



**UEPB**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
CENTRO CIÊNCIAS DE BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**RAYANNE SILVA DE ALENCAR**

**SEED PRIMING PROMOVE PLASTICIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E  
DE OSMOPROTEÇÃO EM FEIJÃO-CAUPI SOB DIFERENTES REPOSIÇÕES  
HÍDRICAS**

**CAMPINA GRANDE  
2022**

RAYANNE SILVA DE ALENCAR

**SEED PRIMING PROMOVE PLASTICIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E  
DE OSMOPROTEÇÃO EM FEIJÃO-CAUPI SOB DIFERENTES REPOSIÇÕES  
HÍDRICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado a/ao Coordenação /Departamento do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas.

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

**CAMPINA GRANDE  
2022**

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

A368s Alencar, Rayanne Silva de.  
*Seed priming* promove plasticidade de enzimas antioxidantes e de osmoproteção em feijão-caupi sob diferentes reposições hídricas [manuscrito] / Rayanne Silva de Alencar. - 2022.

26 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Silício. 2. Recurso hídrico. 3. Feijão-caupi. 4. Cultivo de hortícolas. I. Título

21. ed. CDD 635.352

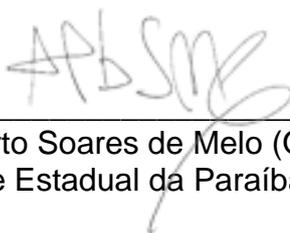
RAYANNE SILVA DE ALENCAR

SEED PRIMING PROMOVE PLASTICIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E DE  
OSMOPROTEÇÃO EM FEIJÃO-CAUPI SOB DIFERENTES REPOSIÇÕES  
HÍDRICAS

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)  
apresentado a/ao Coordenação  
/Departamento do Curso de Ciências  
Biológicas da Universidade Estadual da  
Paraíba, como requisito parcial à obtenção  
do título de Licenciatura em Ciências  
Biológicas.

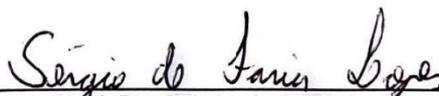
Aprovada em: 09/09/2022.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Alberto Soares de Melo (Orientador)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Prof. Dr. Sérgio de Faria Lopes  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Profa. Dr. Rener Luciano de Souza Ferraz  
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos é se não uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>6</b>  |
| <b>2 METODOLOGIA .....</b>  | <b>8</b>  |
| 2.1 Localização do experimento .....  | 8         |
| 2.2 Instalação e condução do experimento .....  | 8         |
| 2.2.1 Aplicação do condicionamento de sementes (Fase I) .....                                       | 8         |
| 2.2.2 Câmara de crescimento tipo Fitotron (Fase II) .....   | 9         |
| 2.2.3 Delineamento experimental.....  | 10        |
| 2.3 Variáveis analisadas .....  | 11        |
| 2.3.1 Potencial hídrico ( $\Psi_w$ ).....   | 11        |
| 2.3.2 Atividade de Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato<br>peroxidase (APX) ..... | 11        |
| 2.3.3 Quantificação de Prolina (PRO) .....  | 12        |
| 2.3.4 Massa seca total (MST).....   | 13        |
| 2.4 Análises estatísticas .....   | 13        |
| <b>3 RESULTADO E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>4 CONCLUSÃO .....</b>  | <b>20</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>21</b> |

## **SEED PRIMING PROMOVE PLASTICIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E DE OSMOPROTEÇÃO EM FEIJÃO-CAUPI SOB DIFERENTES REPOSIÇÕES HÍDRICAS**

### **SEED PRIMING PROMOTES PLASTICITY OF ANTIOXIDANT AND OSMOPROTECTION ENZYMES IN COWPEA UNDER DIFFERENT WATER REPLACEMENTS**

<sup>1</sup>Rayanne Silva de Alencar

#### **RESUMO**

No Brasil, o feijão-caupi é amplamente cultivado por possuir valor nutritivo, socioeconômico e moderada tolerância a restrição hídrica. Entretanto, nas regiões semiáridas essa cultura enfrenta sérios problemas com a má distribuição espaço-temporal das chuvas, além das altas variações nos níveis de radiação solar e altas temperaturas do ar, prejudicando seu desenvolvimento e crescimento. Desse modo, é necessário a busca por estratégias que mitiguem os efeitos deletérios da restrição hídrica. Nesse contexto, surge uma possível hipótese, de que o polietilenoglicol 6000 e o silício, podem induzir tolerância ao estresse por seca ao atuar em conjunto na técnica *seed priming*, viabilizando o cultivo do feijão-caupi em condições adversas. O presente estudo avaliou o desempenho do *seed priming* com PEG 6000 e silício na atividade antioxidante e osmoprotetora de feijão-caupi na cultivar BRS Tumucumaque sob diferentes lâminas de irrigação. O experimento foi conduzido em câmara tipo Fitotron, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 6x2, com quatro repetições. Sendo seis combinações de *priming* ( $\Psi_{h0} + 0Si$ ,  $\Psi_{h0} Mpa + 200Si$ ,  $\Psi_{h-0,4} + 0Si$ ,  $\Psi_{h-0,4} + 200Si$ ,  $\Psi_{h-0,8} + 0Si$ ,  $\Psi_{h-0,8} + 200Si$ ), duas lâminas de reposição de água evapotranspirada (50 e 100% da ETc) e quatro repetições. Foram avaliados o potencial hídrico, as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), prolina (PRO) e massa seca total (MST). Os dados foram submetidos a análise de variância e a teste de comparação de médias. A cultivar BRS Tumucumaque, foi mais responsiva ao *priming* principalmente pela homeostase no mecanismo antioxidante e acúmulo de massa seca total, sob ambas reposições hídricas. Sob condições de restrição hídrica, os *priming*  $\Psi_{h-0,4} + 0Si$ ,  $\Psi_{h-0,4} + 200Si$  e  $\Psi_{h-0,8} + 0Si$ , apresentaram melhor osmoproteção, através do incremento de prolina, resultando na tolerância da cultivar aos estresses abióticos. Logo, comprovamos a hipótese de que a técnica de *seed priming* com silício e PEG 6000, promove tolerância em cultivar de feijão-caupi sob déficit hídrico, viabilizando o seu cultivo, com melhor desenvolvimento.

**Palavras-chave:** Silício. Recurso hídrico. Feijão-caupi. Cultivo de hortícolas.

#### **ABSTRACT**

In Brazil, cowpea is widely cultivated because of its nutritional and socioeconomic value and moderate tolerance to water restriction. However, in semi-arid regions this culture faces serious problems with the poor space-time distribution of rainfall, in addition to the high variations in levels of solar radiation and high air temperatures, prejudicing its development and growth. Thus, it is necessary to search for strategies

<sup>1</sup> \*Graduanda em Ciências Biológicas; e-mail: rayannesilvadealencar@gmail.com

that mitigate the deleterious effects of water restriction. In this context, a possible hypothesis arises, that polyethylene glycol 6000 and silicon can induce tolerance to drought stress when acting together in the seed priming technique, enabling the cultivation of cowpea under adverse conditions. The present study evaluated the performance of seed priming with PEG 6000 and silicon on the antioxidant and osmoprotective activity of cowpea cultivar BRS Tumucumaque under different irrigation depths. The experiment was conducted in a Fitotron type chamber, using a completely randomized design, in 6x2 factorial, with four repetitions. There are six combinations of priming ( $\Psi_{h0} + 0Si$ ,  $\Psi_{h0} + 200Si$ ,  $\Psi_{h-0.4} + 0Si$ ,  $\Psi_{h-0.4} + 200Si$ ,  $\Psi_{h-0.8} + 0Si$ ,  $\Psi_{h-0.8} + 200Si$ ), two evapotranspirated water replacement blades (50 and 100% of the water potential, the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), proline (PRO) and total dry mass (MST) were evaluated. The data were subjected to variance analysis and a average comparison test. The cultivar BRS Tumucumaque was more responsive to priming, mainly due to homeostasis in the antioxidant mechanism and accumulation of total dry mass, under both water replacements. Under water restriction conditions, the priming  $\Psi_{h-0.4} + 0Si$ ,  $\Psi_{h-0.4} + 200Si$  and  $\Psi_{h-0.8} + 0Si$ , showed better osmoprotection, through the increase of proline, resulting in the tolerance of cultivar to abiotic stresses. Therefore, we confirmed the hypothesis that the seed priming technique with silicon and PEG 6000 promotes tolerance in cowpea cultivars under water deficit, enabling its cultivation, with better development.

