



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

LOUISE FERNANDES DE OLIVEIRA

**SILÍCIO E PROLINA AGEM COMO ATENUADORES DO DEFICIT HÍDRICO
EM FEIJÃO-CAUPI**

**CAMPINA GRANDE -PB
MAIO DE 2019**

LOUISE FERNANDES DE OLIVEIRA

**SILÍCIO E PROLINA AGEM COMO ATENUADORES DO DEFICIT HÍDRICO
EM FEIJÃO-CAUPI**

Trabalho de Conclusão de Curso de natureza “Artigo”, apresentado ao Departamento do Curso de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de licenciatura plena em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo.

**CAMPINA GRANDE -PB
MAIO DE 2019**

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.

O48s Oliveira, Louise Fernandes de.
Silício e prolina agem como atenuadores do déficit hídrico em feijão-caupi [manuscrito] / Louise Fernandes de Oliveira. - 2019.
34 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Departamento de Biologia - CCBS."
1. Silício. 2. Prolina. 3. Déficit hídrico. 4. Feijão-caupi. 5. Osmorregulação. I. Título
21. ed. CDD 635.652

LOUISE FERNANDES DE OLIVEIRA

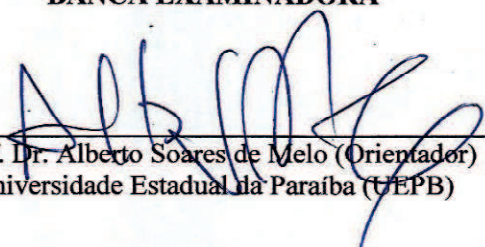
SILÍCIO E PROLINA AGEM COMO ATENUADORES DO DEFICIT HÍDRICO EM
FEIJÃO-CAUPI

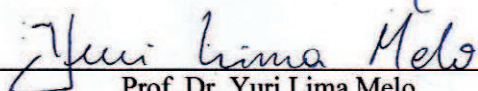
Trabalho de Conclusão de Curso de natureza "Artigo" apresentado ao Departamento do Curso de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de licenciatura plena em Ciências Biológicas.

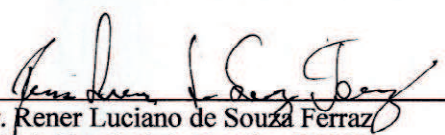
Área de concentração: Ciências Biológicas.

Aprovada em: 28/05/2019

BANCA EXAMINADORA


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


Prof. Dr. Yuri Lima Melo
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)
Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias


Prof. Dr. Rener Luciano de Souza Ferraz
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A Deus o Grande Criador, seu fôlego de vida em mim me foi sustento e me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades, DEDICO.

“ O mundo não está nos seus livros e mapas, está lá fora.”

(O hobbit – Uma jornada inesperada)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Cultivar ‘BRS’ Guariba – utilizada na pesquisa: (A) BRS Guariba, (B) Planta em estádio V3. Campina Grande, PB, 2018..... 14
- Figura 2 – Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo dos vasos em delineamento inteiramente casualizados. Campina Grande, PB, 2018..... 15
- Figura 3 - Medidor para análise de área foliar e massa seca: (A) Medidor de área foliar modelo Li-Cor 3100. (B) Estufa para secagem do material para posterior obtenção da massa seca. Campina Grande, PB, 2019..... 17
- Figura 4 - Etapas de análises para determinação bioquímica: (A) Centrifugação do extrato vegetal. (B) Aspiração do sobrenadante. Campina Grande, PB, 2019..... 18
- Figura 5 - Coloração específica para quantificação da prolina. Campina Grande, PB, 2019 19
- Gráfico 1 - Área foliar total (AFT) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100 - 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB,2019..... 21
- Gráfico 2 - Massa seca total da parte aérea (MST) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB, 2019..... 22
- Gráfico 3 - Conteúdo relativo de água (CRA) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL).Campina Grande, PB, 2019..... 23
- Gráfico 4 - Teor de Prolina livre (PRO) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB,2019..... 25
- Gráfico 5 - Atividade da Ascorbato peroxidase (APX) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou

Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL).
Campina Grande, PB, 2019..... 26

