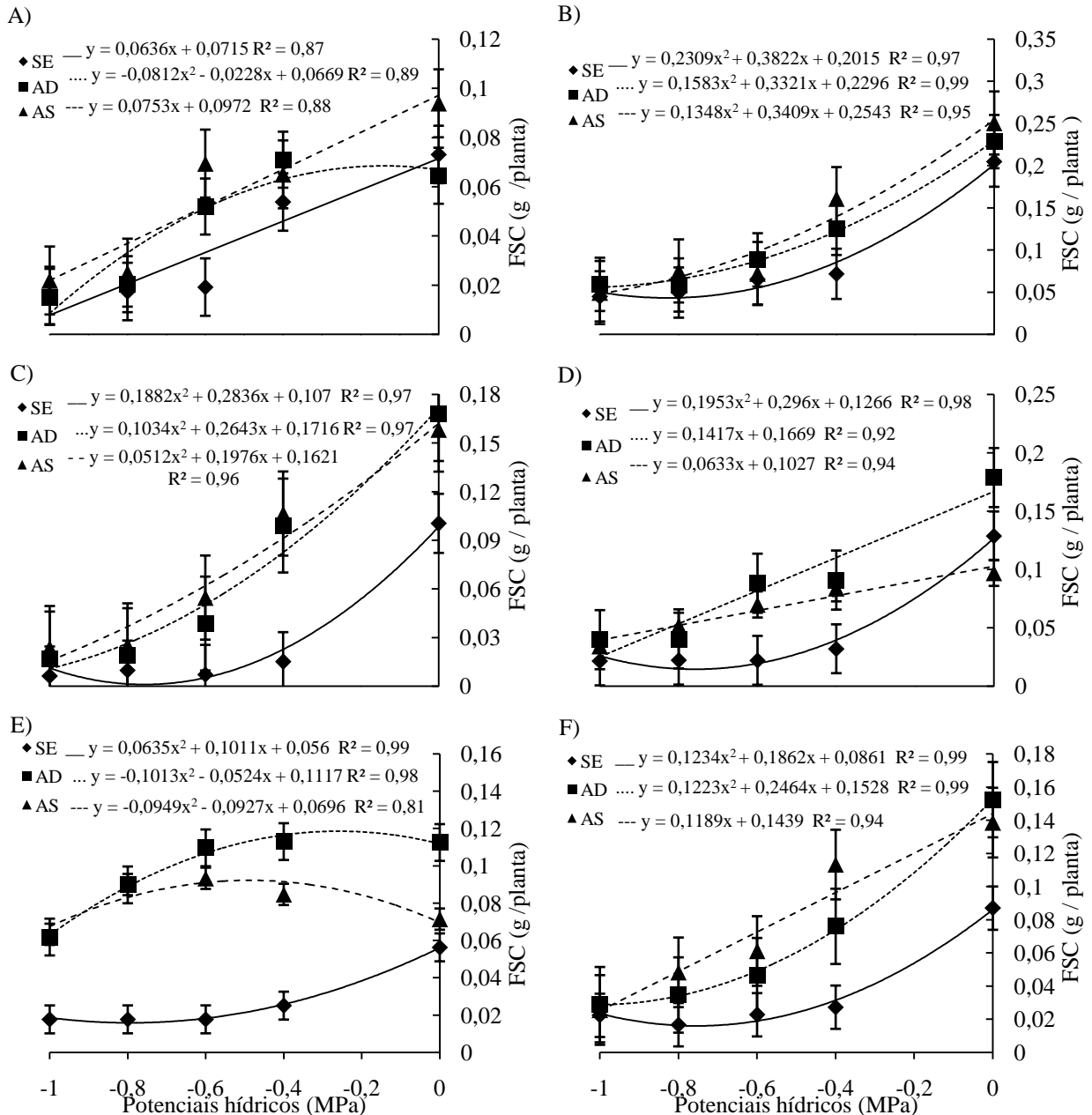


Figura 12. Fitomassa seca da haste caulinar (FSC) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).

Em relação à fitomassa seca da raiz (FSR), os maiores decréscimos (1148,57%, 1058,02% e 948,72%) com o aumento da restrição hídrica também foram averiguados na BRS Aracê quando condicionada sob embebição em AD e AS, e sem embebição, respectivamente (Figura 13C), resultados análogos aos obtidos para a FSC (Figura 12C), o que pode ser considerado uma maior sensibilidade à escassez de água no substrato.

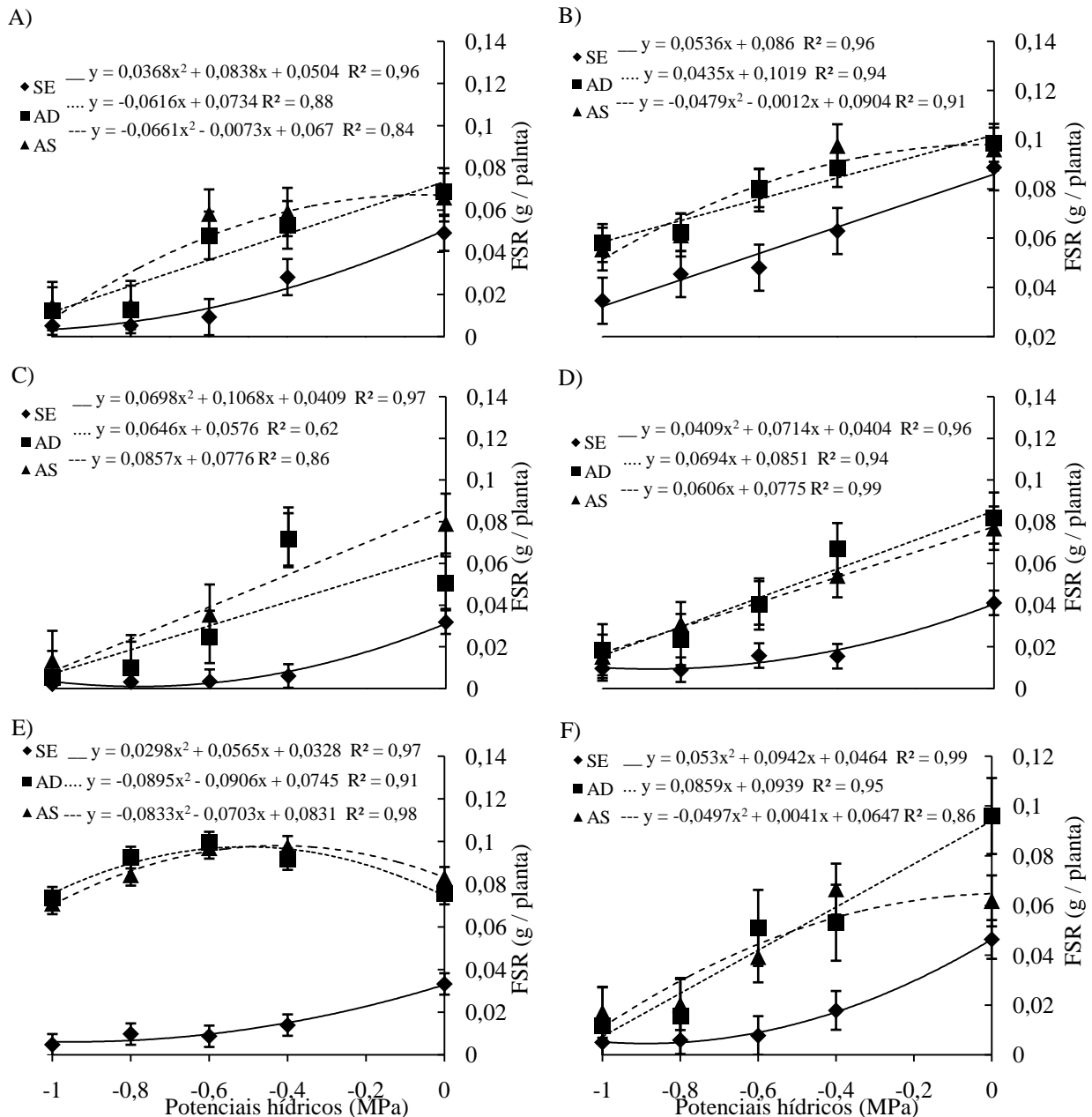


Figura 13. Fitomassa seca da raiz (FSR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataóã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

As menores reduções no acúmulo de fitomassa da raiz foram científicas na BRS Itaim (Figura 13E), principalmente nas plântulas oriundas de sementes com embebição, as quais tiveram os valores ajustados para o modelo polinomial quadrático, com os máximos estimados (0,0974 e 0,0979 g/planta) encontrados nos potenciais de -0,506 com a embebição em AD e -0,422 MPa com a embebição em AS. Acrescente-se que a redução do potencial a partir desses pontos (-0,506 e -0,422 MPa) provocou decréscimos de 28,83% e 39,66% na FSR para a embebição em AD e em AS, respectivamente.

Diferentemente do observado para o comprimento da raiz, não houve diferença significativa entre as FSR obtidas com embebição em AS e em AD (Tabela 2). Esse comportamento reforça a hipótese de que o AS possui um papel no alongamento da raiz principal, o que pode ser importante para o cultivo em solos mais secos onde a água se encontra nos perfis mais profundos, contudo, este maior investimento na raiz principal pode limitar a emissão de raízes secundárias tendo reflexo direto sob o acúmulo de fitomassa, justificando a tendência verificada no presente estudo.

Em conformidade com os resultados obtidos para FSC e FSR, a restrição hídrica influenciou negativamente o acúmulo de fitomassa total (FST), sendo mais efetivo também na cultivar BRS Aracê (Figura 14C). Os menores decréscimos de FST foram novamente obtidos na cultivar BRS Itaim (Figura 14E), sendo, no entanto, os maiores valores novamente verificados na BR 17 Gurguéia (Tabela 2). A embebição das sementes em AS aumentou o acúmulo de fitomassa total das cultivares BRS Guariba, BR 17 Gurguéia e BRS Aracê, porém não diferiram da embebição em AD, exceto para a BRS Guariba, que obteve a maior FST no potencial de 0 MPa com a aplicação de AS (Figura 14A).

Por outro lado, foi constatado um incremento no acúmulo de fitomassa total das cultivares BRS Marataoã e BRS Itaim submetidas à embebição em AD no maior potencial hídrico (Figura 14D e E), sendo semelhante estatisticamente a embebição em AS nos demais potenciais. Em outros estudos, a aplicação de AS foi efetiva no aumento da fitomassa total em plântulas de feijão comum, quando comparada com o choque frio com ou sem o AS, porém não diferiu do tratamento controle (embebição em água destilada) (AGOSTINI et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2014).

De maneira geral, as melhorias de germinação, crescimento e acúmulo de fitomassa seca científicas no presente estudo com a embebição das sementes em AS, pode ser resultado da interação do referido ácido com outros reguladores de crescimento (auxinas, ácido indolacético, ácido giberélico, citocininas, ácido jasmônico, entre outros), induzindo uma maior tolerância ao estresse hídrico (KANG et al., 2014).

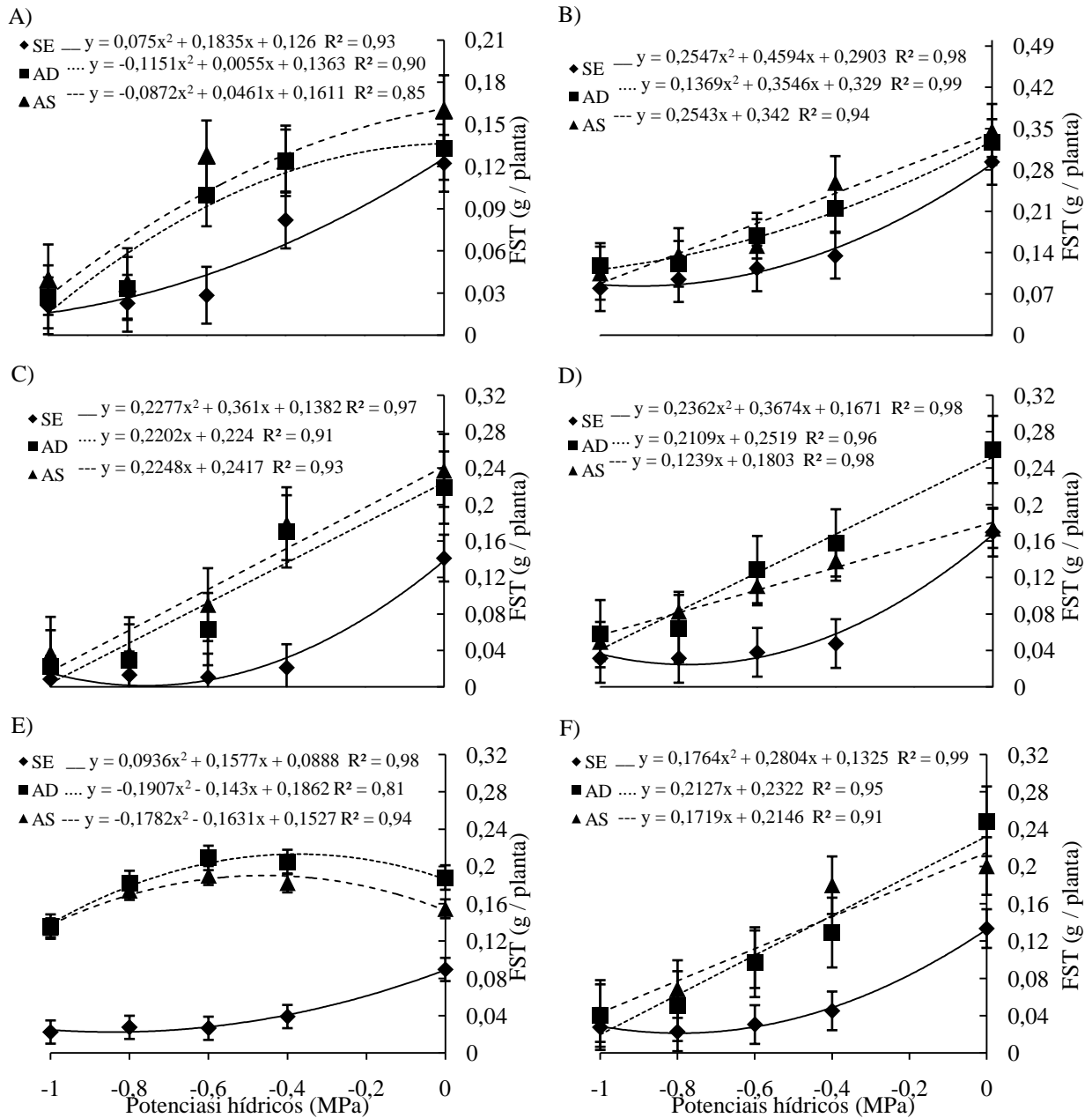


Figura 14. Fitomassa seca total (FST) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico ($10^{-5}M$).

A superioridade da cultivar BR 17 Gurguéia nos potenciais menos negativos, observada com a embebição das sementes, não foi confirmada nos demais potenciais hídricos. Com o acréscimo da restrição hídrica, os parâmetros da BR 17 Gurguéia tenderam a se igualar aos observados nas sementes sem a embebição. Desta maneira, pode-se inferir que a embebição das sementes não induziu, totalmente, a tolerância ao déficit hídrico na BR 17 Gurguéia.

Por outro lado, a cultivar BRS Itaim foi a única em que a embebição foi efetiva na melhoria de todos os parâmetros sob o aumento da restrição hídrica, nela foi observado certa manutenção da maioria dos parâmetros nos potenciais intermediários (-0,4 a -0,8 MPa), sendo os menores valores obtidos nos substratos com 0 e -1,0 MPa, respectivamente. Esta redução verificada com o maior potencial pode ser explicada pela alta taxa de absorção das sementes, observada para esta cultivar (Figura 6B), o que possivelmente ocasionou danos aos tecidos da semente durante a embebição, danos esses suprimidos na presença dos potenciais hídricos intermediários, que exerceram um maior controle sobre a taxa de embebição da semente.