**Keywords:** Silicon. Water resource. Cowpea. Growing vegetables.

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa que se destaca, pelo seu alto valor nutricional, expressiva importância socioeconômica, variabilidade genética intrínseca, moderada tolerância a restrição hídrica e ampla faixa de temperatura (entre 18 e 34°C) (VARELA et al., 2019; MELO et al., 2022a). Esta cultura é cultivada em mais de 10 milhões de hectares em todo o mundo, localizada principalmente nas regiões tropicais e subtropicais da América, Ásia e África, com uma produção aproximada de 5,5 milhões de toneladas (FAO, 2020). No Brasil, o feijão-caupi tem sido cultivado em diversas regiões semiáridas, onde a má distribuição espaço-temporal de chuvas ocasiona deficiência hídrica sazonal (LI et al., 2019;). Nesse sentido, as plantas de feijão-caupi cultivadas nessas áreas, estão sujeitas a restrição hídrica no decorrer do seu ciclo de desenvolvimento. (MELO et al., 2022b).

A restrição hídrica, é um dos principais estresses abióticos no semiárido brasileiro e seu efeito pode variar de acordo com sua duração e severidade ocasionando alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas, por exemplo, reduções na expansão celular, área foliar, fechamento estomático, aumento na abscisão foliar e diminuição da taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (SALEMI et al., 2019). O aumento a exposição a restrição hídrica, desencadeia outros danos, como o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas, que são produzidas de forma natural na célula vegetal promovendo o estresse oxidativo, que está relacionado a vários fatores, dentre eles o estresse hídrico (NUNES-JUNIOR et al., 2017). Para reduzir os danos provocados pelas EROs, as plantas possuem mecanismos endógenos como os complexos antioxidantes de defesas enzimáticos e não-enzimáticos, que apresentam a capacidade de desintoxicar as células e mitigar os danos fitotóxicos. Dentre elas destacam-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (BARBOSA et al., 2014).

Além da restrição hídrica, as mudanças nas variáveis climáticas, como luz e temperatura, podem influenciar a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo ainda ser fator determinante para a sobrevivência da planta, quando em condições de estresses abióticos. O controle da germinação e desenvolvimento do vegetal está condicionado, principalmente devido a variações na quantidade e qualidade de luz, bem como da semente em perceber o estímulo luminoso, sendo esta percepção realizada pelos fotorreceptores, sobretudo os fitocromos da planta (EPRINTSEV et al., 2018; COSTA et al., 2024). A radiação luminosa atua na aclimação morfofisiológica específica das plantas a diferentes tipos de luz, promovendo a tolerância do vegetal ao estresse (MELO et al., 2022b). Segundo Marcos-Filho (2015), o estresse térmico durante o processo de germinação pode ser avaliado a partir de mudanças na porcentagem, velocidade e uniformidade da germinação, uma vez que a temperatura afeta a absorção de água e as rotas metabólicas da germinação. Ainda, Barros et al., (2021) observaram que o acréscimo de 4,8 °C na temperatura, promoveu um aumento no estresse oxidativo ocasionando uma falta de sincronia no sistema de defesa antioxidante.

Diante do exposto, é de suma importância a busca por novas tecnologias que aumentem a eficiência do uso da água e a melhoria das rotas metabólicas, resultando em adaptação das plantas aos estresses abióticos. Dentre essas tecnologias, destaca-se o *seed priming*, que segundo Sano e Seo (2019), consiste no condicionamento de sementes, um tratamento que controla o teor de água das sementes para ativar parcialmente os processos pré-germinativos, como as rotas metabólicas, porém impede a germinação total das sementes, ou seja, a protrusão radicular. Esse condicionamento, expõe a semente a estímulos, em resposta aos quais ocorre um conjunto de alterações bioquímicas que estão interligadas (CHATTERJEE et al., 2018). Estudos realizados por Marthandan et al., (2020), observaram alguns benefícios da técnica do *seed priming*, destacando-se um processo de germinação aumentado e uniforme, tempo de embebição reduzido, estimulação da atividade das enzimas pré-germinativas, relacionadas ao mecanismo de defesa antioxidante. De acordo com Raj e Raj (2019), além da técnica de *priming* a base de água, que por si só, já tem efeitos benéficos contra os estresses abióticos, existem outras técnicas utilizando-se substância osmóticas, produtos biológicos, químicos, matriz sólida, etc.

Diversos agentes indutores de tolerância podem ser utilizados no *seed priming*. por exemplo, o polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) e o silício (Si). O silício que é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre e tem efeitos benéficos nas plantas, como aumentar a capacidade fotossintética e melhorar a arquitetura aérea das plantas (LACERDA et al., 2022). De acordo com Silva et al., (2019) e Melo et al. (2022a) o silício nas concentrações de 100 e 200 mg/L<sup>-1</sup>, minimizaram os efeitos do estresse em diferentes cultivares de feijão-caupi, através do aumento da atividade da enzima ascorbato peroxidase. Além do aumento do potencial hídrico foliar, por meio do incremento da concentração de prolina, garantindo a manutenção do crescimento das plantas. Além do PEG 6000, é um agente osmopríming popular que pode mitigar os impactos negativos de estresses abióticos. Na maior parte dos casos, plantas preparadas com PEG, demonstram efeitos positivos na germinação de sementes, estabelecimento de plântulas e rendimento, porém o benefício é variável dependendo de vários fatores, como espécie de cultura e tipo de estresse (TABASUM et al., 2018; LEI et al., 2021).

Com base no exposto, sabe-se que a água é um dos fatores mais limitantes para o desenvolvimento de culturas agrícolas no mundo. Esse elemento encontra-se

mal distribuído, ocasionando percas na produtividade do feijão-caupi. Nesse contexto, surge uma possível hipótese, de que o PEG 6000 e o silício, podem induzir tolerância ao estresse por seca ao atuar em conjunto na técnica *seed priming*, viabilizando o cultivo do feijão-caupi em condições adversas. O presente estudo avaliou o desempenho do *seed priming* com PEG 6000 e silício na atividade antioxidante e osmoprotetora de feijão-caupi na cultivar BRS Tumucumaque sob diferentes lâminas de irrigação.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 Localização do experimento**

O experimento foi conduzido em duas etapas, a Fase I foi realizada em Câmara de Germinação (B.O.D) e a Fase II do experimento (formação de mudas em câmara de crescimento tipo Fitotron sob estresses hídrico e térmico) foi realizada na Estação Experimental pertencente à Universidade Estadual da Paraíba – UEPB e situada nas coordenadas 07° 12' 42,99" de latitude, 35° 54' 36,27" longitude e altitude de 521 m, As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB) da UEPB, localizado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias (Campus I), em Campina Grande-PB, Brasil (07° 13' 50" de latitude, 35° 52' 52" de longitude e 551 m de altitude).

### **2.2 Instalação e condução do experimento**

Inicialmente as sementes foram triadas, descartando as que continham danos físicos, biológicos e/ou com má formação. Após a triagem, as sementes foram tratadas com fungicida (Captan®), na dosagem de 0,22g para 100g de sementes, permanecendo em repouso por 24 horas. Após esse período, as sementes foram lavadas e secadas para a aplicação do *priming*. De imediato após o processo de assepsia, 50 sementes foram alocadas em caixas plásticas, tipo Gerbox®, medindo 11 x 11 x 3,5 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente. O substrato no interior das caixas foi constituído de duas camadas de folha de papel 'germitex' umedecidas com as soluções correspondentes a cada condicionamento, em volume correspondente a aproximadamente três vezes a sua massa seca (FERREIRA et al., 2017).

#### **2.2.1 Aplicação do condicionamento de sementes (Fase I)**

Para simulação do estresse hídrico moderado e severo (-0,4 MPa, -0,8 MPa), no *seed priming*, foi utilizado Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), diluído em água destilada. A condição de luminosidade (luz vermelha com comprimento de onda de 600 a 680 nm), foram reproduzidas por fitas de LED de 24W, luz vermelha para LVE, uma temperatura constante de 40°C; com dois níveis de concentração de silício em (zero e 200 mg L<sup>-1</sup>) na forma de nanopartícula (Tabela 1) (FERRAZ et al., 2014).