Gráfico 6 - Atividade da catalase (CAT) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB,2019..... 28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 METODOLOGIA	11
2.1 Localização, delineamento e fatores estudados	11
2.2 Instalação e condução do experimento	12
2.3 Variáveis Estudadas	14
2.3.1 Variáveis de crescimento	14
2.3.2 Variável Fisiológicas	15
2.3.3 Variáveis Bioquímicas	15
2.4 Análises Estatísticas	18
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
3.1 Indicadores de crescimento	18
3.1.1 Conteúdo Relativo de Água (CRA)	20
3.4 Teor de Prolina Livre	21
3.5 Ascorbato Peroxidase (APX)	23
3.6 Atividade de Catalase (CAT)	25
4 CONCLUSÃO	26
AGRADECIMENTOS	35

SILÍCIO E PROLINA AGEM COMO ATENUADORES DO DEFICIT HÍDRICO EM FEIJÃO-CAUPI

SILICON AND PROLINE ACT AS ATTENUATORS DEFICIT IN WATER COWPEA

Louise Fernandes de Oliveira*

RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma das culturas alimentares mais importantes do Semiárido brasileiro por possuir alto valor nutritivo. Contudo, na região Nordeste, a escassez de água torna-se um dos fatores que reduz a produtividade dessa cultura com consequências para o seu desenvolvimento e produtividade. O objetivo do presente estudo foi avaliar o silício e a prolina como atenuantes do déficit hídrico em feijão-caupi, cultivar BRS Guariba, submetido à irrigação deficitária por sete dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2, onde o tratamento controle correspondeu à aplicação de água sem adição de prolina e/ou silício, o tratamento com prolina correspondeu à concentração de 0,69 g L⁻¹, o tratamento com silício correspondeu à concentração 0,15 g L⁻¹ e o tratamento com prolina e silício correspondeu à combinação das concentrações 0,69 g L⁻¹ + 0,15 g L⁻¹ de prolina e silício, respectivamente, aplicados em plantas submetidas ao déficit hídrico e não submetidas ao déficit hídrico, com quatro repetições e a parcela experimental constituída de duas plantas úteis. Foram analisadas variáveis fisiológicas do *status* hídrico: conteúdo relativo de água; indicadores de crescimento: área foliar total, massa seca total da parte aérea; variáveis bioquímicas: atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase e o conteúdo de prolina livre como indicador de ajustamento osmótico. Em variáveis como conteúdo relativo de água, área foliar total e massa seca total da parte aérea, a aplicação do atenuador silício, de forma isolada, reduziu os efeitos do déficit hídrico no feijão-caupi BRS Guariba. Sob deficiência hídrica, houve maior produção de prolina endógena nos vegetais em que foram aplicados os atenuadores silício e prolina, sugerindo que estes atenuadores atuaram na produção desta molécula para defesa contra o estresse, permitindo ajustamento osmótico. Ainda sob estresse, os atenuadores silício e prolina, utilizados de forma isolada, promoveram maior atividade das enzimas Ascorbato pexoridase e Catalase, proporcionando ao vegetal maior tolerância ao período de déficit hídrico.

Palavras-chave: Osmorregulação. Restrição hídrica. *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

ABSTRACT

The cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) is one of the most important food crops of the Brazilian Semi-arid because it has high nutritional value. However, in the Northeast region, scarcity of water becomes one of the factors that reduces the productivity of this crop with consequences for its development and productivity. The objective of the present study was to evaluate silicon and proline as attenuators of water deficit in cowpea, cultivar BRS Guariba, submitted to irrigation deficit for seven days. The

* Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I. E-mail: lohfoliveira@gmail.com

experimental design was completely randomized, in a 4x2 factorial scheme, where the control treatment corresponded to the application of water without addition of proline and / or silicon, the treatment with proline corresponded to the concentration of 0.69 g L⁻¹, treatment with silicon the proline and silicon treatment corresponded to the combination of the concentrations 0.69 g L⁻¹ + 0.15 g L⁻¹ of proline and silicon, respectively, applied in plants submitted to the deficit hydric and not submitted to the water deficit, with four replications and the experimental plot consisting of two useful plants. Physiological variables of water status were analyzed: relative water content; growth indicators: total leaf area, total dry mass of shoot; biochemical variables: activity of catalase enzymes and ascorbate peroxidase and the free proline content as an indicator of osmotic adjustment. In variables such as relative water content, total leaf area and total dry mass of the aerial part, the application of the silicon attenuator, in an isolated way, reduced the effects of the water deficit on BRS Guariba cowpea. Under water deficiency, there was greater production of endogenous proline in the plants in which the attenuators silicon and proline were applied, suggesting that these attenuators acted in the production of this molecule for defense against stress, allowing osmotic adjustment. Still under stress, the silicon and proline attenuators, used in isolation, promoted greater activity of the enzymes Ascorbate peroxidase and Catalase, giving the vegetable greater tolerance to the period of water deficit.

Keywords: Osmoregulation. Water restriction. *Vigna unguiculata* (L.) Walp

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), constitui uma das mais relevantes leguminosas produzidas em regiões tropicais e subtropicais do mundo, especialmente nos países em desenvolvimento da África, América Latina e Ásia, correspondendo à principal fonte de proteínas, calorias, fibras alimentares, minerais e vitaminas para grande parte da população mundial (CARVALHO et al., 2012).

No Brasil, encontram-se plantadas grandes áreas com a cultura do feijão-caupi, especialmente nas regiões Norte e Nordeste, sendo cultivada por pequenos e médios produtores, desempenhando função de destaque socioeconômico na agricultura familiar (SOUZA et al., 2011). O cultivo do feijoeiro é uma das principais fontes de renda e emprego para a Região, sendo popularmente conhecido por feijão macassar, feijão-de-corda, feijão-de-praia, feijão-fraldinha ou feijão-miúdo (FREIRE FILHO et al., 2005; FROTA et al., 2008). Todavia, em razão do baixo nível tecnológico utilizado nos sistemas de cultivo no Brasil, a produtividade desta leguminosa ainda é considerada baixa, abrangendo uma área com cerca de 1.451.578 ha (LEITE, 2018), o que segundo Silva (2016) deve-se às reduções no crescimento, bem como no desenvolvimento do vegetal em situação de deficiência hídrica.

A deficiência hídrica ocorre em grandes áreas cultiváveis do mundo, principalmente no que tange às regiões áridas e semiáridas do Nordeste brasileiro, ocasionando, a exposição vegetal a períodos sazonais de carência hídrica (SOUZA et al., 2004; GIROTTO et al., 2012). Segundo Freire Filho et al. (2011), o feijão-caupi é uma cultura que se destaca por possuir adaptação a diversos ambientes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Na região Nordeste, o aumento da escassez hídrica afeta o desempenho e desenvolvimento desta cultura, causando alterações nas propriedades das membranas, aumento da respiração, inibição da fotossíntese, menor produção de matéria seca, senescência prematura e, conseqüentemente, redução da produção (DUTRA et al., 2017; TAIZ et al., 2017).

No cultivo do semiárido, verifica-se limitação da produtividade do feijão-caupi devido aos estresses abióticos, que afetam sua produtividade, sendo o déficit hídrico um dos fatores mais limitantes, podendo causar modificações morfofisiológicas e bioquímicas, como reduções da área foliar, matéria seca total, fotossíntese, condutância estomática, transpiração, potencial hídrico foliar e crescimento radicular, refletindo no metabolismo e na produtividade final do vegetal (FREITAS et al., 2017; TAIZ et al., 2017).

A diminuição da taxa pluviométrica do semiárido, por consequência, reduz a produtividade das plantas, ocasionando a deficiência hídrica em algum de seus estádios de desenvolvimento, entretanto, as plantas possuem mecanismos de defesa os quais são adaptativos às condições de estresse, resultando em alterações morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares, as quais podem variar de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento, o tipo de estresse e a intensidade do mesmo (NOGUEIRA et al., 2005; LISAR et al., 2012).

Vale salientar que, além da restrição na aquisição de nutrientes, o déficit hídrico provoca o estresse oxidativo, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (GIL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Contudo, as plantas possuem sistemas enzimáticos antioxidantes e não-antioxidantes que formam uma importante defesa primária para eliminar o excesso na produção das EROs, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) e a osmoproteção e osmorregulação por solutos compatíveis como a prolina que também atua como removedor de radicais livres (LISAR et al., 2012).