Não obstante, as maiores sensibilidades ao déficit de água foram averiguadas nas cultivares BRS Marataoã e BRS Aracê, sendo a primeira mais sensível durante a germinação e a outra durante o crescimento. Diferentemente do estudo em questão, Silva (2014) avaliando o comportamento fisiológico e produtivo de cultivares de feijão caupi sob diferentes lâminas de irrigação, obteve resultados semelhantes estatisticamente para o acúmulo de fitomassa entre as cultivares BRS Aracê, BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã, sendo esta última superior quanto aos parâmetros de produção.

Todavia, como os nossos resultados foram obtidos em plântulas, sua adaptação ao ambiente de cultivo, pode estar relacionada com outros fatores de tolerância à seca, tais como: idade da planta, profundidade do sistema radicular, mecanismo de abertura e fechamento estomático, intensidade e duração do estresse, entre outros (GIROTTO et al., 2012). Desta maneira, a realização de experimentos em campo com as mesmas cultivares, em outras fases fenológicas, são essenciais para a geração de conhecimentos a cerca do mecanismo de ação do AS, da tolerância à seca, bem como a seleção de cultivares com maior capacidade adaptativa as condições de deficiência hídrica.

4.4. Atividade das enzimas antioxidantes

Na Tabela 3 encontram-se os resumos da análise de variância para a atividade das enzimas antioxidantes e o teor de prolina livre em cultivares de feijão caupi, onde se observa o efeito significativo do condicionamento ($p < 0,01$), dos potenciais ($p < 0,01$) e da interação entre estes fatores sobre a atividade da SOD, CAT e APX e o acúmulo de prolina livre. Observa-se ainda que os efeitos do condicionamento e dos potenciais hídricos, bem como da interação destes sobre as variáveis bioquímicas estão intimamente relacionados com a cultivar, resposta justificada pela interação significativa ($p < 0,01$) entre os três fatores. A maior atividade da SOD foi averiguada em média nos hipocótilos e raízes de feijão caupi com a embebição das sementes.

Tabela 3. Resumo da análise de variância para as variáveis: superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase e prolina livre no cotilédono + epicótilo + folha (SOD CEF, CAT CEF, APX CEF e PRO CEF) e no hipocótilo + raiz (SOD HR, CAT HR, APX HR e PRO HR), respectivamente, em cultivares de feijão caupi acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000 Campina Grande, PB, 2015.

F. V	G. L	Quadrado médios							
		SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
Cultivar (C)	5	9,594**	19,474**	3953,447**	9853,554**	823705,781**	17762966,153**	0,710**	1,506**
Condição (E)	2	3,127**	2,926**	151,178*	237,229**	82715,356**	7395665,115**	0,058**	0,980**
Potencias (P)	4	0,796**	10,988**	940,692**	348,922**	16610,303**	937706,752**	1,134**	3,464**
Int. CxE	10	0,961**	1,473**	474,314**	413,032**	95122,273**	3519548,263**	0,134**	0,420**
Int. CxP	20	1,032**	3,223**	600,370**	897,669**	24335,118**	398372,782**	0,142**	0,255**
Int. ExP	8	1,060**	2,160**	377,394**	814,805**	15606,854**	667492,487**	0,046**	0,051**
Int. CxExP	40	0,317**	1,018**	436,556**	867,450**	15715,056**	325284,072**	0,052**	0,182**
Resíduo	360	0,047	0,028	46,235	10,012	1023,801	14707,727	0,00018	0,002
C. V (%)		20,58	10,89	19,61	10,62	22,75	16,51	4,56	7,29
Média das cultivares									
BRS Guariba		0,986b	1,663b	30,122c	31,343d	47,231e	1160,216b	0,451a	0,869a
BR 17 Gurguéia		0,830c	2,417a	32,274c	33,011c	99,635d	459,853d	0,185f	0,482e
BRS Aracê		1,540a	1,183c	48,668a	9,240f	160,780b	416,027d	0,311c	0,675c
BRS Marataoã		0,824c	1,034d	31,028c	26,394e	139,439c	310,918e	0,273d	0,710b
BRS Itaim		1,467a	1,230c	36,292b	42,955a	335,195a	1515,680a	0,212e	0,508d
BRS Potengi		0,700d	1,725b	29,639c	35,872b	61,593e	543,597c	0,352b	0,661c
DMS		0,101	0,078	3,182	1,480	14,973	56,753	0,006	0,022
Médias das condições									
Sem embebição		0,912c	1,701a	34,215a	29,929b	114,871c	497,757c	0,317a	0,736a
Embebição em AD		1,061b	1,486b	33,975a	28,487c	160,827a	767,190b	0,277c	0,575c
Embebição em AS		1,201a	1,439c	35,821a	30,992a	146,827b	938,199a	0,298b	0,641b
DMS		0,059	0,045	1,848	0,860	8,697	32,966	0,003	0,013

F.V – Fontes de variação; G. L. – Graus de liberdade; C. V. – Coeficiente de variação; Int. – Interação; **, * - Significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

O déficit hídrico juntamente com condicionamento das sementes na pré-semeadura alteraram a atividade da superóxido dismutase nos cotilédones, epicótilos e folhas (SOD CEF) do feijão caupi, sendo as respostas dependentes das cultivares (Figura 15). De maneira geral, a embebição das sementes influenciou positivamente a atividade da SOD nos cotilédones, epicótilos e folhas (Figura 15).

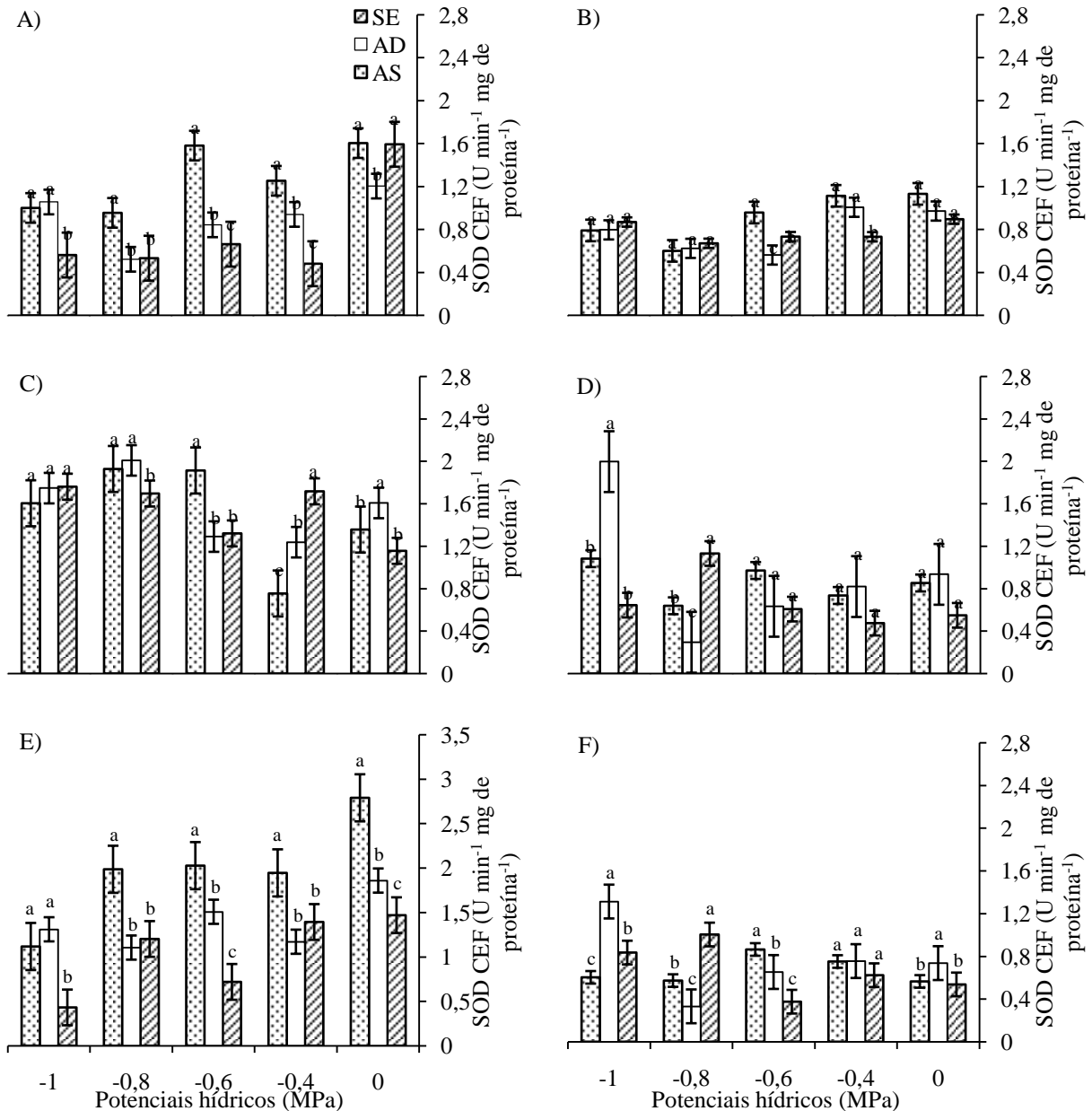


Figura 15. Atividade da enzima superóxido dismutase nos cotilédones + epicótilos + folhas (SOD CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

Com a embebição em AS, por exemplo, observou-se um acréscimo significativo da atividade da SOD CEF em todas as cultivares (Figura 15), quando expostas ao potencial hídrico referente à -0,6 MPa, não sendo significativo apenas para a BRS Marataoã (Figura 15D). Destaque-se, que o maior valor de SOD CEF ($2,79 \text{ U SOD min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$) com a embebição em AS, foi obtido na BRS Itaim quando cultivada no potencial de 0 MPa, e que o referido ácido permitiu uma manutenção da atividade média ($1,98 \text{ U SOD min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$) da SOD CEF entre os potenciais -0,4 e -0,8 MPa (Figura 15E), a qual foi superior a todas as atividades registradas nas outras cultivares.

Tendência semelhante foi verificada na BRS Guariba, onde o AS aumentou a atividade da SOD CEF em 33,29% no potencial de -0,4 MPa, 87,42% no de -0,6 MPa e 82,62% no potencial de -0,8 MPa, quando comparado com a embebição em AD (Figura 15A). Para a BR 17 Gurguéia (Figura 15B), foi observado redução da atividade de SOD CEF com o aumento da restrição hídrica, onde, para a maioria dos potenciais (0, -0,8 e -1,0 MPa), não foram verificados diferenças entre os tipos de condicionamentos (SE, AD e AS), sendo, no entanto, correlacionados positivamente com o CT (Figura 16A) e o vigor (Figura 16B).

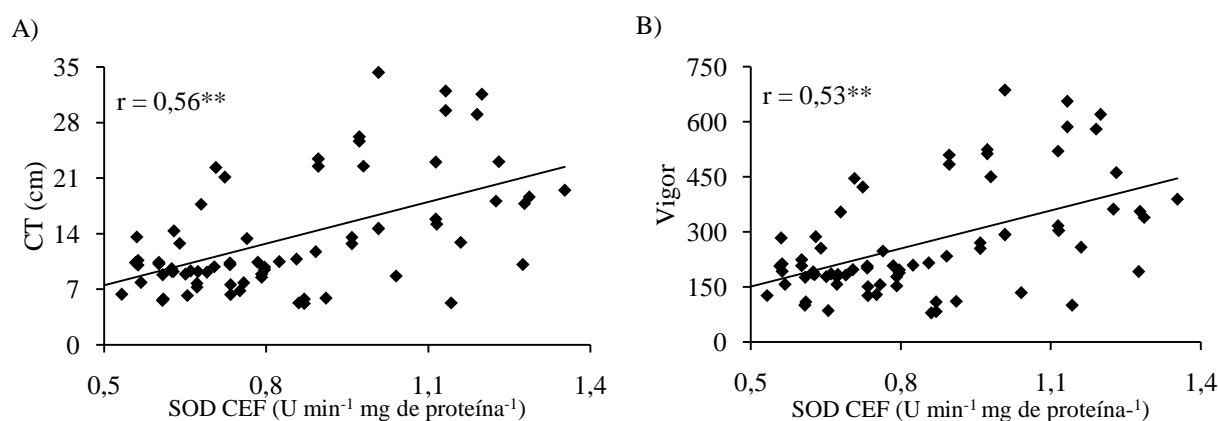


Figura 16. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos cotilédones, epicótilos e folhas (SOD CEF) e comprimento total das plântulas (CT) (A) e o vigor das sementes (B) da cultivar BR 17 Gurguéia acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

O ácido salicílico exerce um papel importante na modulação das respostas contra o estresse hídrico, como o aumento da atividade antioxidante (KANG et al., 2014). Para Gill e Tuteja (2010) a regulação positiva da SOD está relacionada com o combate do estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico, tendo um papel crítico na sobrevivência das plantas em ambientes com maiores limitações de água.

No trabalho em questão, o aumento da atividade da SOD CEF, observado nas cultivares BRS Guariba e BRS Itaim sob deficiência hídrica, foi responsável pela minimização dos efeitos deletérios do radical superóxido sobre as estruturas celulares, o que permitiu uma maior tolerância das cultivares à deficiência hídrica. Esta hipótese é justificada pela existência de correlação linear significativa entre a SOD CEF e o CT (Figura 17A e C) e o vigor das sementes (Figura 17B e D) das cultivar BRS Guariba e BRS Itaim, respectivamente. Por outro, não foram verificados correlações entre a SOD CEF, o crescimento e o vigor de sementes das cultivares BRS Aracê, BRS Marataoã e BRS Potengi, o que justifica as maiores reduções observadas com o incremento da restrição hídrica, resultado da não eliminação, por parte da SOD, dos radicais superóxidos, o que pode ter provocado danos as estruturas celulares.