**Tabela 1.** Os *priming* são resultantes das combinações de uma temperatura, três potenciais hídricos do meio de cultivo, uma condição de luminosidade e dois níveis de concentração de silício (PRI; nível do *priming*;  $\Psi_w$ ; potencial hídrico, Mpa: megapascal, LVE: luz vermelha, Si: silício).

| PRI | Combinações  |
|-----|--|
| 1   | 40 °C + $\Psi_h$ 0 MPa + LVE + 0 mg L <sup>-1</sup> de Si (controle) |
| 2   | 40 °C + $\Psi_h$ 0 MPa + LVE + 200 mg L <sup>-1</sup> de Si          |
| 3   | 40 °C + $\Psi_h$ -0,4 MPa + LVE + 0 mg L <sup>-1</sup> de Si         |
| 4   | 40 °C + $\Psi_h$ -0,4 MPa + LVE + 200 mg L <sup>-1</sup> de Si       |
| 5   | 40 °C + $\Psi_h$ -0,8 MPa + LVE + 0 mg L <sup>-1</sup> de Si         |
| 6   | 40 °C + $\Psi_h$ -0,8 MPa + LVE + 200 mg L <sup>-1</sup> de Si       |

Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

As caixas contendo as sementes foram acondicionadas em câmaras de germinação tipo B.O.D. adaptadas com painéis de LED para fornecimento das condições de luminosidade. O tempo de aplicação do condicionamento foi de 5 h, tempo necessário para embebição das sementes sem que haja a conclusão do processo de germinação (Fase 1) (GUIMARÃES et al., 2008). Posteriormente, as sementes foram transferidas para caixas Gerbox® sem tampa, com duas camadas de papel germitex secas, e submetidas à secagem nas mesmas condições de luminosidade e temperatura utilizadas durante condicionamento.

**Figura 1** - Aplicação dos *priming* nas sementes de feijão-caupi com silício e PEG 6000.



Fonte: Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas (ECOLAB), Campina Grande, 2022.

### 2.2.2 Câmara de crescimento tipo Fitotron (Fase II)

As sementes obtidas da Etapa I foram semeadas em vasos de polietileno com capacidade de 0,8 L, preenchidos com 700g de solo + 300g de esterco, sendo postas

três sementes por vaso à 1 cm de profundidade. Os vasos foram irrigados até próximo a capacidade de campo. Os vasos foram transferidos para a câmara de crescimento tipo Fitotron com temperatura ajustada para variação em condição de estresse térmico (32°C dia/ 28°C noite, 12/12 horas) e umidade relativa do ar constante de 60%. O manejo da umidade do substrato foi realizado em turno de rega diário, utilizando-se do método de pesagens (SILVA et al., 2020), em que foi reposta a água perdida por evapotranspiração da cultura – ET<sub>c</sub> no dia que antecedeu cada evento de irrigação.

Após a emergência, foi feito o desbaste das plântulas, mantendo duas plantas por vaso. Transcorridos 16 dias após a emergência (DAE) foi realizada a imposição da restrição hídrica. As plantas foram mantidas nos vasos, em condições controladas, em que 16 dias após a imposição da restrição hídrica foram retiradas para as avaliações das atividades antioxidantes e osmoprotetoras.

**Figura 2** - Unidades experimentais distribuídas, em câmara de crescimento tipo Fitotron.



**Fonte:** Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas (ECOLAB), Campina Grande, 2022.

### 2.2.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6x2, com 4 repetições. Os fatores consistiram em seis condicionamento de sementes constituídos de *priming* 1 (40 °C +  $\Psi_h$  0 MPa + LVE + 0 mg L<sup>-1</sup> de Si (controle), *priming* 2 (40 °C +  $\Psi_h$  0 MPa + LVE + 200 mg L<sup>-1</sup> de Si), *priming* 3 (40 °C +  $\Psi_h$  -0,4 MPa + LVE + 0 mg L<sup>-1</sup> de Si), *priming* 4 (40 °C +  $\Psi_h$  -0,4 MPa + LVE + 200 mg L<sup>-1</sup> de Si), *priming* 5 (40 °C +  $\Psi_h$  -0,8 MPa + LVE + 0 mg L<sup>-1</sup> de Si), *priming* 6 (40 °C +  $\Psi_h$  -0,8 MPa + LVE + 200 mg L<sup>-1</sup> de Si) e dois níveis de reposição de água evapotranspirada da cultura (50 e 100% da ET<sub>c</sub>), com quatro repetições.

A combinação desses dois fatores resultou em 12 tratamentos, arranjados em delineamento inteiramente casualizados, com quatro repetições, constituindo 48 unidades experimentais (vasos).

## 2.3 Variáveis analisadas

### 2.3.1 Potencial hídrico ( $\Psi_w$ )

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) das cultivares foi determinado 16 dias após a imposição a restrição hídrica, utilizando-se uma câmara de pressão do tipo Scholander (SCHOLANDER et al., 1965) modelo 3005F01 da “Soil Moisture Corp” (Santa Bárbara, Califórnia, EUA) e expressos na unidade MPa. As leituras foram realizadas em uma sala com o mínimo de luz, no período de 17:00 às 19:00 horas. Para isto, utilizou-se pecíolos com folhas totalmente expandidas, situadas na região mediana das plantas (FREITAS et al., 2017).

**Figura 3** – Bomba de Scholander, para análise de potencial hídrico ( $\Psi_w$ ).



Fonte: Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas (ECOLAB), Campinas Grande, 2022.

### 2.3.2 Atividade de Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX)

Para a determinação da atividade de enzimas antioxidantes (Superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase), 200 mg de tecido foliar fresco foram macerados em 2 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 7,5), acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (3%). Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 10000 rpm e temperatura de 4 °C durante 20 minutos, utilizando-se uma centrífuga refrigerada modelo Mikro200r. O sobrenadante foi aspirado e transferido para tubos de centrífuga com capacidade para 2 mL, os quais foram mantidos em freezer a -20 °C até o momento das análises

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base na capacidade de inibição da fotoredução do cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT), pela enzima presente no extrato vegetal. Alíquotas de 100  $\mu$ L do extrato enzimático foram adicionados em tubos de ensaio, protegidos da luz, contendo o meio de reação (1,5 mL), composto por tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,5) e acrescido de EDTA (0,1 mM), metionina (13 mM), e NBT (0,75  $\mu$ M). Em seguida, a reação foi

iniciada pela adição de riboflavina (2  $\mu\text{M}$ ). Posteriormente os tubos foram alocados em uma caixa de reação vedada, com iluminação interna (35 watts) à temperatura ambiente, por 15 min. E por fim, a leitura do branco do claro foi realizada (os quais representam 100% da redução do NBT) para zerar o espectrofotômetro e logo após, foram feitas leituras das soluções com seus respectivos extratos enzimáticos. Todas as leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro (modelo Nova 2000 UV) regulado em 560 nm de absorvância, cuja atividade foi expressa em U por min por mg de massa fresca (BEAUCHAMP & FRIDOVICH, 1971).

A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada de acordo com Kar e Mishra (1976), a qual é definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pela enzima presente no extrato. Para isso, iniciou-se a reação com a adição do extrato enzimático (150  $\mu\text{L}$ ) na cubeta de quartzo, contendo o meio de reação (2,85 mL), contendo 1950  $\mu\text{L}$  de tampão de determinação (100 mM, pH: 7,5); 150  $\mu\text{L}$  do tampão de extração (50 mM, pH: 7,0) e 750  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50 mM). Após uma leve agitação, a solução foi levada ao espectrofotômetro, regulado em 240 nm, cujos decréscimos da absorvância foram observados durante 2 min e as leituras realizadas a cada 10 segundos. A equação de LAMBERT-BEER ( $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ ), onde  $A$  = diminuição da absorvância (média em triplicata);  $\epsilon$  = coeficiente de extinção molar (39,4  $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ );  $b$  = comprimento do caminho óptico (1 cm); e  $c$  = concentração da enzima expressa em  $\text{mol L}^{-1}$ , foi usada. A atividade da CAT foi expressa em  $\mu\text{mol por min}^{-1} \text{gMF}^{-1}$ .

A atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) foi calculada com base no consumo do ascorbato, através de monitoramento do decréscimo da absorvância à 290 nm em cubeta de quartzo (NAKANO & ASADA, 1981). Para isso, foram misturados 300  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático ao meio de reação (2,5 mL) composto por tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 6,0) acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). Em seguida, a reação foi iniciada adicionando-se 200  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (2 mM), à qual foi monitorada pelo decréscimo da absorvância, durante 1 min, com a realização das leituras a cada 10 segundos. Os cálculos para quantificação da atividade de APX foram realizados pela equação de Lambert Beer, tendo como coeficiente de extinção molar o ascorbato (2,8  $\text{mM cm}^{-1}$ ). A atividade final de APX foi expressa em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{gMF}^{-1}$ .