Ressalta-se na literatura o uso de atenuadores de estresses abióticos como o silício (FERRAZ et al., 2014) e a prolina (MERWAD et al., 2018) no intuito de melhorar e atenuar as condições fisiológicas e bioquímicas das plantas em condições de estresse e desequilíbrios ambientais que limitam e afetam a produtividade agrícola (DEUNER, et al., 2011; DUTRA, 2015).

O silício (Si) é um elemento químico encontrado nos tecidos das plantas e que possui efeito benéfico aos vegetais, contribuindo com o aumento na produtividade de diversas culturas, reduzindo o excesso de metais potencialmente fitotóxicos, promovendo maior tolerância às situações de estresse, sejam hídricos ou salinos (RODRIGUES et al., 2011; FERRAZ et al., 2015), melhorando a eficiência do uso da água e mitigando o efeito do estresse oxidativo (ZANETTI et al., 2016).

A aplicação dessa substância vem sendo estudada, especialmente, na indução de tolerância ao déficit hídrico em várias espécies: girassol (ALI et al., 2013), algodão (FERRAZ et al., 2014), milho (SOUZA et al., 2010) e soja (TEODORO et al., 2015). Ainda assim, pesquisas acerca da aplicação de silício em feijão-caupi cultivado sob restrição hídrica, são escassas.

A prolina exógena pode ser utilizada no vegetal para auxiliar no processo de mitigação do estresse hídrico (MEWARD et al., 2018), esta, é um aminoácido fundamental que atua na manutenção da integridade das membranas celulares contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (ASHRAF et al., 2011) e seu aumento contribui para manutenção e preservação das proteínas e enzimas, pois aumenta a pressão osmótica no interior celular, mantendo a absorção de água e a continuidade dos processos fisiológicos, além de estimular o crescimento das raízes e proteger estruturas celulares (GONZALES et al., 2010; MENDES et al., 2013).

Considerando a relevância socioeconômica dessa cultura para a população da região Nordeste do Brasil, onde é frequente a limitação hídrica, faz-se necessário estudar e investir em pesquisas que promovam a criação de genótipos promissores com maior tolerância ao déficit hídrico (DUTRA et al., 2015) com a finalidade de potencializar a produtividade dessa cultura.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a aplicação do silício e prolina exógena em feijão-caupi cultivar BRS Guariba sob irrigação deficitária durante sete dias na fase V5.

2 METODOLOGIA

2.1 Localização, delineamento e fatores estudados

O presente trabalho foi executado em área Experimental da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), no Horto Florestal Lauro Pires Xavier, e no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB) da UEPB, situado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias, ambos localizados na cidade de Campina Grande – PB, Brasil (07° 13' 50" de latitude, 35° 52' 52" de longitude e 551 m de altitude).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), onde foram estudados dois fatores: reposição hídrica (RH) e a aplicação de dois atenuadores isolados e combinados (Prolina - Pro e/ou Silício- Si), além de um controle (CTRL). Para tanto, a combinação dos níveis dos dois fatores (4 ATE x 2 RH) resultou em 8 tratamentos, com quatro repetições, cuja parcela experimental foi constituída de 2 plantas úteis.