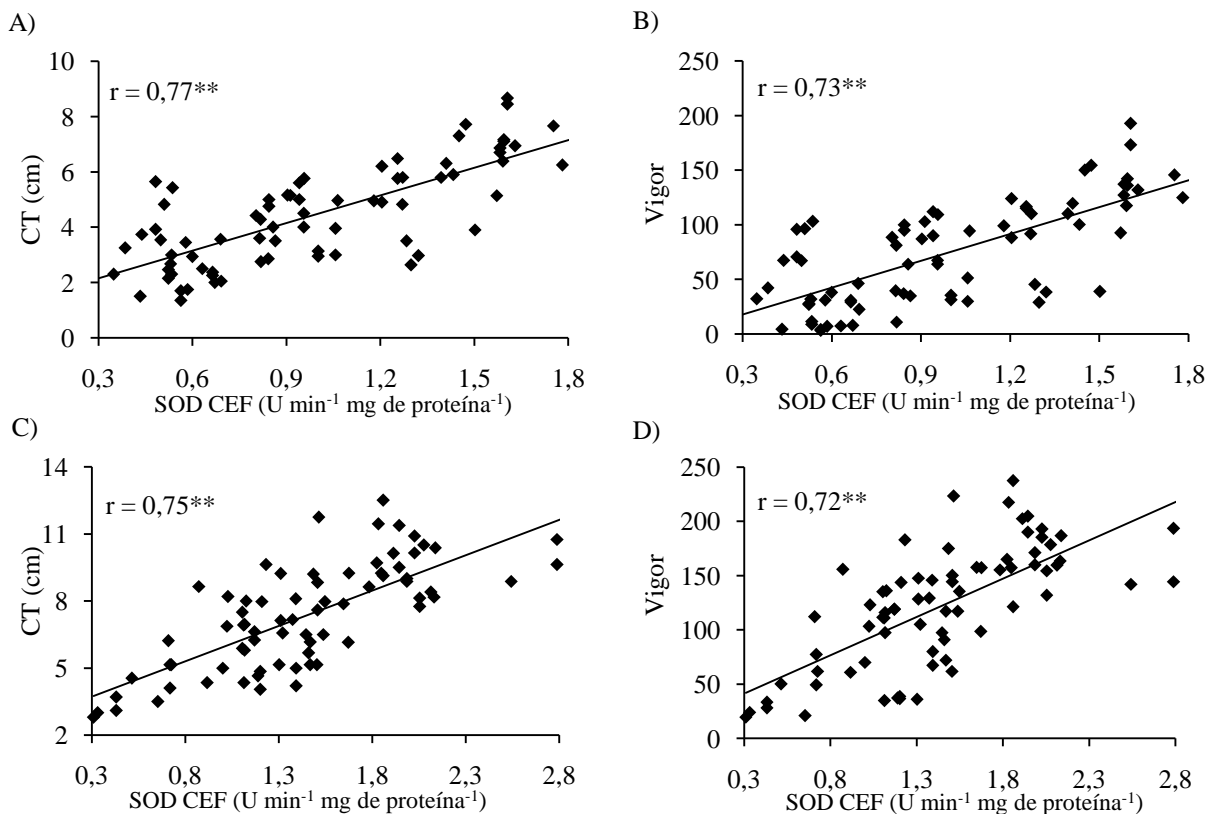


Figura 17. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase (SOD) nos cotilédone, epicótilos e folhas (CEF), comprimento total das plântulas (CT) e vigor das sementes das cultivares BRS Guariba (Figura 17A e B) e BRS Itaim (Figura 17C e D) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

A embebição das sementes não aumentou a atividade da SOD nos hypocótilos e raízes (SOD HR), sendo os maiores valores obtidos nas sementes sem embebição (Tabela 3). De modo contrário ao observado para a SOD CEF, o ácido salicílico reduziu a atividade da SOD HR, principalmente nas cultivares BRS Guariba, BR 17 Gurguéia, BRS Marataoã e BRS Potengi expostas aos potenciais mais negativos (Figura 18A, B, D e F).

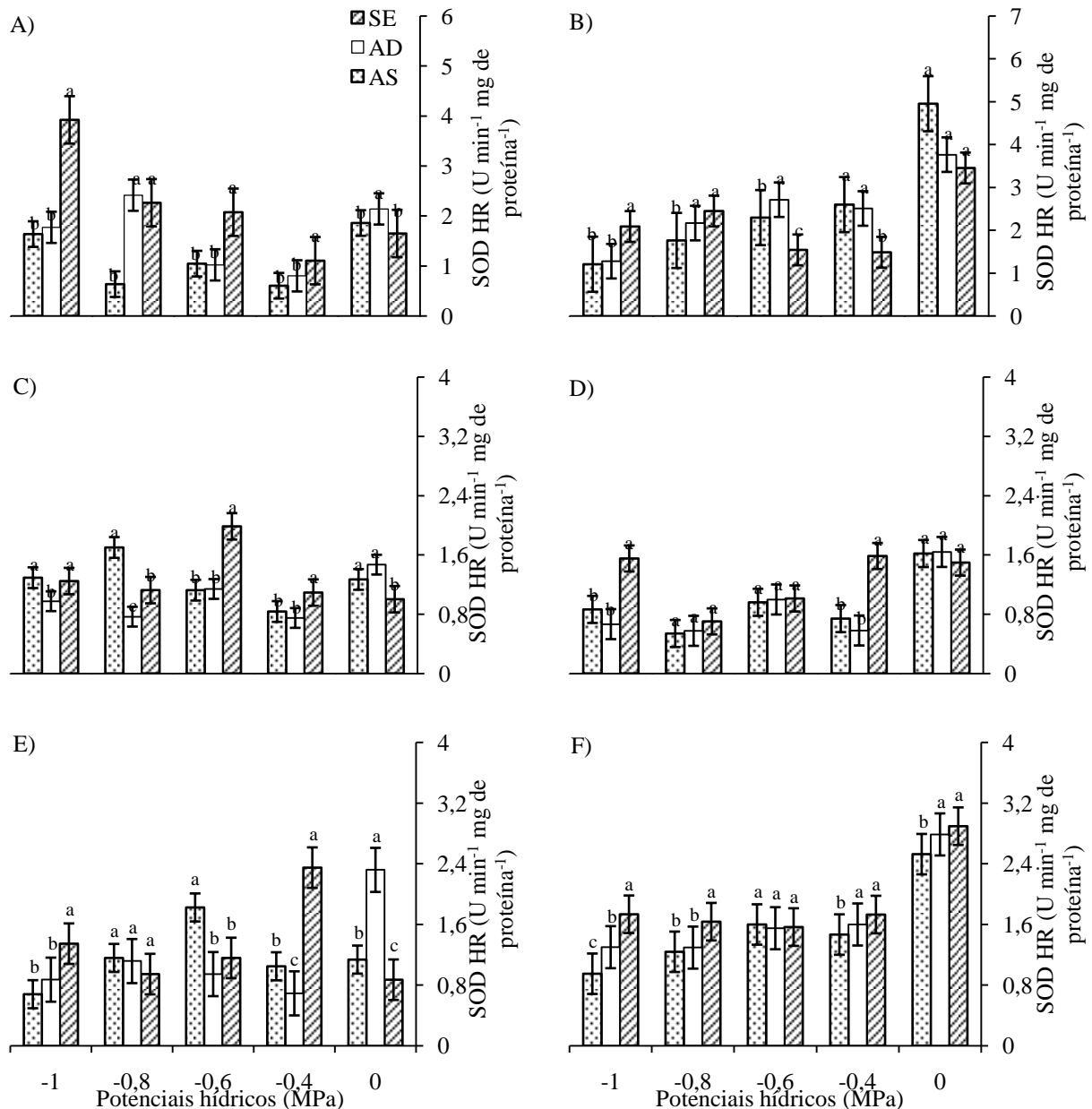


Figura 18. Atividade da enzima superóxido dismutase nos hypocótilos + raízes (SOD HR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Arcê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

Resultados semelhantes foram averiguados por Yamamoto et al. (2004), na ocasião foi observado que a embebição em ácido salicílico, associado ou não ao choque frio, reduziu a atividade da SOD em sementes de feijão comum quando comparado com o choque frio, contudo não houve diferença entre o AS e controle (embebição em água destilada). Por outro lado, com base em relatos anteriores (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014), em nível fisiológico, a aplicação exógena de ácido salicílico tem sido utilizada para melhorar a atividade das enzimas antioxidantes, sendo efetivo no aumento da SOD em plantas de tomate sob deficiência hídrica (HAYAT et al., 2008), o que levou ao aprimoramento da tolerância do vegetal ao fator de estresse, por reduzir o nível de radicais superóxido e, conseqüentemente, os danos celulares.

Esta oposição averiguada entre resultados acima, pode ser justificada pela diferença entre espécies, fases fenológicas, doses de ácido salicílico, métodos de aplicação, intensidades do estresse, entre outros. Esta conjectura reforça a necessidade da realização de outros experimentos abordando a aplicação de outras doses de AS, em fases fenológicas distintas da cultura e etc., o que poderia subsidiar uma resposta mais aprofundada do papel do ácido salicílico sobre o feijão caupi, e sua tolerância ao déficit hídrico.

Entre as cultivares, as maiores atividades de SOD HR foram registradas na BR 17 Gurguéia, especialmente nos maiores potenciais hídricos. Para essa mesma cultivar houve um decréscimo da SOD HR com o aumento da restrição hídrica (Figura 18B), o mesmo comportamento verificado para o comprimento da raiz (CR) (Figura 9B) e fitomassa seca da raiz (FSR) (Figura 13B). Desta maneira, pode-se inferir que a atividade da SOD HR está intimamente relacionada com o crescimento e acúmulo de massa seca da raiz da BR 17 Gurguéia, o que justifica a correlação linear positiva entre a SOD HR e a FSR (Figura 19A). As mesmas reduções de SOD HR com a diminuição do potencial hídrico foram obtidas nas cultivares BRS Marataoã, BRS Itaim e BRS Potengi, estando também correlacionadas com o crescimento da raiz (Figura 19B e C), exceto para a BRS Itaim (Figura 19D), respectivamente.

Em estudo anterior, o aumento da restrição hídrica também aumentou a atividade da SOD das cultivares de feijão caupi (BRS Aracê, BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã), sendo esta atividade reduzida com a reidratação da planta, principalmente na BRS Marataoã, indicando um possível mecanismo de recuperação ao estresse e, conseqüentemente, uma maior adaptabilidade da cultivar ao estresse hídrico, o que foi ratificado pela maior produção verificada entre as cultivares (SILVA, 2014). Esta regulação da atividade da SOD na BRS Marataoã não foi confirmada no trabalho em questão, o que resultou em maior sensibilidade da cultivar ao déficit hídrico. O autor supracitado verificou, ainda, uma semelhança na atividade da SOD entre as cultivares submetidas a maior disponibilidade hídrica no solo, o que poderia indicar a regulação

da SOD somente quando os tecidos vegetais passam por alguma alteração fisiológica provocada pela deficiência de água. No presente trabalho este comportamento não foi constatado, porém a diferença observada pode ser explicada pela interação da cultivar com o condicionamento, durante a pré-secmeadura, e suas respectivas respostas.

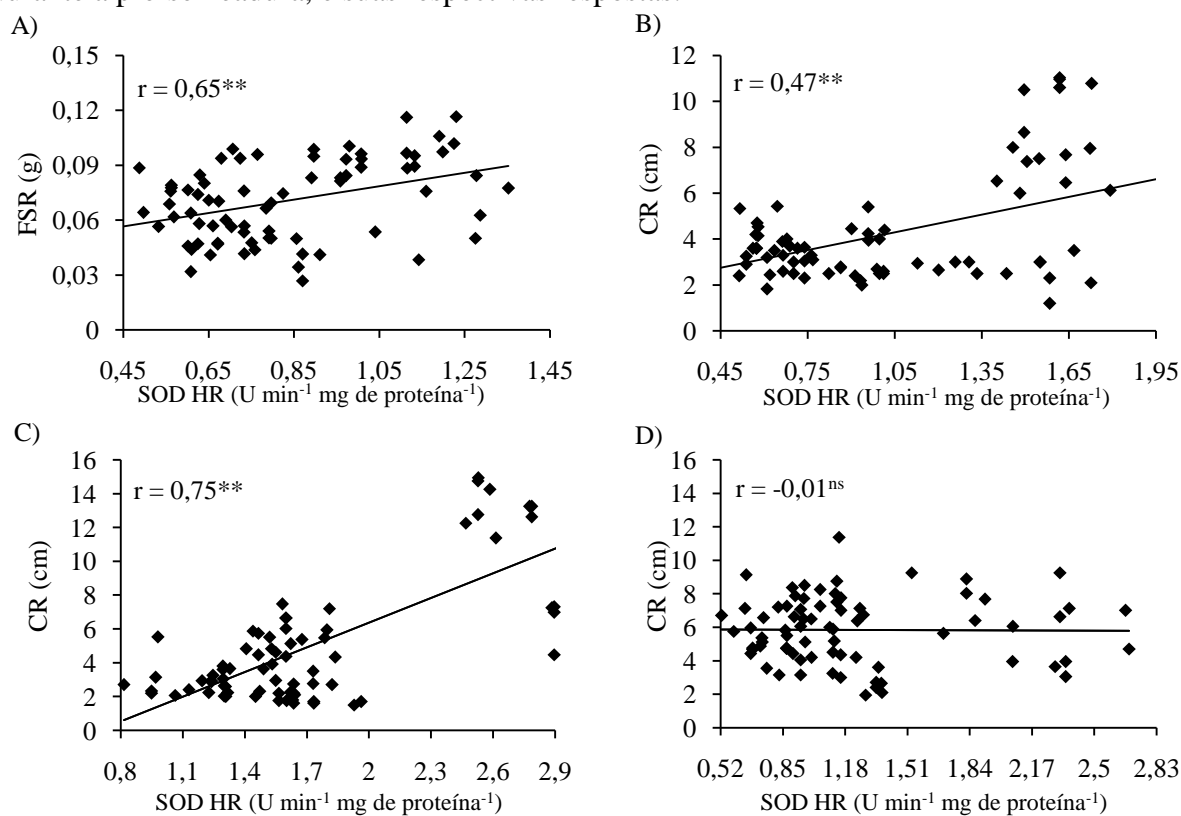


Figura 19. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos hipocótilos e raízes (SOD HR) e fitomassa seca da raiz (FSR) da BR 17 Gurgueia (A), e da SOD HR com o comprimento da raiz (CR) das cultivares BRS Marataoã (B), BRS Potengi (C) e BRS Itaim (D) condicionadas durante a pré-secmeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

A superóxido dismutase, pertencente ao grupo das metaloenzimas, é a mais eficaz barreira enzimática antioxidante presente nos compartimentos subcelulares sujeitos a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), a qual atua diretamente na amenização do estresse oxidativo (GILL e TUTEJA, 2010). É sabido que vários estresses ambientais, muitas vezes, levam ao aumento da geração de EROs na célula e que a SOD exerce um papel importante na tolerância ao estresse de plantas, representando a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos do radical superóxido (GRATÃO et al., 2005; GILL e TUTEJA, 2010). A superóxido dismutase (SOD) é responsável pela dismutação do radical superóxido, gerando oxigênio molecular (O₂) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (BARBOSA et al., 2014), que serão posteriormente eliminados pelas catalases (CAT) e ascorbato peroxidases (APX).

A atividade da catalase nos cotilédones, epicótilos e folhas (CAT CEF) foi reduzida com o aumento da restrição hídrica em todas as cultivares de feijão caupi (Figura 20), independente do condicionamento, exceto a BRS Aracê onde a diminuição do potencial incrementou a atividade desta enzima (Figura 20C).