### 2.3.3 Quantificação de Prolina (PRO)

O teor de prolina (PRO) foi quantificado pelo método colorimétrico, descrito por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto & Barreto (2011). Para isso, 250 mg de tecido foliar fresco foram macerados em 5 mL de ácido sulfossalicílico a 3%, e centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi retirado e armazenado em tubos para centrífuga com capacidade de 2,5 mL, para posterior determinação da concentração de PRL. O desenvolvimento da cor foi realizado através 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 mesmos tubos foram resfriados em banho de gelo para estabilizar a reação e posteriormente foram adicionados 2 mL do reagente tolueno aos mesmos, os quais foram agitados em agitador de tubo tipo Vortex por 20 segundos e mantidos em repouso por 15 minutos, até a separação da solução em duas fases (cromóforo e translúcida). A leitura do sobrenadante ocorreu em espectrofotômetro (520 nm), utilizando-se o tolueno puro como branco, para zerar o aparelho. A concentração de

prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L- prolina e expressa em  $\mu\text{mol PRO g}^{-1} \text{MF}$ .

**Figura 4** – Análise de prolina (PRO).



**Fonte:** Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas (ECOLAB), Campina Grande, 2022.

#### 2.3.4 Massa seca total (MST)

Para aferição da massa seca total, as plantas foram colocadas, separadamente, em sacos de papel devidamente identificados e colocadas em estufa com circulação de ar forçado a 70 °C por um período de 72 horas para secagem. Após esse período, o material vegetal foi pesado em balança analítica ( $e = 0,0001 \text{ g}$ ).

#### 2.4 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro – Wilk (SHAPIRO & WILK, 1965). Atendidos os pressupostos de normalidade, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $P < 0,05$ ), seguidos pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) para as combinações de *priming*, e pelo teste T-Student ( $P \leq 0,05$ ) para as lâminas de irrigação, utilizando-se o software estatístico, Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nas análises de variância verificou-se que houve diferença significativa entre os *priming* em todas as variáveis. Observou-se diferenças significativas entre as lâminas nas variáveis superóxido dismutase (SOD), prolina (PRO) e massa seca total (MST). Constatou-se também diferenças significativas na interação entre os fatores (*priming* x Lâmina) nas variáveis SOD, catalase (CAT) e PRO (Tabela 2).

**Tabela 2-** Resumo das análises de variância das variáveis de status hídrico, enzimas antioxidantes, ajustamento osmótico e acúmulo de matéria seca total em cultivar de feijão-caupi sob diferentes níveis de reposição hídrica e *seed priming* com silício e Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000).

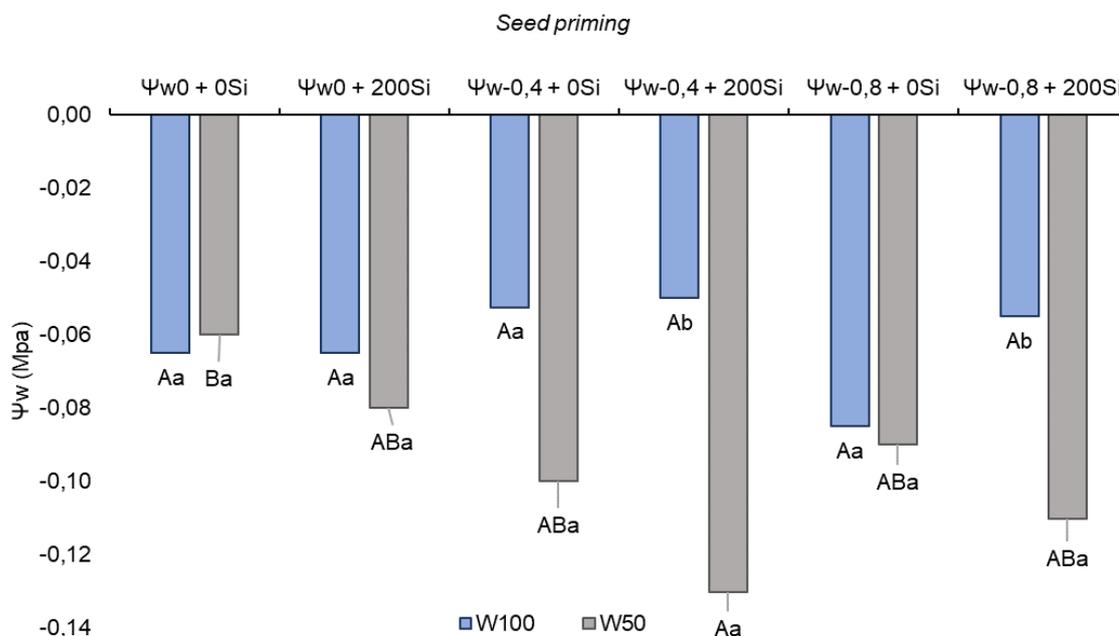
| Fonte de variação                  | GL | Quadrados Médios     |                 |  |  |                                      |                        |
|------------------------------------|----|----------------------|-----------------|--|--|--------------------------------------|------------------------|
|                                    |    | $\Psi_w$<br>(Mpa)    | SOD<br>(UA/gMF) | CAT<br>( $\mu\text{mol min}^{-1}$<br>gMF <sup>-1</sup> ) | APX<br>( $\mu\text{mol min}^{-1}$<br>gMF <sup>-1</sup> ) | PRO<br>( $\mu\text{mol}$<br>PRO/gMF) | MST<br>(g)             |
| <i>Priming</i>                     | 5  | 0,0009**             | 280,3**         | 0,00683**  | 0,7650**   | 67609,3**                            | 1,693318**             |
| Lâmina<br>(L)                      | 1  | 0,0123 <sup>ns</sup> | 2222,0**        | 0,00052 <sup>ns</sup>                                    | 0,0317 <sup>ns</sup>                                     | 108415,1**                           | 1,351528**             |
| Interação<br><i>priming</i><br>x L | 5  | 0,0022 <sup>ns</sup> | 914,1**         | 0,0031**   | 0,0567 <sup>ns</sup>                                     | 32055,3**                            | 0,239772 <sup>ns</sup> |
| Resíduo                            | 36 | 0,0009               | 51,2            | 0,00093  | 0,0323   | 4603,1                               | 0,049419               |
| CV %                               |    | 40,32                | 13,43           | 28,39  | 29,21  | 35,84                                | 21,79                  |

**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2022.

GL- grau de liberdade; \*\*, \* - significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F; <sup>ns</sup> - não significativo;  $\Psi_w$  – potencial hídrico; SOD – superóxido dismutase; CAT – catalase; APX – ascorbato peroxidase; PRO – prolina; MST – massa seca total; CV – coeficiente de variação. **Fonte:** Elaborada pelo autor, 2022.

Em condições de restrição hídrica (W50), os maiores potenciais hídricos foram observados nos *priming*  $\Psi_w0 + 0\text{Si}$  (-0,06 MPa), *priming*  $\Psi_w0 + 200\text{Si}$  (-0,08 MPa) e *priming*  $\Psi_w-0,8 + 0\text{Si}$  (-0,09 MPa), enquanto que os menores nos *priming*  $\Psi_w-0,4 + 0\text{Si}$  (-0,10 MPa), *priming*  $\Psi_w-0,4 + 200\text{Si}$  (-0,13 MPa) e *priming*  $\Psi_w-0,8 + 200\text{Si}$  (-0,11 MPa). Já na lâmina W100, os maiores potenciais hídricos foram constatados nos *priming*  $\Psi_w-0,4 + 0\text{Si}$  (-0,05 MPa), *priming*  $\Psi_w-0,4 + 200\text{Si}$  (-0,05 MPa) e o menor no *priming*  $\Psi_w-0,8 + 0\text{Si}$  (-0,09 MPa), conforme figura 1.

**Figura 1-** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) da cultivar de feijão-caupi BRS Tumucumaque, condicionadas à duas lâminas de irrigação (W100 e W50) e combinações de *seed priming*. Letras maiúsculas diferenciam as combinações de *priming* (Tukey  $P \leq 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam as lâminas de irrigação (T-Student  $P \leq 0,05$ ). Campina Grande, 2022.