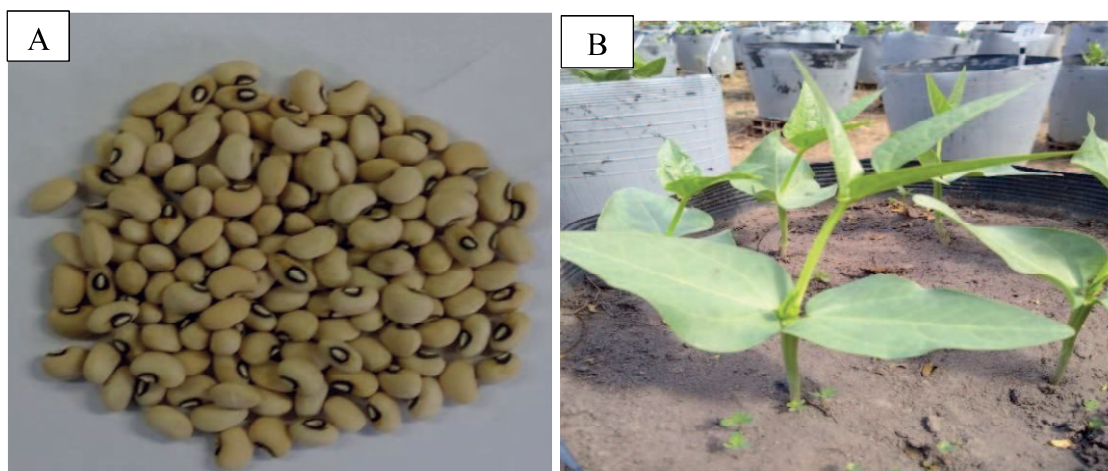
O atenuador silício, aplicado via foliar, foi composto por dois níveis de concentração (zero e $0,15 \text{ g L}^{-1}$), ajustados de Ferraz et al. (2014) na forma de silicato de potássio (K_2SiO_3), cuja fonte utilizada foi o silício líquido comercial da marca Sifol®, com as seguintes características: Silício (Si) = 12%; Potássio (KO) = 15%; índice salino = 26; condutividade elétrica = $1,93 \text{ dS m}^{-1}$; densidade = $1,40 \text{ g L}^{-1}$; pH = 10,96; natureza física = líquido.

O atenuador prolina, foi composto por dois níveis de concentração (zero e $0,69 \text{ g L}^{-1}$), de acordo com Meward et al. (2018), com aplicação foliar. Já, a combinação de Pro+Si, foi aplicada com duas doses: Pro $0,69 \text{ g L}^{-1}$ + Si $0,15 \text{ g L}^{-1}$.

No fator 'RH', os tratamentos foram divididos em plantas submetidas ao déficit hídrico (W50) e não submetidas ao déficit hídrico (W100). Nesse fator, as parcelas, em condições de déficit hídrico, permaneceram a 50% da taxa da evapotranspiração. Já as parcelas sem restrição hídrica foram irrigadas para manter o solo próximo à capacidade de campo (100% da taxa de evapotranspiração) (DUTRA et al., 2015). Ressalta-se que a irrigação foi efetuada diariamente, tendo base na taxa de evapotranspiração.

A cultivar escolhida foi a BRS Guariba (Figura 1), com porte semiereto, crescimento indeterminado e ciclo fenológico entre 65-70 dias, segundo Silva (2018), sendo então adquirida no Banco de Germoplasma da Embrapa Meio Norte e posteriormente acondicionada em embalagens impermeáveis no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas, na Universidade Estadual da Paraíba, até a instalação do experimento.

Figura 1 – Cultivar BRS Guariba utilizado na pesquisa. Campina Grande, PB, 2018.



Legenda: BRS Guariba (A). Planta em estágio v3 (B).

Fonte: Santos (2018).

2.2 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido em vasos com capacidade de 25 litros, sob condições de campo, de setembro a dezembro de 2018, sendo distribuídos em quatro linhas, com 8 vasos cada, somando 32 parcelas experimentais, com um espaçamento de 1 m entre linhas e 0,8 m entre os vasos (Figura 2).