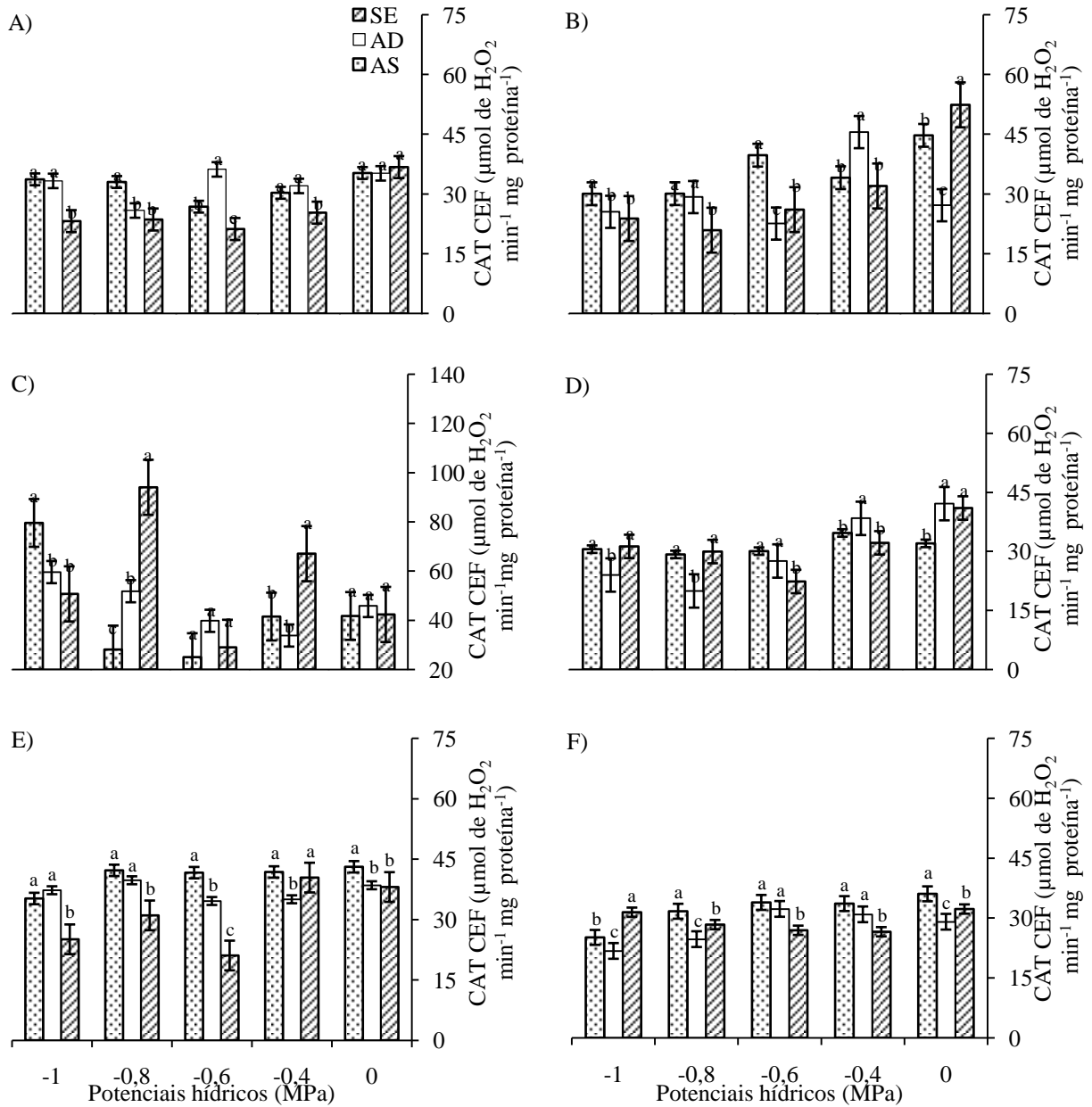


Figura 20. Atividade da enzima catalase nos cotilédones + epicótilos + folhas (CAT CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5} M).

Comparando os tipos de condicionamento, não foram verificadas diferenças significativas entre os mesmos (Tabela 3), sendo os maiores valores de CAT CEF encontrados, especialmente, com aplicação de ácido salicílico, com ressalva das cultivares BRS Aracê e BRS Marataoã, onde as maiores atividades para CAT CEF foram verificadas sem embebição e embebição em AD, respectivamente (Figura 20C e D). Não obstante, independentemente do condicionamento na pré-semeadura (SE, AD e AS), as maiores atividades da CAT CEF foram registradas nas cultivares BRS Aracê e BRS Itaim (Tabela 3), não havendo diferença significativa entre as demais cultivares. Para a BRS Itaim foi observado, ainda, uma manutenção da atividade média da CAT CEF com a redução do potencial osmótico até -0,8 MPa nas plântulas oriundas de sementes embebidas em ácido salicílico (Figura 20E), comportamento semelhante ao verificado para a SOD CEF (Figura 15E).

Desta maneira, pode-se inferir, que sob déficit hídrico e aplicação de AS, o excesso de radicais superóxidos produzidos foi compensado pelo acréscimo na atividade da SOD CEF, produzindo o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que, posteriormente, foi eliminado pela atividade da CAT CEF, minimizando, assim, os efeitos deletérios provocados pela geração EROs nas células, o que reflete diretamente em ganhos no crescimento, vigor e acúmulo de fitomassa da cultivar exposta a seca. Esta hipótese pode ser justificada pela correlação linear positiva verificada entre a SOD CEF e a CAT CEF (Figura 21A) e da CAT CEF com o vigor das sementes (Figura 21B).

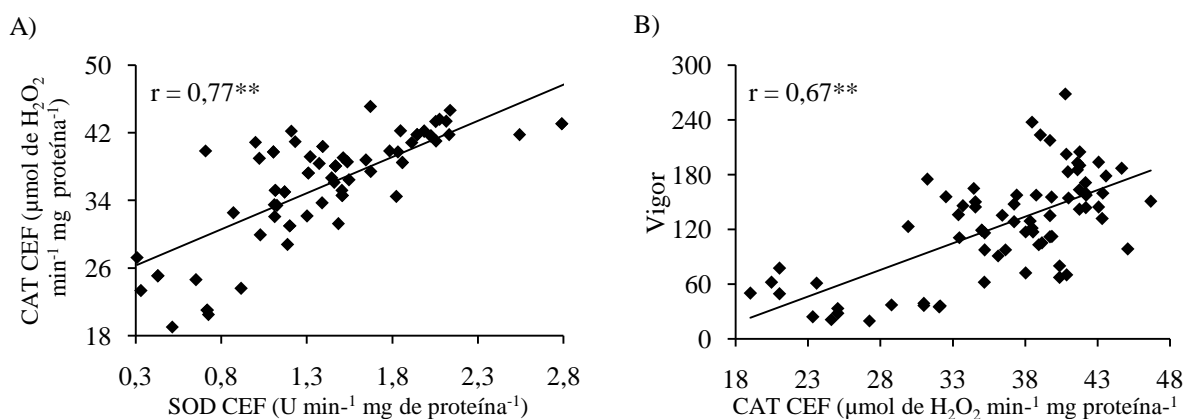


Figura 21. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos cotilédones, epicótilos e folhas (SOD CEF) e catalase nos cotilédones, epicótilos e folhas (CAT CEF) (A) e CAT CEF com o vigor das sementes (vigor) (B) da cultivar BRS Itaim acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

A atividade da catalase nos hipocótilos e raízes (CAT HR) de feijão caupi foi influenciada pelos potenciais hídricos e pelo condicionamento durante a pré-semeadura (Figura 22). A embebição em AS aumentou significativamente a atividade da CAT HR (Tabela 3), quando comparado a SE e AD. Destaque-se, que a embebição das sementes em AD resultou em menor atividade da CAT HR, diferindo estatisticamente da atividade obtida em SE (Tabela 3).

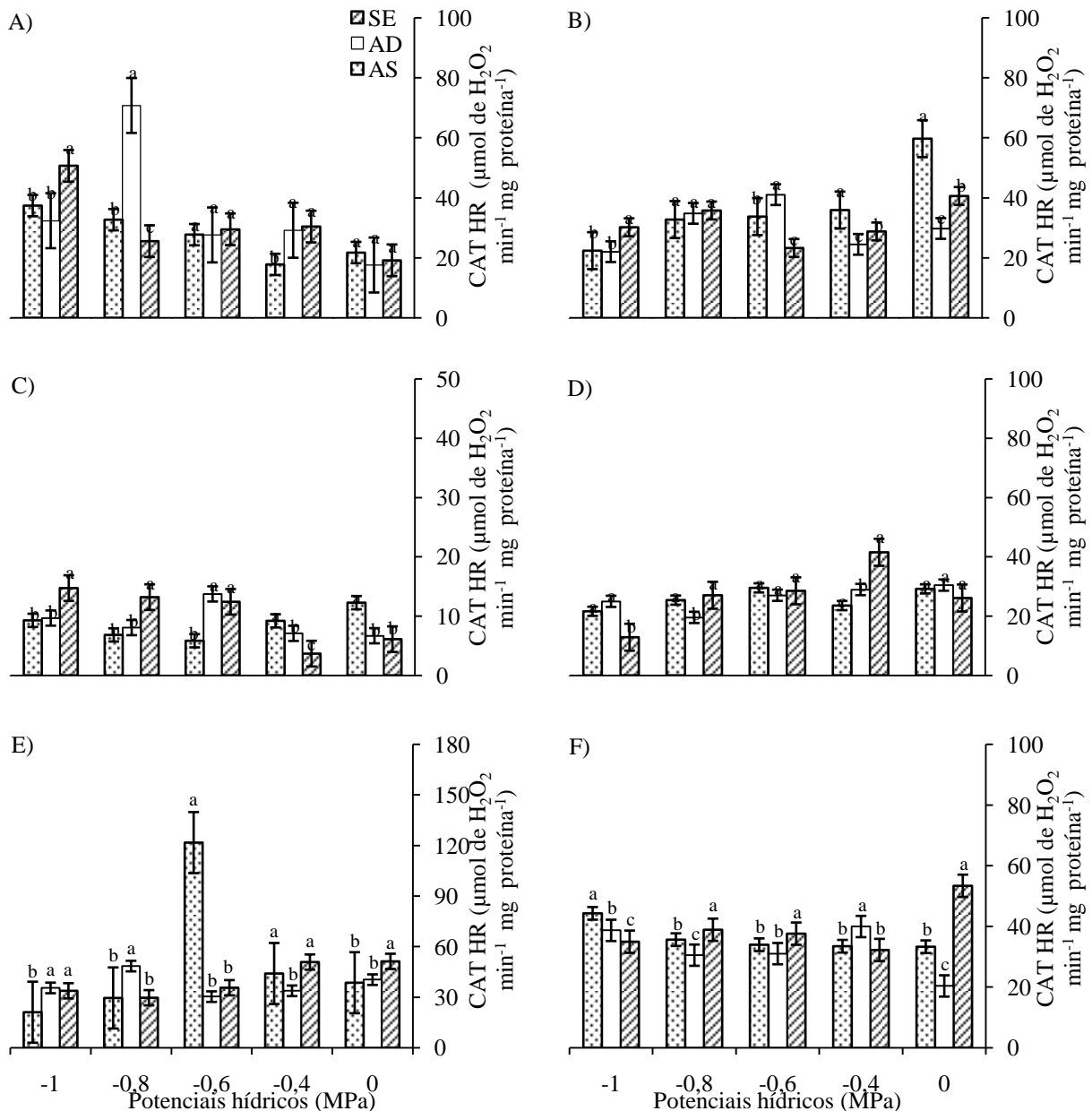


Figura 22. Atividade da enzima catalase nos hipoc\u00f3tilos + ra\u00edzes (CAT HR) das cultivares de feij\u00e3o caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurgu\u00e9ia (B), BRS Arac\u00ea (C), BRS Marata\u00f4 (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pr\u00e9-semeadura e submetidas a diferentes potenciais h\u00eddricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebi\u00e7\u00e3o; AD – embebi\u00e7\u00e3o em \u00e1gua purificada e AS – embebi\u00e7\u00e3o em \u00e1cido salic\u00edlico (10^{-5}M).

Na cultivar BRS Guariba o acréscimo da restrição de água resultou em aumento da atividade da CAT RH, sendo os maiores valores encontrados nos potenciais negativos de 0,8 e 1,0 MPa (Figura 22A). Este comportamento pode ser reflexo do aumento da produção de H_2O_2 em virtude da maior atividade da SOD HR (Figura 18A), reforçada pela correlação entre elas (Figura 23A). Acrescente-se que o aumento da CAT RH não resultou em melhorias no crescimento e produção de fitomassa da raiz (CR e FSR), sendo os maiores valores de CR (Figura 23B) e FSR (Figura 23C) encontrados nas plântulas com menor atividade da CAT HR, o que pode ser um indicativo de que mesmo com o aumento da atividade, a CAT não foi eficiente na prevenção de danos celulares provocados pela supergeração de H_2O_2 em condições de déficit hídrico, resultando na diminuição do alongamento da raiz.

Para as cultivares BR 17 Gurguéia e BRS Marataoã, houve um decréscimo da atividade antioxidante da CAT HR em função do aumento da restrição hídrica (Figura 22B e D), resposta essa semelhante à verificada no crescimento e acúmulo de fitomassa da raiz (Figura 9 e 13), levando a crer que o CR e FSC dessas cultivares, em condições de estresse hídrico, são moduladas, em parte, pela remoção do H_2O_2 pela CAT HR, o que reforça a existência de correlação entre a CAT HR e o CR (Figura 23D) na cultivar BR 17 Gurguéia.

Os maiores valores de CAT HR foram encontrados na cultivar BRS Itaim, onde foi verificado que o AS incrementou em 241,91% e 301,49% a atividade da CAT nos hipocótilos e raízes, em relação ao tratamento SE e AD, respectivamente (Figura 22E). A maior atividade da CAT HR pode estar relacionada com a atividade da SOD HR, não estando, no entanto, correlacionada com o crescimento (CR) e a fitomassa da raiz (FSR). Em outro aspecto, as menores atividades de CAT HR foram encontradas na BRS Aracê, independente do potencial hídrico, estando em oposição aos resultados obtidos para CAT CEF.

A ocorrência de estresses ambientais pode aumentar ou diminuir a atividade da catalase nas plantas, sendo o comportamento dependente da intensidade, duração, e o tipo de estresse (SHARMA et al., 2012). Em feijão caupi submetido à deficiência hídrica no solo foi observado um aumento da atividade da CAT nas folhas à medida que se intensificava o estresse, sendo esta diminuída com a reidratação das plantas (SILVA, 2014). Em plantas de girassol submetidas a diferentes potenciais osmóticos, houve um acréscimo da atividade da CAT em função do aumento da restrição hídrica (BALOĞLU et al., 2012). O oposto foi verificado em plântulas de arroz (SHARMA e DUBEY, 2005) e de *Arabidopsis thaliana* (HE et al., 2014), onde a atividade da CAT foi decrescida com o aumento do estresse hídrico.

A CAT foi a primeira enzima descoberta e caracterizada (SHARMA et al., 2012), a qual possui um mecanismo eficiente de remoção de H_2O_2 gerado nos peroxissomos, catalisando a reação sem a necessidade de um redutor, principalmente condições de estresse severo, onde as concentrações de H_2O_2 estão maiores (SCADALIOS, 2005; GILL e TUTEJA, 2010). No presente estudo, as reduções na atividade da CAT CEF podem estar relacionadas com a inativação provocada pelo elevado acúmulo de H_2O_2 induzido pela falta de água (HASANUZZAMAN et al., 2014) ou por alterações na taxa de rotatividade de proteínas, frequentemente averiguadas em plantas submetidas a condições de estresse (SHARMA et al., 2012). Por outro lado, a melhoria proporcionada pelo ácido salicílico na CAT HR pode ser um indicativo do papel crucial, do referido ácido, na proteção celular por meio da regulação das enzimas antioxidantes (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014).