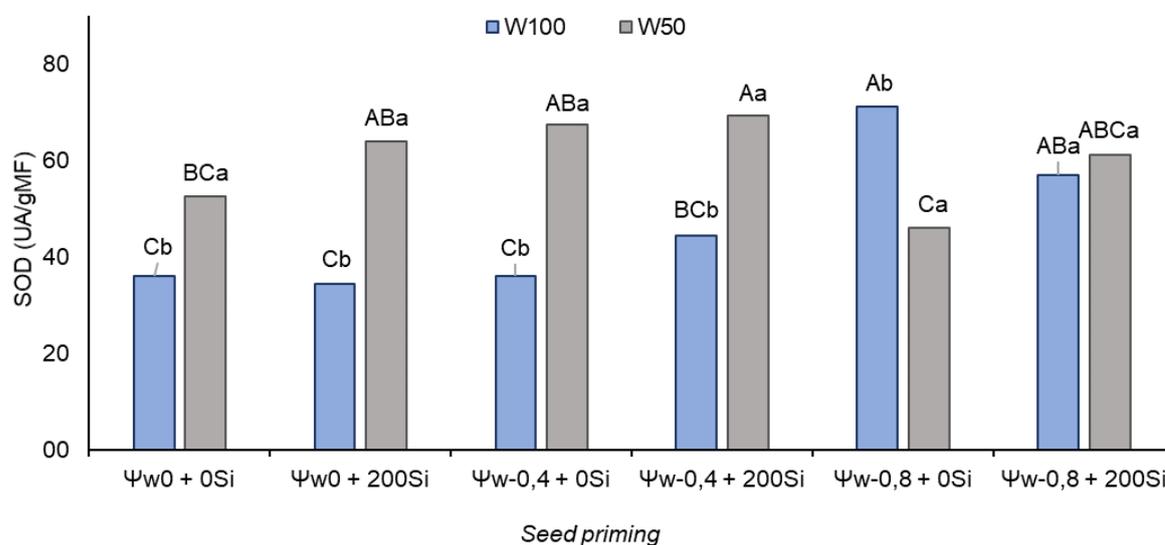
**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2022.

Quando as plantas são impostas a restrição hídrica, ocorrem inúmeras alterações fisiológicas e bioquímicas que podem ser utilizadas contra o estresse. No presente estudo a restrição hídrica reduziu o potencial hídrico das plantas, podendo ocasionar danos em suas funções normais, por fatores morfológicos e alterações fisiológicas, principalmente devido ao desequilíbrio no sistema de oxirredução, gerando perdas nos órgãos em desenvolvimento no decorrer do crescimento, como constatado por Dutra et al. (2017).

O silício mitiga os efeitos deletérios do estresse hídrico em cultivares de feijão-caupi, sendo capaz de aumentar o potencial hídrico, garantindo o crescimento da cultura (SILVA et al, 2019). Com base no exposto, o aumento do potencial hídrico nas lâminas W50 e W100, pode estar relacionado a maior concentração de Si (200 mg/L<sup>-1</sup>) no *priming*, resultado sendo incrementado pela ação do PEG 6000, de modo que, em condições de restrição hídrica, este polímero induz tolerância a estresse (SALLEH et al. 2021).

Ao avaliar a atividade da superóxido dismutase (SOD), sob a lâmina W50, verificou-se aumento dessa variável nos *priming*  $\Psi_{w0} + 200Si$  (21%),  $\Psi_{w-0,4} + 0Si$  (28%) e  $\Psi_{w-0,4} + 200Si$  (31%), quando comparados ao controle (*priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$ ), da respectiva lâmina. Já em W100, observou-se maior atividade dessa enzima no *priming*  $\Psi_{w-0,8} + 0Si$ , com aumento de 97,5% em relação ao *priming* 1 ( $\Psi_{w0} + 0Si$ ), conforme figura 2.

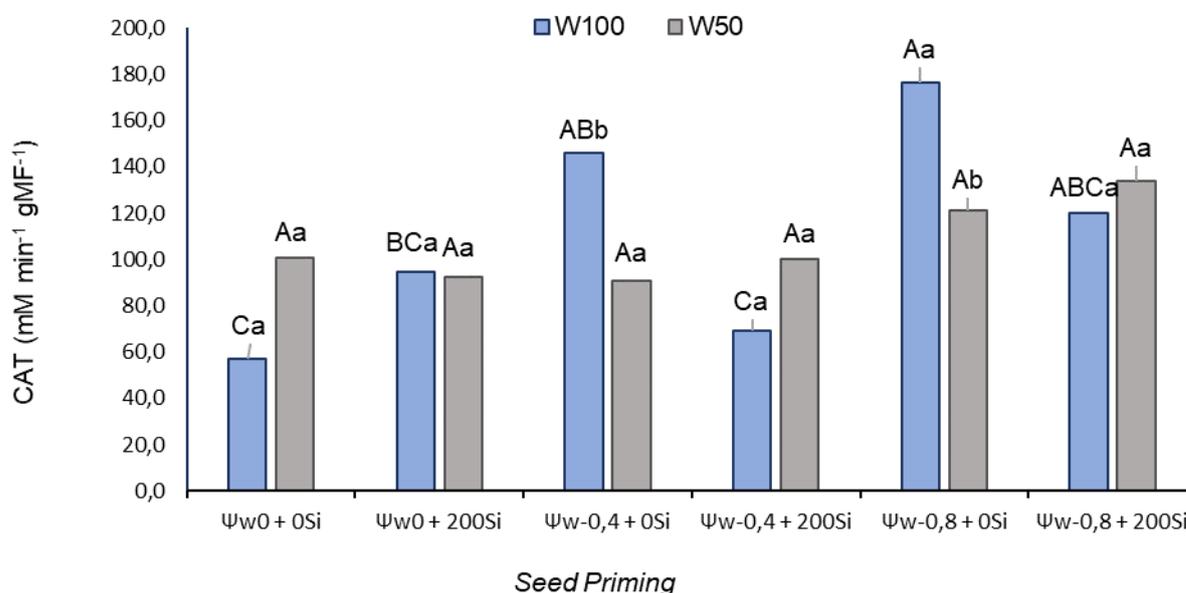
**Figura 2-** Superóxido dismutase (SOD) da cultivar de feijão-caupi BRS Tumucumaque, condicionadas à duas lâminas de irrigação (W100 e W50) e combinações de *seed priming*. Letras maiúsculas diferenciam as combinações de *priming* (Tukey  $P \leq 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam as lâminas de irrigação (T-Student  $P \leq 0,05$ ). Campina Grande, 2022



**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2022.

Quando determinada a atividade da catalase (CAT) sob W50, verificou-se acréscimos de 20,1 e 32,7%, nos *priming*  $\Psi_{w-0,8} + 0Si$  e  $\Psi_{w-0,8} + 200Si$ , respectivamente, quando relacionados ao *priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$  (W50). Em W100, foi possível observar incrementos de 155 e 207% dessa enzima nos *priming*  $\Psi_{w-0,4} + 0Si$  e  $\Psi_{w-0,8} + 0Si$ , em comparação ao *priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$  (W100), conforme figura 3.

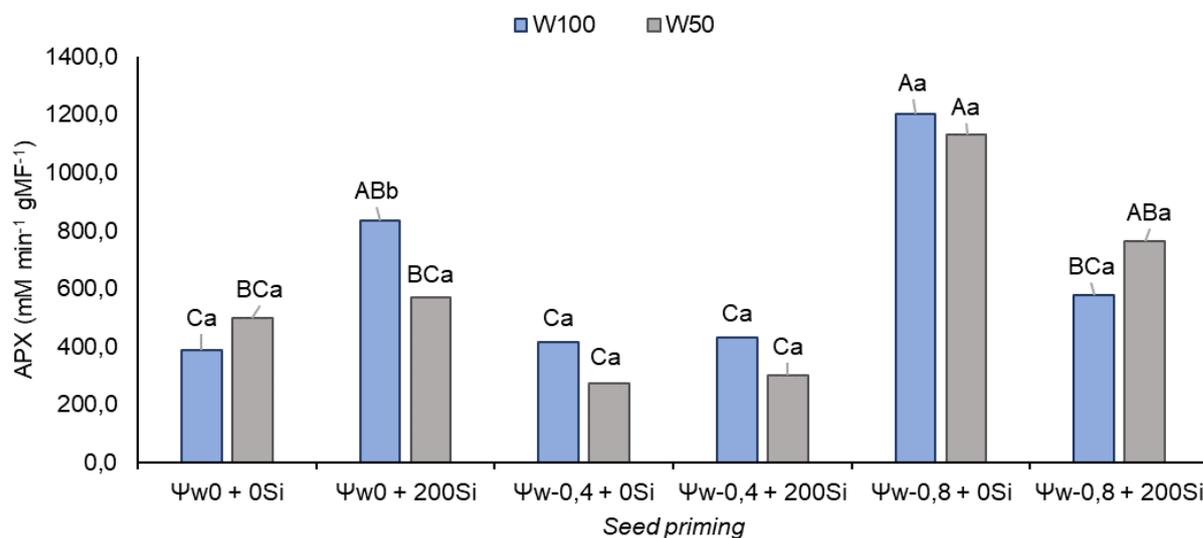
**Figura 3-** Catalase (CAT) da cultivar de feijão-caupi BRS Tumucumaque, condicionadas à duas lâminas de irrigação (W100 e W50) e combinações de *seed priming*. Letras maiúsculas diferenciam as combinações de *priming* (Tukey  $P \leq 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam as lâminas de irrigação (T-Student  $P \leq 0,05$ ). Campina Grande, 2022.



**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2022.

Sob restrição hídrica, a determinação da atividade de ascorbato peroxidase (APX), foram constatados nos *priming*  $\Psi_{w-0,8} + 0Si$  e  $\Psi_{w-0,8} + 200Si$ , aumentos de 127,3 e 53% dessa variável, respectivamente, em comparação ao *priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$  (W50). Mediante a W100, observou-se maior atividade da APX nos *priming*  $\Psi_{w0} + 200Si$  e  $\Psi_{w-0,8} + 0Si$ , com diferenças percentuais de 114 e 209%, respectivamente, em relação ao *priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$ , conforme figura 4.

**Figura 4-** Ascorbato peroxidase (APX) da cultivar de feijão-caupi BRS Tumucumaque, condicionadas à duas lâminas de irrigação (W100 e W50) e combinações de *seed priming*. Letras maiúsculas diferenciam as combinações de *priming* (Tukey  $P \leq 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam as lâminas de irrigação (T-Student  $P \leq 0,05$ ). Campina Grande, 2022.



**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2022.

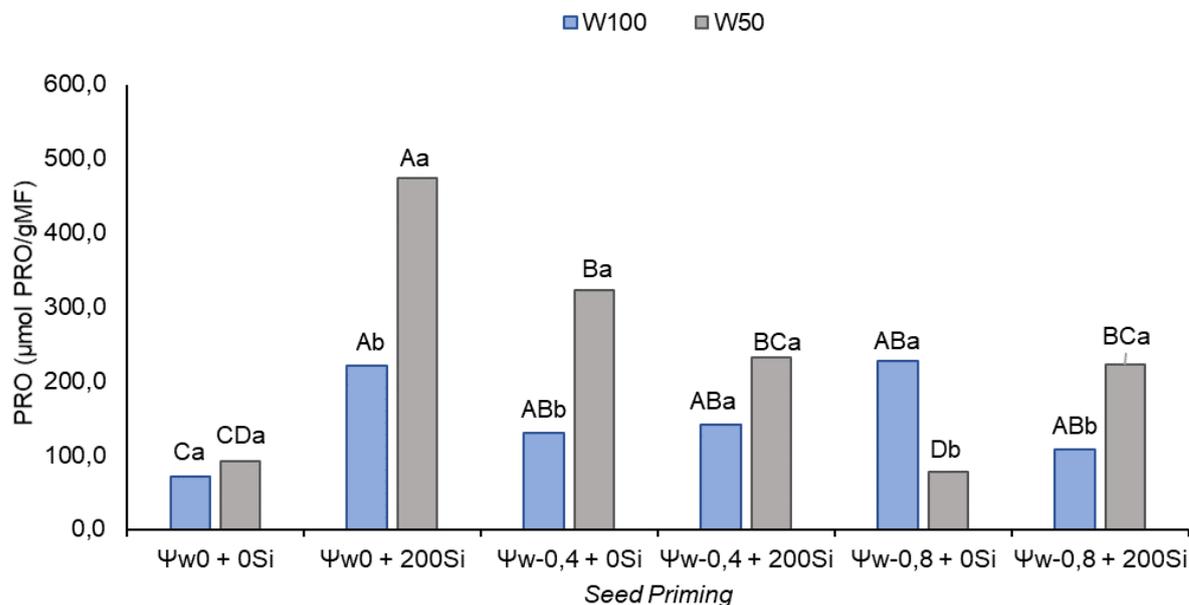
A proteção contra danos ocasionados por condições de estresse, são ativadas pelas plantas, principalmente pelas enzimas SOD, CAT e APX que são capazes de neutralizar a toxicidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) (IQBAL et al., 2018).

A SOD, atua como a primeira linha de defesa antioxidante de plantas, que metaboliza o radical superóxido em  $H_2O_2$ , que *a posteriori* serão eliminados pela CAT e APX (BARBOSA et al., 2014). No presente estudo, o aumento da atividade da SOD em feijão-caupi sob lâmina W50, nos *priming*  $\Psi w-0,4 + 0Si$  e  $\Psi w-0,4 + 200Si$  pode ter sido devido a ação do PEG 6000 e quanto ao *priming*  $\Psi w0 + 200Si$  pelo incremento do Si, corroborando os resultados de Sattar et al. (2017), Parveen et al. (2019) e Uddin et al. (2021), em que observaram o aumento da atividade antioxidante em plantas de trigo, milho e feijão-mungu, respectivamente, sob aplicações de *priming* com silício, PEG 6000 e em condições de restrição hídrica.

Nesta pesquisa, o aumento da CAT nos *priming*  $\Psi w-0,4 + 0Si$ ,  $\Psi w-0,8 + 0Si$  e  $\Psi w-0,8 + 200Si$  e APX nos *priming*  $\Psi w0 + 200Si$ ,  $\Psi w-0,8 + 0Si$  e  $\Psi w-0,8 + 200Si$ , seria resultado da utilização do Si e PEG 6000, visto que ambos atuam como indutores de tolerância ao déficit hídrico. Esse fato também foi constatado por Borborema (2022), na cultivar BRS Itaim, onde a autora verificou aumento das enzimas CAT e APX, mediante a aplicação dos *priming*  $\Psi -0,8 + 0Si$  e  $\Psi 0 + 200Si$ , comprovando o efeito benéfico do PEG 6000 e Si na indução a estresse abióticos.

Para determinação de Prolina, sob W50, observou-se incrementos significativos de 420 e 254% dessa variável, nos *priming*  $\Psi w0 + 200Si$  e  $\Psi w-0,4 + 0Si$ , respectivamente, quando relacionadas ao *priming*  $\Psi w0 + 0Si$ . Na lâmina W100, essa variável apresentou aumentos nos *priming*  $\Psi w0 + 200Si$  e  $\Psi w-0,8 + 0Si$ , em comparação ao *priming*  $\Psi w0 + 0Si$ , com diferenças percentuais de 208,3 e 217,4%, conforme figura 5.

**Figura 5-** Prolina (PRO) da cultivar de feijão-caupi BRS Tumucumaque, condicionadas à duas lâminas de irrigação (W100 e 50) e combinações de *seed priming*. Letras maiúsculas diferenciam as combinações de *priming* (Tukey  $P \leq 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam as lâminas de irrigação (T-Student  $P \leq 0,05$ ). Campina Grande, 2022.



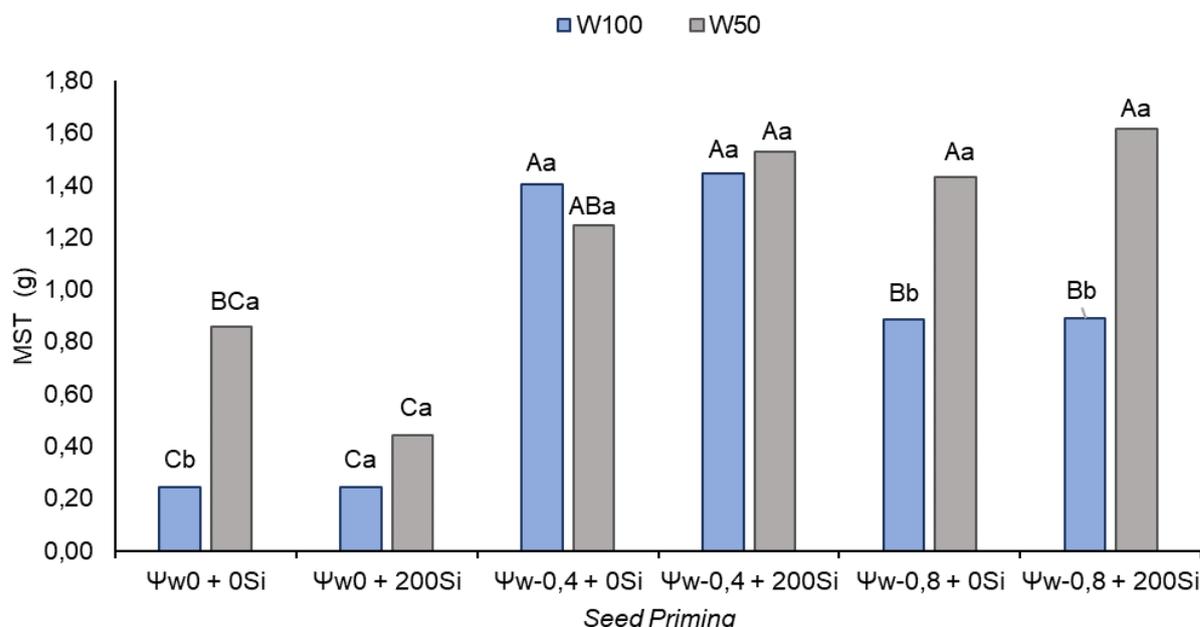
Fonte: Elaborada pelo autor, 2022

Existem fortes indicadores da ação osmoprotetora associada ao mecanismo antioxidante, mediada por solutos compatíveis que colaboram para a homeostase celular e auxiliam o desenvolvimento da planta (MELO et al., 2022a).