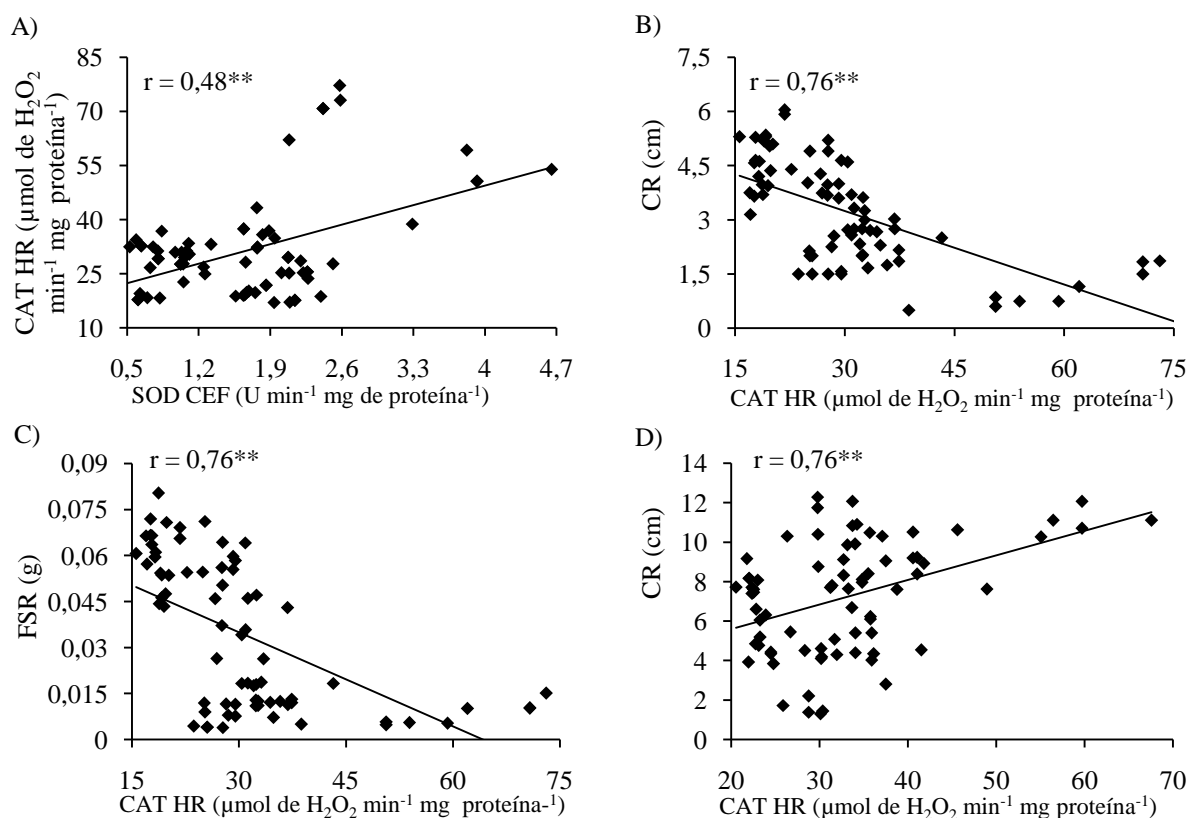


Figura 23. Correlação linear de Pearson entre as variáveis superóxido dismutase nos hipocótilos e raízes (SOD HR) e catalase nos hipocótilos e raízes (CAT HR) (A), da CAT HR com o crescimento (CR) (B) e fitomassa seca da raiz (FSR) (C) da BRS Guariba, e da CAT HR e o CR na BR 17 Gurguéia (D) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

No presente estudo, a ascorbato peroxidase foi mais expressa nos hipocótilos e raízes (APX HR) do que nos cotilédones, epicótilos e folhas (APX CEF) de todas as cultivares avaliadas. Quanto aos condicionamentos, a embebição melhorou a atividade da APX nas cultivares de feijão caupi, sendo observado uma superioridade da AD sobre APX CEF (Figura 24), enquanto que a atividade da APX HR foi incrementada significativamente com o AS.

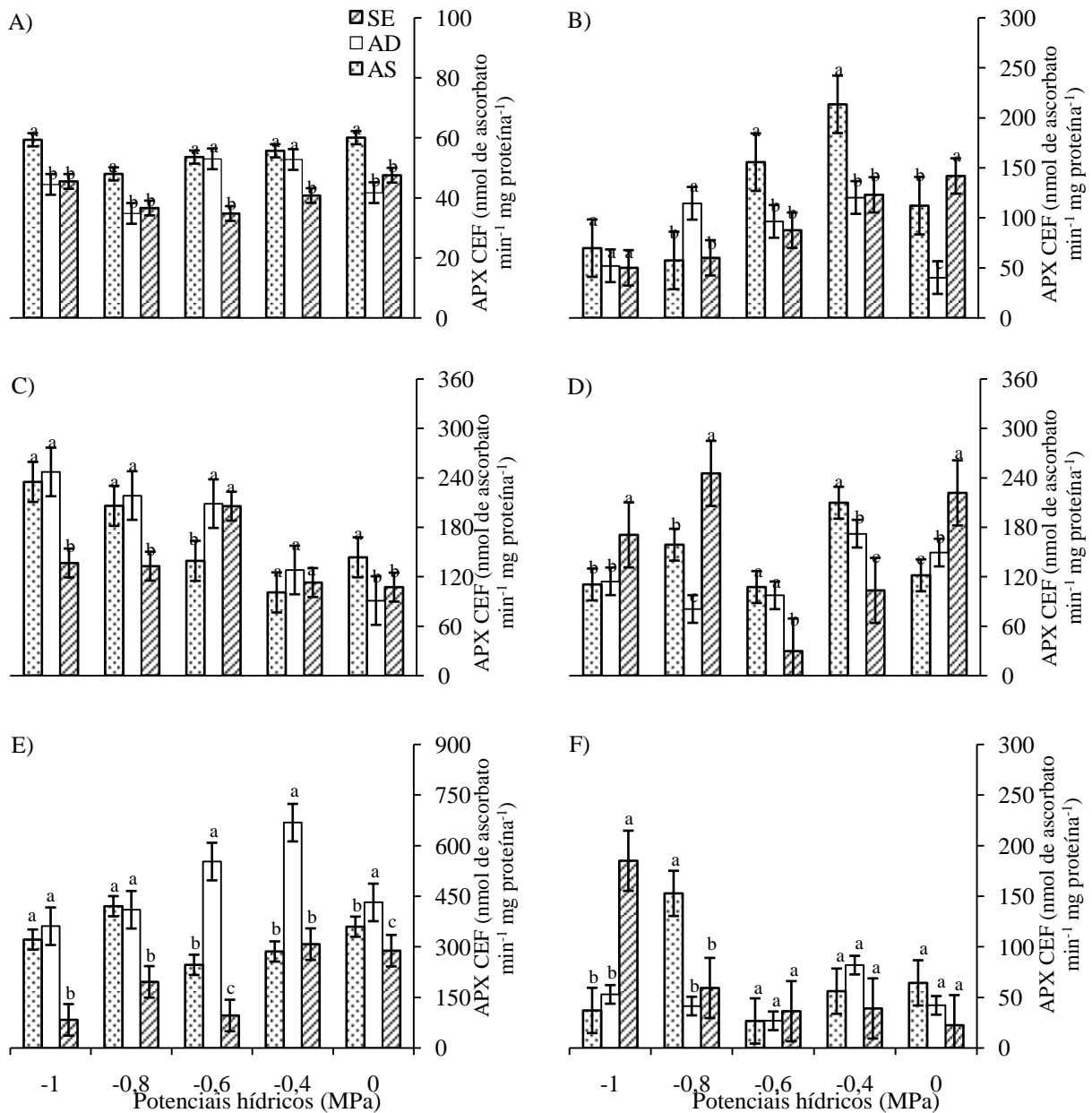


Figura 24. Atividade da enzima ascorbato peroxidase nos cotilédones + epicótilos + folhas (APX CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10⁻⁵M).

Os maiores valores de APX CEF foram averiguados na cultivar BRS Itaim quando submetida à embebição durante a pré-semeadura (Figura 24E). Nesta, a embebição em água destilada aumentou significativamente a APX CEF em todos os potenciais hídricos, com exceção dos mais negativos (-0,8 e 1,0 MPa) onde não houve diferença entre a AD e o AS. Este aumento na atividade da APX CEF pode ter permitido um maior controle dos níveis de peróxido de hidrogênio na célula, evitando danos provocados pelo estresse oxidativo, o que induz a adaptabilidade da cultivar ao déficit hídrico, com reflexos significativos sobre o acúmulo de fitomassa seca da haste caulinar (Figura 12E). Este comportamento foi justificado pela correlação positiva observada entre a atividade da APX CEF e a fitomassa seca da haste caulinar (Figura 25).

De modo contrário, foi constatado um efeito significativo do AS sobre a atividade da APX CEF na cultivar BRS Guariba, sendo mais efetivo nas plântulas submetidas aos potenciais mais negativos (-0,8 e -1,0 MPa) e no potencial de 0 MPa (Figura 24A). Comportamento semelhante foi verificado para a BRS Aracê, contudo o aumento da APX CEF obtido nessa cultivar com a embebição em AS não diferiu estatisticamente dos valores obtidos com a embebição em AD (Figura 24C). Para as demais cultivares (BR 17 Gurguéia, BRS Marataoã e BRS Potengi), os aumentos promovidos pela aplicação de AS foram constatados nos potenciais intermediários (-0,4 a -0,8 MPa) (Figura 24B, D e F). Acrescente-se que a BRS Potengi foi a cultivar com menor atividade de APX nos cotilédones, epicótilos e folhas (Tabela 3), não sendo correlacionada com nenhum parâmetro aqui avaliado.

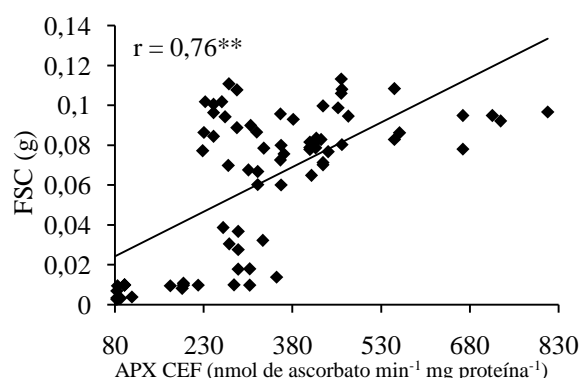


Figura 25. Correlação linear de Pearson entre as variáveis ascorbato peroxidase nos cotilédones epicótilos e folhas (APX CEF) e fitomassa seca da haste caulinar (FSC) da cultivar BRS Itaim acondicionada durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

Para a APX HR os maiores valores também foram verificados na cultivar BRS Itaim submetida à embebição durante a pré-semeadura (Figura 26). Diferentemente da APX CEF, as maiores atividades de APX HR na BRS Itaim foram encontradas com a embebição com AS em todos os potenciais estudados (Figura 26E).

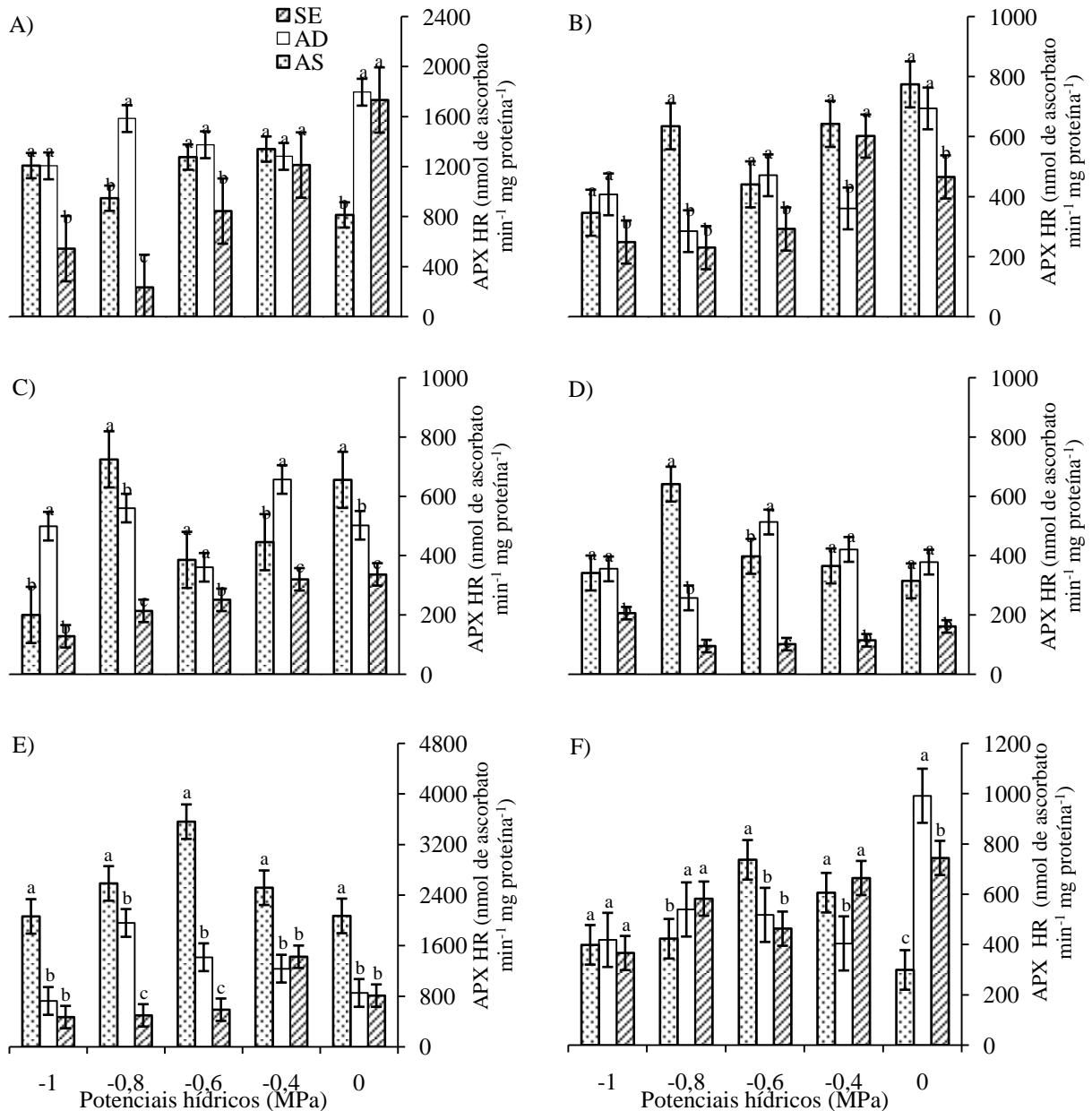


Figura 26. Atividade da enzima ascorbato peroxidase nos hipoc\u00f3tilos + ra\u00edzes (APX HR) das cultivares de feij\u00e3o caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurgu\u00e9ia (B), BRS Arac\u00ea (C), BRS Maratao\u00e3 (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pr\u00e9-semeadura e submetidas a diferentes potenciais h\u00eddricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebi\u00e7\u00e3o; AD – embebi\u00e7\u00e3o em \u00e1gua purificada e AS – embebi\u00e7\u00e3o em \u00e1cido salic\u00edlico (10^{-5}M).

A redução da disponibilidade de água incrementou a atividade de APX HR na BRS Itaim, sendo a máxima obtida no potencial referente a -0,6 MPa com acréscimos de 509,26% em relação as plântulas sem embebição e 151,60% em relação as atividades constatadas nas plântulas com embebição em AD (Figura 26E), o que pode ser caracterizado como uma indução de tolerância a restrição hídrica. Fato esse sustentado pelo acréscimo observado no crescimento, vigor e acúmulo de fitomassa, e reforçado pela correlação linear significativa verificada entre a APX HR e o CR (Figura 27A), e o vigor das sementes (Figura 27B).

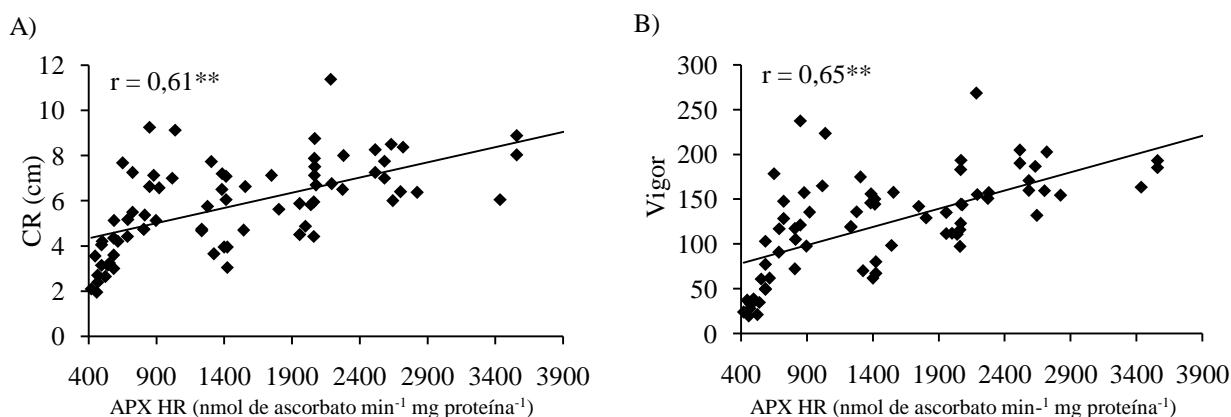


Figura 27. Correlação linear de Pearson entre as variáveis ascorbato peroxidase nos hipocótilos e raízes (APX HR), crescimento da raiz (CR) (A) e vigor das sementes (vigor) (B) da cultivar BRS Itaim acondicionada durante a pré-semeadura e submetida a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015.

Este aprimoramento da tolerância ao estresse hídrico proporcionado pelo AS pode estar associados com sua regulação sobre a expressão de genes que codificam as enzimas antioxidantes, como a SOD, CAT e APX (KANG et al., 2014). Neste sentido, em relação ao mecanismo molecular do AS, Horváth et al. (2007) relataram que o referido ácido aumentou as concentrações intracelulares de EROs durante o período inicial de estresse (3 dias) e, dessa maneira, promoveu a ativação do mecanismo de desintoxicação celular, conferindo tolerância ao estresse. Ghasemzadeh e Jaafar (2013) constataram um aumento na atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e POD) em plantas de gengibre com a aplicação exógena de ácido salicílico, sendo a máxima resposta observada com a dose de 10^{-5} M, a mesma utilizada no experimento em questão.

De modo análogo ao observado para a BRS Itaim, a redução dos potenciais hídricos induziram um aumento na atividade da APX HR nas cultivares BRS Aracê e BRS Marataoã, sendo este mais efetivo nas plântulas oriundas de sementes sob embebição durante a pré-semeadura (Figura 26C e D). Na BRS Aracê, o AS melhorou a atividade da APX HR das

plântulas expostas aos potenciais de 0, -0,6 e -0,8 MPa, tendo reflexo direto sobre o acúmulo de fitomassa da raiz, justificando a correlação verificada entre as variáveis (Figura 27C). O mesmo comportamento foi observado na cultivar BRS Marataõa (Figura 26D), contudo o aumento da atividade da enzima não resultou em concomitante acréscimo da fitomassa da raiz (Figura 13D). Acrescente-se que as menores atividades de APX HR foram averiguadas também na BRS Marataõa.

Quanto as demais cultivares (BRS Guariba, BR 17 Gurguéia e BRS Potengi), as maiores atividades de APX HR foram obtidas no maior potencial estudado (0 MPa), sendo esta decrescida gradativamente com o aumento da restrição hídrica (Figura 26A, B e F), o que pode estar relacionado com o as reduções do crescimento e o acúmulo de fitomassa na raiz (Figura 9 e 13), visto que ambos tiveram a mesma tendência em função da disponibilidade de água. Observou-se, ainda, que a embebição em AS aumentou a APX HR na BR 17 Gurguéia em todos os potenciais, no entanto esse aumento foi significativo apenas no -0,8 MPa (Figura 26B). A mesma tendência foi averiguada para a C1e para a C6, contudo para a última a diferença estatística, em relação a AD, foi obtida no potencial de -0,6 MPa (Figura 26A e E).

A enzima ascorbato peroxidase (APX) é um componente central do ciclo da glutationa-ascorbato com papel essencial no controle intracelular do nível de EROs (SHARMA et al., 2012). A APX possui maior afinidade para H_2O_2 do que a CAT, utilizando duas moléculas de ascorbato a APX para reduzir o peróxido de hidrogênio à água, com concomitante geração de duas moléculas de monodehidroascorbato. Foi verificada uma maior expressão de APX em plantas durante as diferentes condições de estresse, o que pode ser um importante mecanismo de controle da supergeração de EROs (GILL e TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

Avaliando as respostas fisiológicas e antioxidativas de cultivares de girassol sob déficit hídrico induzido por PEG, Baloğlu et al. (2012) observaram um aumento da atividade da APX na parte aérea e nas raízes em função da restrição hídrica, sendo os maiores valores encontrados no potencial -0,8 MPa. Do mesmo modo, Silva (2014) verificou que as maiores atividades da APX em folhas de feijão caupi foram obtidas com a aplicação das menores lâminas de irrigação, sendo o aumento mais expressivo nas cultivares BR 17 Gurguéia e BRS Marataõa, resultados esses não confirmados no presente estudo.

4.5. Teor de prolina livre

No presente estudo a diminuição da disponibilidade hídrica incrementou gradativamente a concentração de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) das cultivares de feijão caupi (Figura 28 e 29), independente do condicionamento, estando em concordância com o comportamento verificado em diversas culturas submetidas à deficiência de água, entre elas, o feijão caupi (COSTA et al., 2011; SILVA, 2014), o feijão comum (AGOSTINI et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2014), o guandu (MONTEIRO et al., 2014), a cevada (FAYEZ e BAZAID, 2014), a *Arabidopsis thaliana* (HE et al., 2014), o girassol (BALOĞLU et al., 2012) e a cana-de-açúcar (CARLIN e SANTOS, 2009; RHEIN et al., 2011).

Em relação aos tipos de condicionamento, as menores concentrações de PRO CEF e PRO HR foram obtidas nas plântulas oriundas de sementes com embebição, especialmente em água destilada, resultado oposto ao verificado nas plântulas sem embebição (Tabela 3). Em comparação com a embebição em AD, o tratamento das sementes em ácido salicílico melhorou o acúmulo de PRO CEF e PRO HR nas cultivares de feijão caupi, sugerindo que o referido ácido participa da ativação do mecanismo osmorregulador da cultura. Comportamento similar ao cientificado em plântulas de feijão comum expostas ao déficit hídrico induzido por PEG (AGOSTINI et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2014). Hayat et al. (2005) reportaram que a aplicação exógena de ácido salicílico incrementou o conteúdo de prolina nas plantas submetidas a estresse hídrico. O mesmo foi verificado com a aplicação de 10^{-3} M de AS em plantas de gengibre (GASENMZADEH e JAAFAR, 2013).

As cultivares com menor concentração de PRO CEF (BRS Itaim) e de PRO HR (BR 17 Gurguéia) obtiveram os melhores resultados para os parâmetros de germinação, crescimento e acúmulo de fitomassa (Tabela 2), além de uma maior atividade antioxidante (Tabela 3). Desta forma, pode-se inferir que a prolina atua como uma molécula sinalizadora do estresse hídrico em feijão caupi, sendo sua concentração diretamente proporcional ao nível de danos. Monteiro et al. (2014) relatam que a prolina é um indicador bioquímico e fisiológico dos efeitos dos estresses salinos e hídricos em plântulas de guandu, no entanto, não verificaram melhoras nos parâmetros de crescimento com o acréscimo de prolina nas plantas de guandu sob estresse mais severo.

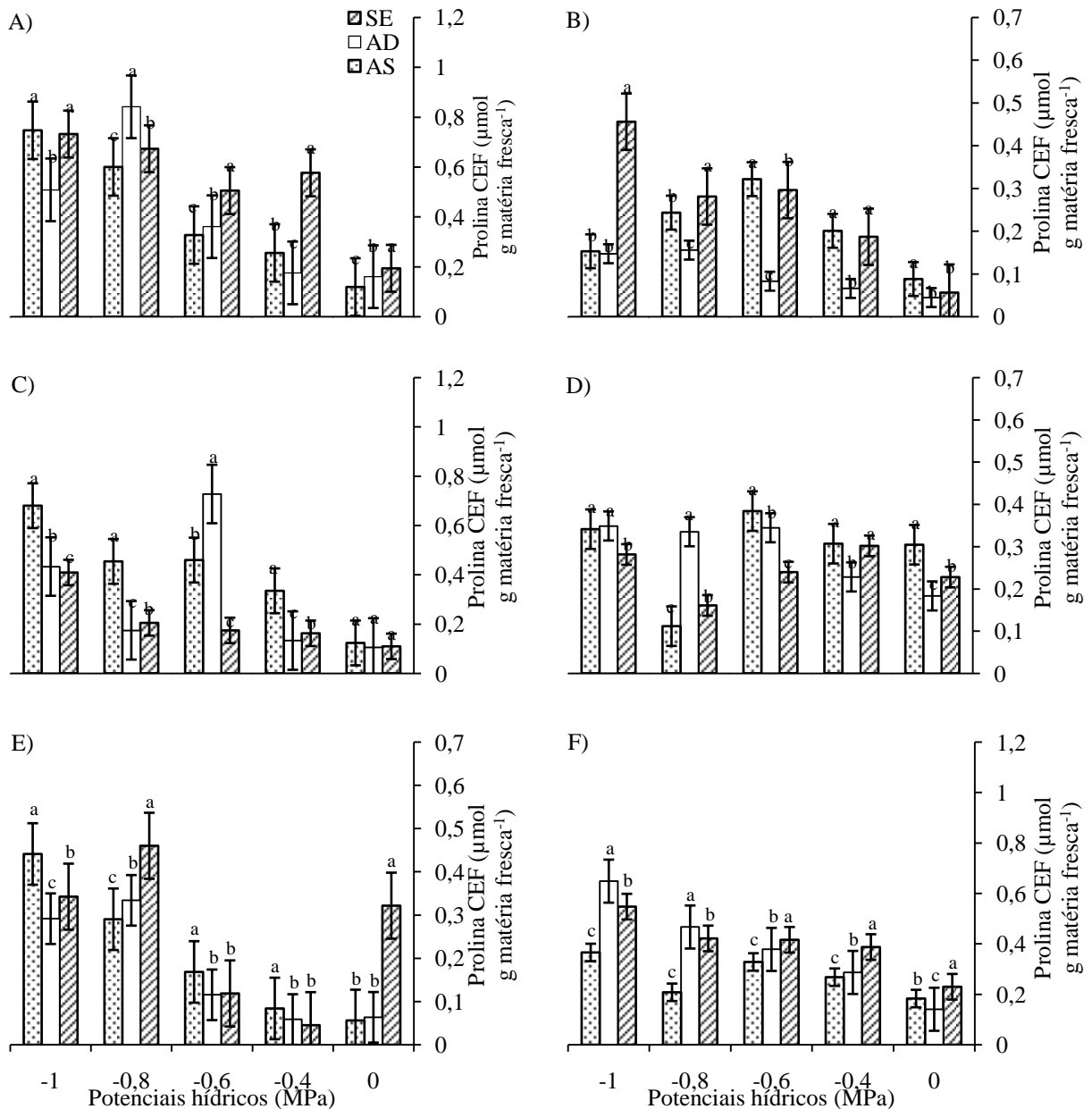


Figura 28. Teor de prolina livre nos cotilédones + epicótilos + folhas (PRO CEF) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-germinação e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5}M).

Vários mecanismos de proteção são ativados nas plantas em resposta à exposição em condições limitantes de cultivo, entre eles, o ajustamento osmótico é considerado um dos mais importantes para a manutenção do turgor celular, que ocorre em função do acúmulo de substâncias como a prolina (MONTEIRO et al., 2014; KANG et al., 2014). Antes considerado apenas um osmólito, a prolina é vista hoje como um potente antioxidante e inibidor potencial da

peroxidação lipídica, além de atuar na osmorregulação e na estabilização de proteínas (ASHRAF e FOOLAD, 2007; GILL e TUTEJA, 2010). Está bem documentado que a exposição a condições adversas induz o acúmulo de prolina livre na planta, por meio do aumento da síntese ou inibição da degradação, o que pode melhorar a tolerância a vários estresses abióticos especialmente o hídrico e o salino (GILL e TUTEJA, 2010), hipótese essa não confirmada no presente estudo.

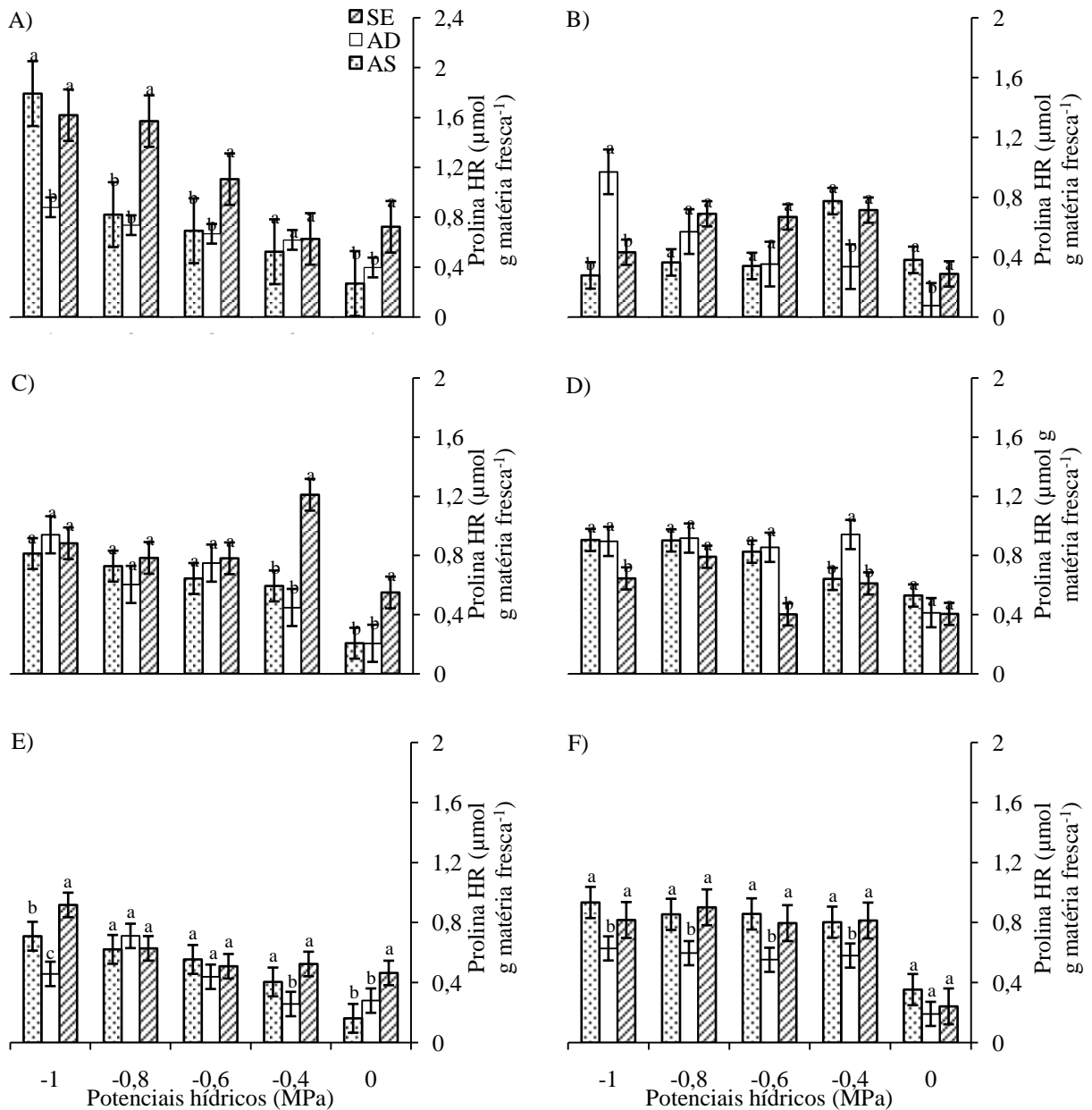


Figura 29. Teor de prolina livre nos hypocótilos + raízes (PRO HR) das cultivares de feijão caupi: BRS Guariba (A), BR 17 Gurguéia (B), BRS Aracê (C), BRS Marataoã (D), BRS Itaim (E) e BRS Potengi (F) acondicionadas durante a pré-semeadura e submetidas a diferentes potenciais hídricos induzidos por PEG 6000. Campina Grande, PB, 2015. SE – sem embebição; AD – embebição em água purificada e AS – embebição em ácido salicílico (10^{-5}M).