Na tentativa de atenuar o desequilíbrio celular da água, as plântulas de feijão-caupi produzem osmólitos compatíveis, sendo exemplo a prolina, que favorece o ajustamento osmótico e previne a desidratação dos tecidos (ARAÚJO et al., 2017; MELO et al., 2022a). Logo, o aumento da prolina verificado nos *priming*  $\Psi_{w0} + 200Si$ ,  $\Psi_{w-0,4} + 0Si$  e  $\Psi_{w-0,8} + 0Si$  (W100) e nos *priming*  $\Psi_{w0} + 200Si$  e  $\Psi_{w-0,4} + 0Si$  (W50), foi devido a aplicação do Si, que junto ao PEG 6000, potencializou o incremento desse aminoácido de osmoproteção. Visto que, acréscimos de solutos orgânicos, como a prolina e os açúcares solúveis totais, são frequentes em plântulas oriundas de sementes condicionadas ao *seed priming* e cultivadas sob estresse hídrico, promovendo maior germinação e crescimento (COSTA et al., 2022).

Ao avaliar a massa seca total (MST), sob W50, verificou-se aumentos significativos de 77,6 e 87,7% dessa variável, nos *priming*  $\Psi_{w-0,4} + 200Si$  e  $\Psi_{w-0,8} + 200Si$ , respectivamente quando relacionadas ao *priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$ . No que diz respeito, a lâmina W100, os maiores valores foram observados nos *priming*  $\Psi_{w-0,4} + 0Si$  e  $\Psi_{w-0,4} + 200Si$ , com diferenças percentuais de 474 e 492%, respectivamente, em comparação ao *priming*  $\Psi_{w0} + 0Si$ , conforme figura 6.

**Figura 6-** Massa seca total (MST) da cultivar de feijão-caupi BRS Tumucumaque, condicionadas à duas lâminas de irrigação (W100 e w50) e combinações de *seed priming*. Letras maiúsculas diferenciam as combinações de *priming* (Tukey  $P \leq 0,05$ ) e letras minúsculas diferenciam as lâminas de irrigação (T-Student  $P \leq 0,05$ ). Campina Grande, 2022.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022

Ao fim da fase vegetativa do feijão-caupi, o déficit hídrico diminui a abertura estomática e dificulta a assimilação do carbono no metabolismo fotossintético (MELO et al., 2018), prejudicando o crescimento, a expansão da área foliar, a produção em massa seca, (MELO et al., 2018; ANDRADE et al., 2021), o peso da vagem e o rendimento (DUTRA et al., 2015). Nesse sentido, mudas geradas de sementes submetidas ao *priming* melhoram as características fisiológicas, bioquímicas, biométricas, acúmulo de matéria seca e índices de crescimento para maior tolerância aos estresses abióticos (BONOU, 2022), desse modo verificando o benefício do *priming* 4 e 6 da lâmina W50.

Para Borborema (2022) o acúmulo de MST obtido pela lâmina W50 sob o SP  $\Psi_{-0,4} + 0Si$  (1,05 g), foi em resposta a ação do PEG 6000, que melhorou o potencial de germinação, aumentando o peso das reservas mobilizadas de sementes e a massa seca total das plântulas sob restrição hídrica, como observado por Tounekti. et al. (2020), enquanto avaliava variedades de sorgo saudita.

#### 4 CONCLUSÃO

A cultivar BRS Tumucumaque, foi mais responsiva aos *priming*  $\Psi_{-0,4} + 0Si$ ,  $\Psi_{-0,4} + 200Si$  e  $\Psi_{-0,8} + 0Si$ , principalmente pela homeostase no mecanismo antioxidante e acúmulo de massa seca total, sob ambas reposições hídricas. Sob condições de restrição hídrica, os *priming*  $\Psi_{h0} + 200Si$  e  $\Psi_{-0,4} + 0Si$ , apresentaram melhor osmoproteção, através do incremento de prolina, resultando na tolerância da cultivar aos estresses abióticos. Logo, comprovamos a hipótese de que a técnica de *seed priming* com silício e PEG 6000, promove tolerância em cultivar de feijão-caupi sob déficit hídrico, viabilizando o seu cultivo, com melhor desenvolvimento.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, W. L. de; MELO, A. S. de; MELO, Y. L.; SÁ, F. V. da S.; ROCHA, M. M.; OLIVEIRA, A. P. da S.; FERNANDES-JÚNIOR, P. I. *Bradyrhizobium* inoculation plus foliar application of salicylic acid mitigates water deficit effects on cowpea. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 2, p. 656-667, 2021.

ARAÚJO, E. D. de; MELO, A. S. de.; ROCHA, M. DO S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. DE M. Genotypic variation on the antioxidative response of cowpeacultivars exposed to osmotic stress. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 928-937, 2017.

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. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BARROS, J. R. A.; GUIMARÃES, M. J. M.; SILVA, R. M.; SIMÕES, W. L.; MELO, N. F.; ANGELOTTI, F. Production and biochemical responses of cowpea under thermal and water stress. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 16, n. 2, p. e8599, 2021.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

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

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

BONOU, Semako Ibrahim. **Indução de tolerância aos estresses térmico e hídrico em Moringa oleífera em região semiárida**. 2022. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2022.

BORBOREMA, Lucyelly Dâmela Araújo. **Plasticidade fenotípica de feijão-caupi BRS Itaim sob restrição hídrica e seed priming com PEG 6000 e silício**. 2022. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Biosistemas) – Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, 2022.

CHATTERJEE, N.; SARKAR, D.; SANKAR, A.; SUMITA, P. A. L.; SINGH, H. B.; SINGH, R. K.; RAKSHIT, A. On-farm seed priming interventions in agronomic crops. **Acta agriculturae Slovenica**, v. 111, n. 3, p. 715-735, 2018.

COSTA, A. A.; PAIVA, E. P.; TORRES, S. B.; SOUZA NETA, M. L.; PEREIRA, K. T. O.; LEITE, M. S.; SÁ, F. V. S.; BENEDITO, C. P. Osmoprotection in *Salvia hispanica* L. seeds under water stress attenuators. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, n. 11, p. e233547, 2022.

COSTA, P. S.; FERRAZ, R. L. S.; DANTAS-NETO, J.; MARTINS, V. D.; VIÉGAS, P. R. A.; MEIRA, K. S.; NDHLALA, A. R.; AZEVEDO, C. A. V.; MELO, A. S. Seed priming with light quality and *Cyperus rotundus* L. extract modulate the germination and initial growth of *Moringa oleífera* Lam. seedlings. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e255836, 2024.

DUTRA, A. F.; MELO, A. S. de; FILGUEIRAS, L. M. B.; SILVA, Á. R. F. da; OLIVEIRA, I. M. de; BRITO, M. E. B. Parâmetros fisiológicos e componentes de produção de feijão-caupi cultivado sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p. 189-197, 2015.

DUTRA, W. F.; MELO, A. S. de; SUASSUNA, J. F.; MAIA, J. M.; DUTRA, A. F.; SILVA, D. C. Antioxidative responses of cowpea cultivars to water deficit and salicylic acid treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 895-905, 2017.

EPRINTSEV, A. T.; FEDORIN, D. N.; DOBYCHINA, M. A.; IGAMBERDIEV, A. U. Regulation of expression of the mitochondrial and peroxisomal forms of citrate synthase in maize during germination and in response to light. **Plant Science**, v. 272, n. 7, p. 157-163, 2018.

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura - FAOSTAT (2020) Culturas. Feijão-frade, seco. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acessado em: setembro. 2022.

FERRAZ, R. L. S.; BELTRÃO, N. E. M.; MELO, A. S. de; MAGALHÃES, I. D.; FERNANDES, P.; ROCHA, M. S. Trocas gasosas e eficiência de cultivares de algodoeiro herbáceo sob aplicação de silício foliar. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 735-748, 2014.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, D. T. R. G. SILVA, V. M.; SILVA, I. C.; ARAUJO NETO, J. C.; SOUZA, R. C.; FERREIRA, V. M. Germinação de três Euphorbiaceae influenciada pela luz e níveis de palhada. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, n. 3, p. 215-222, 2017.