O aumento da concentração de prolina livre pode estar relacionado com o mecanismo de osmorregulação, indicando que o feijão caupi acumula este aminoácido quando exposto a baixas quantidades de água, com o intuito de proteger as estruturas celulares dos danos provocados durante o período de estresse. Acrescente-se que no estudo em questão, o acúmulo de prolina não foi efetivo na anulação dos efeitos deletérios da seca sobre a germinação, o crescimento e o acúmulo de fitomassa seca das plântulas de feijão caupi, sendo estes parâmetros decrescidos com o aumento da concentração de prolina livre nas células, o que, segundo Carlin e Santos (2009), pode estar relacionado com o agravamento do estresse hídrico.

Segundo Ashraf e Foolad (2007), o acúmulo de prolina em muitas espécies de plantas sob estresse tem sido correlacionado com a tolerância do vegetal, e sua concentração é geralmente mais elevada em plantas tolerantes do que em plantas sensíveis ao estresse. Hipótese esta não confirmada no presente estudo, onde as maiores concentrações de PRO CEF e PRO HR, encontradas na cultivar BRS Guariba (Tabela 3), foram correlacionadas negativamente com a germinação, com o crescimento total, com o vigor das sementes e com o acúmulo de fitomassa total, respectivamente (Tabela 4).

4.6. Síntese dos principais resultados

Os maiores valores de germinação, crescimento e fitomassa seca, independentemente dos potenciais hídricos e do condicionamento antes da semeadura foram averiguados na cultivar BR 17 Gurguéia. Nessa cultivar a embebição das sementes antes da semeadura proporcionou um aumento dos parâmetros de germinação, crescimento e fitomassa seca quando expostas aos potenciais menos negativos (0 e -0,4 MPa), especialmente quando realizada em solução de AS (10^{-5} M), no entanto nos potenciais mais negativos (-0,6 a -1,0 MPa) não foram verificados diferença significativa entre os condicionamentos (SE, AD e AS) para os parâmetros supracitados.

As maiores reduções na germinação foram verificadas na cultivar BRS Marataoã, enquanto que as maiores reduções de crescimento e fitomassa total foram verificadas na BRS Aracê. Mesmo com valores médios inferiores a BR 17 Gurguéia, a cultivar BRS Itaim mostrou-se mais tolerante a deficiência hídrica do substrato, na qual observou certa manutenção da germinação e do crescimento inicial nos potenciais intermediários (-0,4 a -0,8 MPa), principalmente com a embebição das sementes em AS. A mesma tendência foi averiguada para a atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase nos cotilédones, epicótilos e folhas das plântulas da cultivar BRS Itaim oriundas de sementes embebidas em AS.

A embebição das sementes em solução de AS não aumentou o teor de prolina em plântulas de feijão caupi expostas ao déficit hídrico, sendo os maiores acúmulos registrados nas plântulas sem embebição, seguidas da embebição em AD durante a pré-semeadura.

A avaliação da germinação e do crescimento inicial, bem como das alterações bioquímicas, em plântulas de feijão caupi submetidas à limitação de água e aplicação de substâncias indutoras (como o ácido salicílico) constituem uma ferramenta importante para a geração de conhecimentos a cerca dos mecanismos de tolerância da cultura, principalmente por se tratar das fases mais sensíveis a ocorrência de deficit hídrico. Tais resultados podem subsidiar a tomada de decisão por parte da comunidade científica e dos produtores do feijoeiro da região Nordeste do Brasil.

É importante destacar que as relações entre os caracteres podem ser avaliadas por meio de correlação, a qual representa uma importante ferramenta para o entendimento da dinâmica entre os processos vegetais, principalmente em condições de estresse hídrico. Acrescente-se que a existência de correlação entre os parâmetros supracitados pode ser utilizada nas indagações a respeito da ocorrência e seleção de características importantes nos processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos que tenham reflexo direto sobre a produção das culturas. Tal fato denota a importância das correlações verificadas no presente estudo (Tabelas 4 a 9), principalmente por possibilitar a obtenção de características de interesse nas cultivares de forma indireta (FERRAZ, 2012).

Tabela 4: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Guariba. Campina Grande, PB, 2015.

	PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST	SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
PFG	-	0,66	0,56	0,83	0,80	0,87	0,82	0,82	0,84	0,54	-0,69	0,55	-0,48	0,40	0,63	-0,76	-0,84
IVG	**	-	0,78	0,73	0,78	0,79	0,82	0,88	0,87	0,62	-0,19	0,56	-0,54	0,39	0,39	-0,85	-0,70
CC	**	**	-	0,76	0,86	0,83	0,83	0,73	0,80	0,76	-0,17	0,49	-0,53	0,48	0,20	-0,77	-0,54
CR	**	**	**	-	0,98	0,97	0,84	0,85	0,86	0,72	-0,57	0,56	-0,65	0,50	0,42	-0,84	-0,73
CT	**	**	**	**	-	0,98	0,88	0,86	0,89	0,77	-0,49	0,57	-0,65	0,52	0,39	-0,86	-0,72
Vigor	**	**	**	**	**	-	0,90	0,89	0,92	0,73	-0,51	0,56	-0,60	0,52	0,44	-0,86	-0,77
FSC	**	**	**	**	**	**	-	0,91	0,98	0,67	-0,42	0,50	-0,55	0,51	0,41	-0,87	-0,73
FSR	**	**	**	**	**	**	**	-	0,97	0,69	-0,42	0,54	-0,58	0,50	0,51	-0,88	-0,74
FST	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,69	-0,43	0,53	-0,58	0,52	0,46	-0,89	-0,75
SOD CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	-0,31	0,60	-0,51	0,58	0,37	-0,68	-0,44
SOD HR	**	*	ns	**	**	**	**	**	**	**	-	-0,41	0,48	-0,39	-0,32	0,41	0,48
CAT CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	-0,40	0,58	0,49	-0,54	-0,42
CAT HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	-0,34	-0,05	0,74	0,34
APX CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,10	-0,42	-0,17
APX HR	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	-	-0,37	-0,51
PRO CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,72
PRO HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	**	-

ns, **, * - Não significativo e significativo a 1 e a 5%, respectivamente.

Tabela 5: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BR 17 Gurguéia. Campina Grande, PB, 2015.

	PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST	SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
PFG	-	0,41	0,29	0,25	0,35	0,38	0,32	0,51	0,38	0,01	0,16	0,30	0,12	0,31	0,34	-0,52	-0,02
IVG	**	-	0,79	0,53	0,89	0,88	0,87	0,87	0,91	0,52	0,77	0,60	0,49	0,35	0,59	-0,73	-0,50
CC	**	**	-	0,13	0,92	0,91	0,90	0,74	0,90	0,60	0,76	0,61	0,53	0,40	0,65	-0,55	-0,23
CR	*	**	ns	-	0,51	0,51	0,42	0,39	0,43	0,11	0,51	0,19	0,42	-0,14	0,27	-0,37	-0,52
CT	**	**	**	**	-	0,99	0,95	0,79	0,95	0,56	0,86	0,60	0,62	0,29	0,67	-0,63	-0,40
Vigor	**	**	**	**	**	-	0,94	0,81	0,95	0,53	0,84	0,60	0,62	0,30	0,66	-0,63	-0,39
FSC	**	**	**	**	**	**	-	0,79	0,99	0,50	0,85	0,58	0,56	0,26	0,62	-0,61	-0,42
FSR	**	**	**	**	**	**	**	-	0,88	0,39	0,65	0,58	0,41	0,47	0,61	-0,66	-0,36
FST	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,49	0,83	0,61	0,54	0,33	0,64	-0,65	-0,42
SOD CEF	ns	**	**	ns	**	**	**	**	**	-	0,47	0,49	0,24	0,35	0,32	-0,13	-0,13
SOD HR	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,47	0,82	0,18	0,50	-0,45	-0,46
CAT CEF	**	**	**	ns	**	**	**	**	**	**	**	-	0,35	0,56	0,31	-0,41	-0,33
CAT HR	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	-	0,29	0,44	-0,23	-0,21
APX CEF	**	**	**	ns	**	**	**	**	**	**	ns	**	**	-	0,20	-0,11	0,14
APX HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	-	-0,42	-0,20
PRO CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	**	*	ns	**	-	0,29
PRO HR	ns	**	*	**	**	**	**	**	**	ns	**	**	*	ns	*	**	-

ns, **, * - Não significativo e significativo a 1 e a 5%, respectivamente.

Tabela 6: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Aracê. Campina Grande, PB, 2015.

	PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST	SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
PFG	-	0,66	0,49	0,72	0,67	0,68	0,67	0,70	0,71	-0,28	-0,37	-0,32	-0,54	-0,18	0,59	-0,04	-0,53
IVG	**	-	0,83	0,69	0,79	0,72	0,94	0,79	0,92	-0,35	-0,07	-0,25	-0,23	-0,49	0,46	-0,41	-0,80
CC	**	**	-	0,75	0,89	0,77	0,82	0,58	0,76	-0,21	0,07	-0,11	-0,18	-0,47	0,31	-0,38	-0,70
CR	**	**	**	-	0,97	0,84	0,70	0,60	0,69	-0,29	-0,10	-0,22	-0,39	-0,40	0,31	-0,17	-0,56
CT	**	**	**	**	-	0,87	0,79	0,63	0,76	-0,28	-0,05	-0,19	-0,33	-0,45	0,33	-0,26	-0,65
Vigor	**	**	**	**	**	-	0,74	0,62	0,72	-0,26	-0,12	-0,21	-0,30	-0,35	0,38	-0,20	-0,57
FSC	**	**	**	**	**	**	-	0,86	0,98	-0,45	-0,11	-0,26	-0,20	-0,53	0,46	-0,42	-0,81
FSR	**	**	**	**	**	**	**	-	0,94	-0,59	-0,30	-0,32	-0,20	-0,53	0,43	-0,33	-0,71
FST	**	**	**	**	**	**	**	**	-	-0,51	-0,18	-0,29	-0,21	-0,55	0,47	-0,40	-0,80
SOD CEF	**	**	*	**	**	**	**	**	**	-	0,11	0,19	-0,16	0,35	0,03	0,12	0,29
SOD HR	**	*	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	-	-0,16	0,24	0,19	-0,05	0,06	0,06
CAT CEF	**	*	ns	*	*	*	*	**	**	*	ns	-	0,14	0,03	-0,38	0,05	0,29
CAT HR	**	*	ns	**	**	**	*	*	*	ns	*	ns	-	0,25	-0,31	0,27	0,01
APX CEF	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	*	-	0,07	0,53	0,33
APX HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	**	**	ns	-	-0,24	-0,46
PRO CEF	ns	**	**	ns	*	*	**	**	**	ns	ns	ns	**	**	*	-	0,36
PRO HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	ns	**	**	**	-

ns, **, * - Não significativo e significativo a 1 e a 5%, respectivamente.

Tabela 7: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Marataoã. Campina Grande, PB, 2015.

	PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST	SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
PFG	-	0,81	0,65	0,81	0,78	0,82	0,55	0,85	0,62	-0,04	0,27	0,59	0,16	0,22	0,35	0,00	-0,27
IVG	**	-	0,78	0,85	0,87	0,85	0,74	0,75	0,78	-0,02	0,53	0,57	0,19	0,15	0,09	-0,19	-0,53
CC	**	**	-	0,82	0,92	0,87	0,33	0,64	0,39	-0,02	0,53	0,30	0,14	0,05	0,02	-0,02	-0,47
CR	**	**	**	-	0,97	0,94	0,44	0,69	0,49	-0,02	0,47	0,48	0,09	0,19	0,03	-0,09	-0,46
CT	**	**	**	**	-	0,95	0,43	0,72	0,49	-0,01	0,51	0,42	0,11	0,13	0,05	-0,06	-0,48
Vigor	**	**	**	**	**	-	0,44	0,77	0,50	-0,03	0,49	0,47	0,15	0,15	0,08	-0,05	-0,46
FSC	**	**	**	**	**	**	-	0,62	0,99	0,03	0,40	0,55	0,19	0,11	0,17	-0,30	-0,43
FSR	**	**	**	**	**	**	**	-	0,71	-0,05	0,23	0,56	0,21	0,15	0,38	-0,10	-0,25
FST	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,02	0,40	0,58	0,20	0,12	0,21	-0,28	-0,43
SOD CEF	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-0,15	-0,10	-0,06	0,05	0,12	0,11	0,19
SOD HR	**	**	**	**	**	**	**	*	**	ns	-	0,44	0,27	0,00	-0,32	0,01	-0,74
CAT CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	-	0,22	0,60	0,08	-0,34	-0,39
CAT HR	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	**	*	-	-0,16	-0,04	-0,08	-0,22
APX CEF	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	**	ns	-	-0,02	-0,47	-0,04
APX HR	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	*	ns	**	ns	ns	ns	-	-0,03	0,49
PRO CEF	ns	*	ns	ns	ns	ns	**	ns	**	ns	ns	**	ns	**	ns	-	0,23
PRO HR	**	**	**	**	**	**	**	*	**	ns	**	**	*	ns	**	*	-

ns, **, * - Não significativo e significativo a 1 e a 5%, respectivamente.

Tabela 8: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Itaim. Campina Grande, PB, 2015.

	PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST	SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
PFG	-	0,65	0,60	0,71	0,71	0,84	0,76	0,79	0,81	0,56	0,01	0,67	0,26	0,61	0,60	-0,42	-0,49
IVG	**	-	0,79	0,81	0,84	0,82	0,77	0,77	0,80	0,72	0,07	0,55	0,13	0,52	0,46	-0,56	-0,68
CC	**	**	-	0,75	0,84	0,81	0,71	0,65	0,70	0,66	0,26	0,57	0,29	0,46	0,39	-0,54	-0,63
CR	**	**	**	-	0,99	0,96	0,71	0,79	0,78	0,74	-0,01	0,62	0,25	0,45	0,61	-0,37	-0,55
CT	**	**	**	**	-	0,97	0,75	0,79	0,80	0,75	0,06	0,63	0,27	0,47	0,59	-0,43	-0,59
Vigor	**	**	**	**	**	-	0,78	0,84	0,84	0,72	0,03	0,67	0,30	0,52	0,65	-0,45	-0,56
FSC	**	**	**	**	**	**	-	0,86	0,96	0,45	-0,04	0,47	0,15	0,76	0,38	-0,36	-0,53
FSR	**	**	**	**	**	**	**	-	0,97	0,56	-0,15	0,61	0,20	0,65	0,65	-0,28	-0,41
FST	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,53	-0,10	0,57	0,18	0,73	0,54	-0,33	-0,48
SOD CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,20	0,77	0,29	0,33	0,58	-0,42	-0,62
SOD HR	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	-	0,17	0,42	-0,15	0,08	-0,43	-0,06
CAT CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	-	0,31	0,45	0,62	-0,22	-0,37
CAT HR	**	ns	**	*	**	**	ns	*	ns	**	**	**	-	-0,16	0,57	-0,21	-0,02
APX CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	ns	-	0,17	-0,33	-0,50
APX HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	**	ns	-	-0,16	-0,05
PRO CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	**	ns	-	0,73
PRO HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	ns	**	ns	**	-

ns, **, * - Não significativo e significativo a 1 e a 5%, respectivamente.

Tabela 9: Matriz de correlação entre as variáveis: porcentagem final de germinação (PFG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da haste caulinar (CC), da raiz (CR) e total (CT), vigor das sementes (Vigor), fitomassa seca da haste caulinar (FSC), da raiz (FSR) e total (FST), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD CEF), catalase (CAT CEF) e ascorbato peroxidase (APX CEF) nos cotilédones, epicótilos e folhas, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD HR), catalase (CAT HR) e ascorbato peroxidase (APX HR) nos hipocótilos e raízes, conteúdo de prolina livre nos cotilédones, epicótilos e folhas (PRO CEF) e nos hipocótilos e raízes (PRO HR) da cultivar BRS Potengi. Campina Grande, PB, 2015.

	PFG	IVG	CC	CR	CT	Vigor	FSC	FSR	FST	SOD CEF	SOD HR	CAT CEF	CAT HR	APX CEF	APX HR	PRO CEF	PRO HR
PFG	-	0,74	0,50	0,66	0,63	0,69	0,69	0,76	0,74	-0,34	0,40	0,44	-0,14	-0,32	0,35	-0,73	-0,55
IVG	**	-	0,85	0,93	0,92	0,89	0,91	0,88	0,93	-0,10	0,66	0,49	-0,30	-0,17	0,30	-0,71	-0,74
CC	**	**	-	0,90	0,95	0,90	0,85	0,75	0,83	-0,09	0,72	0,32	-0,41	-0,13	0,35	-0,64	-0,75
CR	**	**	**	-	0,99	0,91	0,87	0,82	0,88	-0,14	0,75	0,47	-0,29	-0,16	0,31	-0,71	-0,77
CT	**	**	**	**	-	0,93	0,88	0,81	0,88	-0,13	0,75	0,44	-0,33	-0,15	0,33	-0,70	-0,78
Vigor	**	**	**	**	**	-	0,90	0,86	0,91	-0,12	0,71	0,41	-0,29	-0,17	0,42	-0,70	-0,74
FSC	**	**	**	**	**	**	-	0,88	0,98	-0,08	0,65	0,48	-0,31	-0,10	0,35	-0,74	-0,68
FSR	**	**	**	**	**	**	**	-	0,95	-0,07	0,55	0,44	-0,35	-0,19	0,45	-0,71	-0,65
FST	**	**	**	**	**	**	**	**	-	-0,07	0,63	0,48	-0,33	-0,14	0,40	-0,75	-0,69
SOD CEF	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-0,09	-0,09	0,02	0,10	0,01	0,15	0,04
SOD HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	-	0,41	-0,03	-0,12	0,50	-0,54	-0,81
CAT CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	-	-0,03	0,15	0,03	-0,59	-0,20
CAT HR	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	ns	-	0,00	-0,25	0,12	0,12
APX CEF	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	-	-0,38	0,09	0,23
APX HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	ns	*	**	-	-0,37	-0,36
PRO CEF	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	**	-	0,44
PRO HR	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**	*	ns	*	**	**	-

ns, **, * - Não significativo e significativo a 1 e a 5%, respectivamente.

5. CONCLUSÕES

A embebição das sementes em solução de ácido salicílico (10^{-5} M) pode ser utilizada na indução de tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial da cultivar BRS Itaim.

A germinação e o vigor das sementes de feijão caupi são ampliados com a embebição em ácido salicílico durante 8 horas.

Em condições de baixa disponibilidade hídrica, o ácido salicílico aumenta o crescimento das raízes de feijão caupi quando aplicado durante a pré-semeadura.

A manutenção do crescimento das plântulas de feijão caupi submetidas ao déficit hídrico está relacionada com o aumento da capacidade antioxidativa das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase.

A atividade antioxidante é incrementada nas plântulas de feijão com a embebição das sementes em ácido salicílico, especialmente na cultivar BRS Itaim.

O aumento do conteúdo de prolina em plantas de caupi pode ser utilizado como indicativo da intensidade do estresse hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial.

A cultivar BRS Itaim suporta melhor a redução do potencial hídrico com a aplicação de ácido salicílico, haja vista o aumento da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX).

6. 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**, v.35, n.2, p. 209-219, 2013.

AGRAWAL, R. **Seed Technology**. Newdehli: Pub.co. Ltd, 2003.

ALBUQUERQUE, E. R. G.; COELHO, J. B. M.; BEZERRA NETO, E.; SOUZA, L. M. **Solutos compatíveis em feijão *Vigna* cultivado hidroponicamente sob estresse salino**. IN: Congresso Nacional do Feijão Caupi, 3., 2013, Recife, PE. Disponível em: <http://www.conac2012.org/resumos/pdf/070a.pdf>. Acesso em 17 fev. 2015.

ALONSO-RAMÍREZ, A.; RODRÍGUEZ, D.; REYES, D.; JIMÉNEZ, J. A.; NICOLÁS, G.; LÓPEZ-CLIMENT, M.; GÓMEZ-CADENAS, A.; NICOLÁS, C. Cross-talk between gibberellins and salicylic acid in early stress responses in *Arabidopsis thaliana* seeds. **Plant Signaling Behavior**, v.4, n.8, p.750-751, 2009.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, n.1, p-373-399, 2004.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase - a hydrogen peroxide – scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v.85, n.2, p. 235-241, 1992.

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.

BALOĞLU, M. C.; KAVAS, M.; AYDIN, G.; ÖKTEM, H. A.; YÜCEL, A. M. Antioxidative and physiological responses of two sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars under PEG-mediated drought stress. **Turkish Journal of Agriculture & Forestry**, v.36, n.6, p.707-714, 2012.

BANDURSKA, H.; STROINSKI, A. The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, n.3b, p.379-386, 2005.

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. **Ciências Agrárias**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BASTOS, V. J.; MELO, D. A.; ALVES, J. M. A.; UCHÔA, S. C. P.; SILVA, P. M. C.; TEXEIRA JÚNIOR, D. L. Avaliação da fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi submetido a diferentes manejos da vegetação natural na savana de Roraima. **Revista Agro@ambiente On-line**, v.6, n.2, p.133-139, 2012a.

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

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **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. 267 p.

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, p.248-254, 1976.

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

BRITO, M. DE M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. DA. Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com o uso de ¹⁵N. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 3, n.4, p. 895-905, 2009.

ÇANAKÇI, S., MUNZUROĞLU, O., Effect of Acetylsalicylic Acid on Germination, Growth and Chlorophyll Amounts of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Seeds. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.10, n.17, p. 2930-2934, 2007.

CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1006-1013, 2009.

CARVALHO, P. R.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Ácido salicílico em sementes de calêndula (*Calendula officinalis* L.) sob diferentes estresses. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.114-124, 2007.

CARVALHO, R. I. N.; CARVALHO, D. B. Germinação de sementes de um ecótipo de paspalum da região de Guarapuava- Pr. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n.4Sup1, p. 1187-1194, 2009.

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

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (eds.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, p.149-162.

CHOUDHURY, S.; PANDA, S. K. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v.30, n.3-4, p.95-110, 2004.

COELHO, J. B. M.; BARROS, M. F. C.; BEZERRA NETO, E.; CORREA, M. M. Comportamento hídrico e crescimento do feijão vigna cultivado em solos salinizados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.4, p.379-385, 2013.

COELHO, D. L. M.; AGOSTINI, E. A. T.; GUABERTO, L. M.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 491-499, 2010.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos, v.2-Safra 2014/2015, n.5- quinto levantamento, Brasília-DF, 116p. fev.2015.

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, 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. **Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 4, p. 617-623, 2009.

FAYEZ, K. A.; BAIZAD, S. A. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v.13, n.1, p.45-55, 2014.

FARIDUDDIN, Q.; HAYAT, S.; AHMAD, A. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica Juncea*. **Photossynthetic**, v.41, n.2, p.281-284, 2003.

FERRAZ, R. L. S. **Crescimento, fisiologia e produção do algodoeiro sob efeito do silício via foliar**. 2012. 130p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas**. Passo fundo: Editora da UPF, 2004. 536p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - **FAO**. Base de dados Faostat. Crops. Cow peas, dry. Disponível em:<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E> Acesso em: 17 fev. 2015.

FREITAS, R. M. O. **Crescimento e produção de feijão caupi sob efeito de veranico nos sistemas de plantio direto e convencional**. 2012. 83p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semiárido.

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.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M. & ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.470-476, 2008.

FURLAN, F.; SAATKAMP, K.; WIEST, M. C.; SANTOS, M. F.; VENDRUSCULO, E. C. G. Influência do potencial hídrico induzido por polietilenoglicol *in vitro* na morfologia do trigo. **Agrária- Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.9, n.3, p.370-375, 2014.

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

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E. Interactive effect os salicylic acid on some physiological features and antioxidant enzymes activity in ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). **Molecules**, v.18, n.5, 2013.

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.

GIROTTI, L.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; TOMAZONI, A. P. Tolerância seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.192-199, 2012.

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.

GUEDES, G. N.; SOUZA, A. S.; LIMA, A. S.; ALVES, L. S. Eficiência agronômica de inoculantes em feijão caupi no município de Pombal, PB. **Revista Verde**, v.5, n.4, p.82-89, 2010.

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

HABIBI, A.; ABDOLI, M. Influence of salicylic acid pre-treatment on germination, vigor and growth parameters of garden cress (*Lepidium sativum*) seedlings under water potencial loss at salinity stress. **International Research Journal of Applied and Basic Sciences**, v.4, n.6, p.1393-1399, 2013.

HAIAT, Q.; HAIAT, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v.68, n.1, p.14-25, 2010.

HAIAT, S.; HASAN, S. A.; FARIDUDDIN, Q.; AHMAD, A. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. **Journal of Plant Interactions**, v.3, n.4, p.297-304, 2008.

HAIAT, S.; FARIDUDDIN, Q.; ALI, B.; AHMAD, A. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. **Acta Agronomica Hungarica**, v.53, n.4, p.433-437, 2005.

HASANUZZAMAN, M.; ALAM, M. M.; NAHAR, K.; MAHMUD, J. A.; AHAMED, U.; FUJITA, M. Exogenous salicylic acid alleviates salt stress-induced oxidative damage in *Brassica napus* by enhancing the antioxidant defence and glyoxalase systems. **Australian Journal of Crop Science**, v.8, n.4, p.631-639, 2014.

HÄTER, L. S. H.; HÄTER, F. S.; MENEGHELLO, G. E.; VILLELA, F. A. Physiological and biochemical performance of sunflower seeds subjected to different osmotic potentials. **Agrária-Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.9, n.1, p.1-6, 2014.

HE, Q.; ZHAO, S.; MA, Q.; ZHANG, Y.; HUANG, L.; LI, G.; HAO, L. Endogenous salicylic acid levels and signaling positively regulate Arabidopsis response to polyethylene glycol-simulated drought stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.33, n.4, p.871-880, 2014.

HORVÁTH, E.; SZALAI, G.; JANDA, T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 26, n.3, p.290-300, 2007.

HUSSEIN, M. M.; BALBAA, L. K.; GABALLAH, M. S. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.3, n.4, p. 321-328, 2007.

KABIRI, R.; FARAHDAKSHI, 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.

KANG, G.; LI, G.; GUO, T. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.9, p.2287-2297, 2014.

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.

KAVI KISHOR, P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N. SRI LAXMI, P.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; PAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v.88, n.3, p.424-238, 2005.

KHAN, W.; PRITHVIRAJ, B.; SMITH, D. L. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n.5, p.485-492, 2003.

KIM, Y. H.; KWAK, S. S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010, p.129-150.

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.

MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C.; COSTA, P. R.; DONÁ, F. L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p. 142-148, 2006.

McCUE, P.; ZHENG, Z.; PINKHAM, J.; SHETTY, K. A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. **Process Biochemistry**, v.35, n.6, p.603-613, 2000.

MENDES, R. M. S.; TÁVORA, F. J. A. F.; PINHO, J. L. N.; PITOMBEIRA, J. B. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. **Ciência Agronômica**, v.38, n.1, p.95-103, 2007.

MENESES, C. H. S. G.; LIMA, L. H. G. M.; LIMA, M. M. A.; VIDAL, M. S. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, v.10, n.1-2, p.1039-1072, 2006.

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

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

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M., VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v.9, n.10, p.490-498, 2004.

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.

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.

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.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, ano IV, n.23, p. 12-18, 2001.

PÁL, M.; KOVÁCS, V.; SZALAI, G.; SOÓS, V.; MA, X.; LIU, H.; MEI, H.; JANDA, T. Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.200, n.1, p.1-11, 2014.

PRAXEDES, S. C.; FERREIRA, T. M.; GOMES FILHO, E. Acúmulo de prolina e aminoácidos em cultivares de feijão caupi com tolerância diferencial à salinidade. **Caatinga**, v.22, n.3, p.211-214, 2009.

REHMAN, S.; HARRIS, P. J. C.; BOURNE, W. F.; WILKEIN, J. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of Acacia seeds. **Seed Science and Technology**, v.25, n.1, p. 45-57, 1996.

RHEIN, A. F. L.; SANTOS, D. M. M.; CARLIN, 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.

SABOYA, R. C. C.; BORGES, P. R. S.; SABOYA, L. M. F.; MONTEIRO, F. P. R.; SOUZA, S. E. A.; SANTOS, A. F.; SANTOS, E. R. Response of cowpea to inoculation with nitrogen-fixing strains in Gurupi-TO. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.4, n.1, p.40-48, 2013.

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.

SENARATNA, T.; TOUCHELL, D.; BUNN, E.; DIXON, K. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. **Plant Growth Regulation**, v.30, n.2, p. 157-161, 2000.

SHAKIROVA, F. M.; SAKHABUTDINOVA, A. R.; BEZRUKOVA, M. V.; FATKHUTDINOVA, R. A.; FATKHUTDINOVA, D. R. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. **Plant Science**, v.164, n.3, p.317-322, 2003.

SHARAFIZAD, M.; NADERI, A.; SIADAT, S. A.; SAKINEJAD, T.; LAK, S. Effect of salicylic acid pretreatment on germination of wheat under drought stress. **Journal of Agricultural Science**, v.5, n.3, p.179-199, 2013.

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.2012, n.1, p.1-26, 2012.

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

SHI, Q.; BAO, Z.; ZHU, Z.; YING, Q.; QIAN, Q. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 52, n. 2 , p. 793-800, 2005.

SILVA, A. R. F. **Componentes de produção e fisiológicos em ecótipos de *Vigna* sob reposição hídrica**. Campina Grande, 2014. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão.

SILVA, T. C. F. S.; MATIAS, J. R.; RAMOS, D. L. D.; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F. Uso de diferentes concentrações de ácido salicílico na germinação de sementes de melância Crimson Sweet. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n.2, p.7679 -7685, 2012a.

SILVA, R. T. L.; OLIVEIRA NETO, C. F.; BARBOSA, R. R. N.; COSTA, R. C. L.; CONCEIÇÃO, H. E. O. Resposta fisiológica de plantas de mamoeiro submetidas ao deficit hídrico. **Nucleus**, v.9, n.2, p.113-120, 2012b.

SOUZA, R. P.; MACHADO, E. C.; SILVA, J. A. B.; LAGÔA, A. M. M. A.; SILVEIRA, J. A. G. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. **Enviromental and Experimental Botany**, v.51, n.1, p.45-56, 2004 .

STORK, L.; GARCIA, D. C.; LOPES, S. J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação Vegetal**. 3ª ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2011. 200p.

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.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

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

TURAN, M. A.; ELKARIM, A. H. A.; TABAN, N.; TABAN, S. Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. **African Journal of Agricultural Research**, v.4, n.9, p.893-897, 2009.

YAMAMOTO, C. J. T.; LEITE, R. G. F.; MINAMIGUCHI, J. Y.; BRAGA, I.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Water-deficit tolerance induction during germination of Jalo Precoce bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.11, p.2897-2904, 2014.