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

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

IQBAL, H.; YANING, C.; WAQAS, M.; REHMAN, H.; SHAREEF, M.; IQBAL, S. Hydrogen peroxide application improves quinoa performance by affecting physiological and biochemical mechanisms under water-deficit conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 204, n. 6, p. 541-553, 2018.

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

LACERDA, V. R.; ACEVEDO, A. F. G.; MARQUES, I. C. S.; DELLABIGLIA, W. J.; FERRAZ, A. K. L.; BASÍLIO, L. S. P.; BROETTO, F. Silicon as a mitigator of deficit stress in radish crop. **Scientia Horticulturae**, v. 291, p. e110600, 2022.

LEI, C.; BAGAVATHIANNAN, M.; WANG, H.; SHARPE, S. M.; MENG, W.; YU, J. Osmopriming with polyethylene glycol (PEG) for abiotic stress tolerance in germinating crop seeds: a review. **Agronomy**, v. 11, n. 11, p. e2194, 2021.

LI, G.; WU, X.; HU, Y.; MUÑOZ-AMATRIAÍN, M.; LUO, J.; ZHOU, W.; WANG, B.; WANG, Y.; WU, X.; HUANG, L.; LU, Z.; XU, P. Orphan genes are involved in drought adaptations and ecoclimatic-oriented selections in domesticated cowpea. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 12, p. 3101-3110, 2019.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates, 2015.

MARTHANDAN, V.; GEETHA, R.; KUMUTHA, K.; RENGANATHAN, V. G.; KARTHIKEYAN, A.; RAMALINGAM, J. Seed priming: a feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, p. 8258, 2020.

MELO, A. S. de; MELO, Y. L.; LACERDA, C. F. de; VIÉGAS, P. R. A.; FERRAZ, R. L. S.; GHEYI, H. R. Water restriction in cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]: Metabolic changes and tolerance induction. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 26, n. 3, p. 190-197, 2022a.

MELO, A. S. de; FERRAZ, R. L. S.; DIAS, G. F.; MELO, Y. L.; COSTA, D. T.; ALENCAR, R. S.; ALMEIDA NETO, V. E.; ARAUJO, Y. M. L.; SÁ, F. V. S.; LACERDA, C. F. Tecnologia seed priming com silício e luz para induzir osmoproteção em feijão-caupi sob déficit hídrico. **Agronomia: a relevância das etapas do agronegócio**, n. 1, p. 27-45, 2022b.

MELO, A. S. de; SILVA, A. R. F. da; DUTRA, A. F.; DUTRA, W. F.; BRITO, M. E. B.; SÁ, F. V. da S. Photosynthetic efficiency and production of cowpea cultivars under deficit irrigation. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, n. 5, p. e2133, 2018.

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.

NUNES-JUNIOR, F. H.; GONDIM, F. A.; FREITAS, V. S.; BRAGA, B. B.; BRITO, P. O. B.; MARTINS, K. Crescimento foliar e atividades das enzimas antioxidantes em plântulas de girassol suplementadas com percolado de aterro sanitário e submetidas a estres hídrico. **Revista Ambiente & Água**, v. 12, n. 1, p. 71-86, 2017.

PARVEEN, A.; LIU, W.; HUSSAIN, S.; ASGHAR, J.; PERVEEN, S.; XIONG, Y. Silicon priming regulates morpho-physiological growth and oxidative metabolism in maize under drought stress. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 431, 2019.

RAJ, A. B.; RAJ, S. K. Seed priming: An approach towards agricultural sustainability. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 11, n. 1, p. 227-234, 2019.

SALEMI, F.; ESFAHANI, M. N.; TRAN, L. S. P. Mechanistic insights into enhanced tolerance of early growth of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under low water potential by seed-priming with ascorbic acid or polyethylene glycol solution. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 436-445, 2019.

SALLEH, M. S.; NORDIN, M. S.; PUTEH, A. B.; SHAHARI, R.; ZAINUDDIN, Z.; ABGHAFAR, M. B.; SHAMSUDIN, N. A. A. Response of primed rice (*Oryza sativa* L.) seeds towards reproductive stage drought stress. **Sains Malaysiana**, v. 50, n. 10, p. 2913-2921, 2021.

SANO, N., SEO, M. Cell cycle inhibitors improve seed storability after priming treatments. **Journal of Plant Research**, v. 132, n. 2, p. 263-271, 2019.

SATTAR, A.; CHEEMA, M. A.; ABBAS, T.; SHER, A.; IJAZ, M.; WAHID, M. A.; HUSSAIN, M. Physiological response of late sown wheat to exogenous silicon application. **Cereal Research Communication**, v. 45, n. 2, p. 202-213, 2017.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Sap pressure in vascular plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3 p. 591-611, 1965.

SILVA, A. E.; FERRAZ, R. L. S.; SILVA, J. P.; COSTA, P. S.; VIÉGAS, P. R. A.; BRITO NETO, J. F.; MELO, A. S de.; MEIRA, K. S.; SOARES, C. S.; MAGALHÃES, I. D.; MEDEIROS, A. S. Microclimate changes, photomorphogenesis and water consumption of *Moringa oleifera* cuttings under different light spectrums and exogenous phytohormone concentrations. **Australian Journal Crop Science**, v. 14, n. 5, p. 751-760, 2020.

SILVA, D. C. da; MELO, A. S. de; MELO, Y. L.; ANDRADE, W. L. de; LIMA, L. M. de; SANTOS, A. R. Silicon foliar application attenuates the effects of water suppression on cowpea cultivars. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 43, n. 1, p. e023019, 2019.

TABASSUM, T.; AHMAD, R.; FAROOQ, M.; BASRA, S.M.A. Improving salt tolerance in barley by osmopriming and biopriming. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 20, n. 11, p. 2455–2464, 2018.

TOUNEKTI, T.; MAHDHI, M.; AL-FAIFI, Z.; KHEMIRA, H. Priming improves germination and seed reserve utilization, growth, antioxidant responses and membrane stability at early seedling stage of saudi sorghum varieties under drought

stress. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 48, n. 2, p. 938–953, 2020.

UDDIN, S.; ULLAH, S.; NAFEES, M. Effect of seed priming on growth and performance of *Vigna radiata* L. under induced drought stress. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, p. e100140, 2021.

VARELA, A. L. N.; OLIVEIRA, J. T. A.; KOMATSU, S.; SILVA, R. G. G.; MARTINS, T. F.; SOUZA, P. F. N.; LOBO, A. K. M.; VASCONCELOS, I. M.; CARVALHO, F. E. L.; SILVEIRA, J. A. G. A resistant cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) genotype became susceptible to cowpea severe mosaic virus (CPSMV) after exposure to salt stress. **Journal Proteomics**, v. 194, p. 200-217, 2019.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que me concedeu saúde, sabedoria e coragem para enfrentar todas as dificuldades;

A minha mãe Rosania Maria e meus irmãos Heloisa, Otávio, Thayná e Pedro pelo amor, carinho, confiança e apoio, amo vocês;

Ao meu orientador Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, por todos os ensinamentos, dedicação, confiança, e por ser, além de tudo, um grande amigo;

Ao professor Dr. Yuri Melo, por todo o apoio e ensinamentos nas atividades de pesquisa;

Aos professores Dr. Rener Luciano de Souza Ferraz e Dra. Patrícia da Silva Costa pela disponibilidade, contribuição e troca de conhecimentos durante as atividades de pesquisa;

A minha tia Ivanilda e seu esposo Diniz, a minha prima Tânia, Eliana, aos meus padrinhos Tatyanna e Roberto, e a minhas amigas Micaely, Andressa, Girlany, Raquel, a minha afilhada Olivia por todos conselhos, apoio e colaboração durante a minha graduação;

Aos meus amigos do Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB), Guilherme, Deibson, Priscylla, Yngrid, Igor, Ibrahim, Lucyelly, Vitor, Venâncio e Paulina, por toda ajuda e companheirismo durante as atividades;

Ao meu grupinho que a graduação me deu Erika, que foi e será sempre minha duplinha, a Eli e a Plínio por todo apoio e companheirismo;

Em especial a Rani (e Tia Iris), que desde o início a sintonia bateu, e se tornou uma irmã, obrigada por todo apoio, puxão de orelha, companheirismo, carinho, e tornar meus dias mais felizes;

A Nick, que chegou na minha vida quase no fim desse ciclo, mas que se tornou especial, quero agradecer por todo carinho, apoio, companheirismo, dedicação, por me trazer calma;

A todos os professores de Ciências Biológicas que fizeram parte da minha formação, pelo tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio que foi fundamental para a realização da pesquisa e durante todo o período de estudos;

À Universidade Estadual da Paraíba, e a todos que a constitui, pela disponibilização da infraestrutura e apoio necessário durante a graduação;

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.