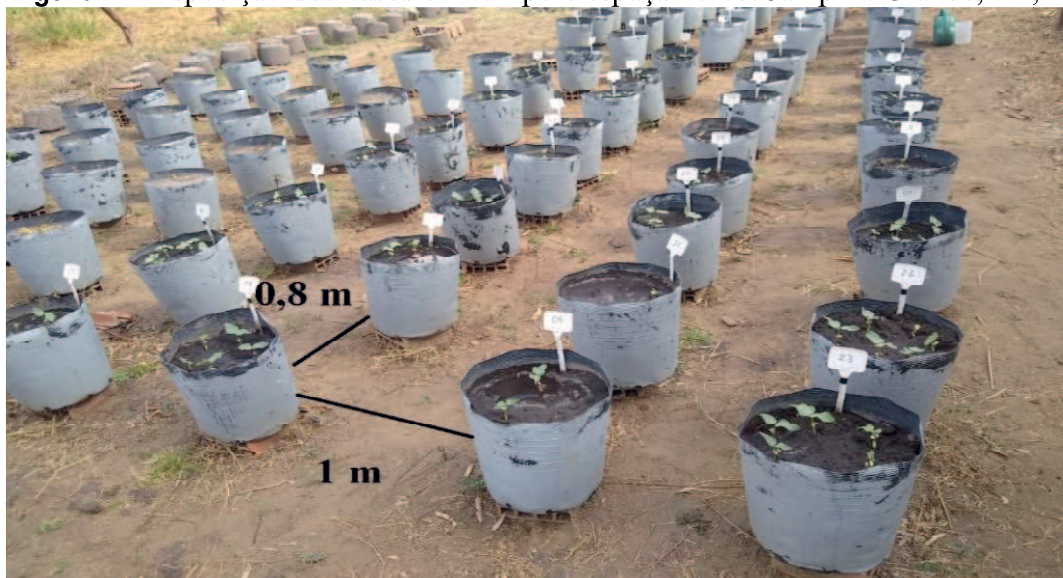
As sementes de feijão-caupi utilizadas no experimento, foram triadas, eliminando assim os exemplares que possuíam danos físicos, biológicos e/ou má formação. Posterior à triagem, as sementes foram pesadas e transferidas para o rolo giratório, juntamente com fungicida (Captan® pó molhável) na concentração de $0,22 \text{ g}$

100 g⁻¹ de sementes, permanecendo sob rotação por cinco minutos. Logo após, as sementes ficaram em repouso por 24 horas em temperatura ambiente, em baixa luminosidade, logo após as 24h, as sementes foram semeadas.

Para a instalação do experimento, o solo foi previamente analisado (Tabela 1), posteriormente corrigido e adubado conforme resultado de análise.

A correção da salinidade foi efetuada utilizando sulfato de cálcio. Após 30 dias, realizou-se a semeadura, adotando-se seis sementes por unidade experimental a uma profundidade padrão de 0,03 m da superfície do solo. No quinto dia após emergência foram desbastadas quatro plântulas, deixando-se duas plântulas em cada vaso.

Figura 2- Disposição dos vasos em campo e espaçamento. Campina Grande, PB, 2018.



Fonte: Santos (2018).

As aplicações foliares da prolina e do silicato de potássio, de forma isolada e conjunta, foram realizadas na fase V₅ (terceiro trifólio aberto antes da floração). Após sete dias das aplicações foram realizadas coletas de todo o material utilizado para as avaliações.

Diariamente a reposição hídrica foi realizada tendo como base a demanda evaporativa do ar. O cálculo foi efetuado a partir da área do vaso, estágio fenológico e evaporação diária fornecida por atmômetro, modelo JR-120 da Soilcontrol.

Tabela 1- Características físico-químicas do solo para preenchimento dos vasos. Campina Grande, PB, 2018

Características físicas		Características químicas	
Granulometria (%)		Cálcio (cmol _c dm ⁻³)	1,42
Areia	86,63	Magnésio (cmol _c dm ⁻³)	1,50
Silte	9,04	Sódio (cmol _c dm ⁻³)	0,84
Argila	4,33	Potássio (cmol _c dm ⁻³)	0,21
Classificação textural	Areia franca	S (cmol _c dm ⁻³)	3,97
Densidade do solo(g/cm ³)	1,44	Hidrogênio (cmol _c dm ⁻³)	0,64
Densidade de partículas (g/cm ³)	2,72	Alumínio (cmol _c dm ⁻³)	0,00
	47,06	T(cmol _c dm ⁻³)	4,61
Porosidade	40%	Carbonato de Cálcio Qualitativo	Ausência
Umidade		Carbono orgânico (%)	0,51
		Matéria orgânica (%)	0,88
		Nitrogênio	0,05
		Fósforo Assimilável mg/100g	1,35
		pH H ₂ O (1:2, 5)	6,11
		Cond.elétrica–nmhos/cm (Suspensão Solo-Água)	1,41
		Salinidade	Fortemente

Fonte: Laboratório de Irrigação e Salinidade da UFCG.

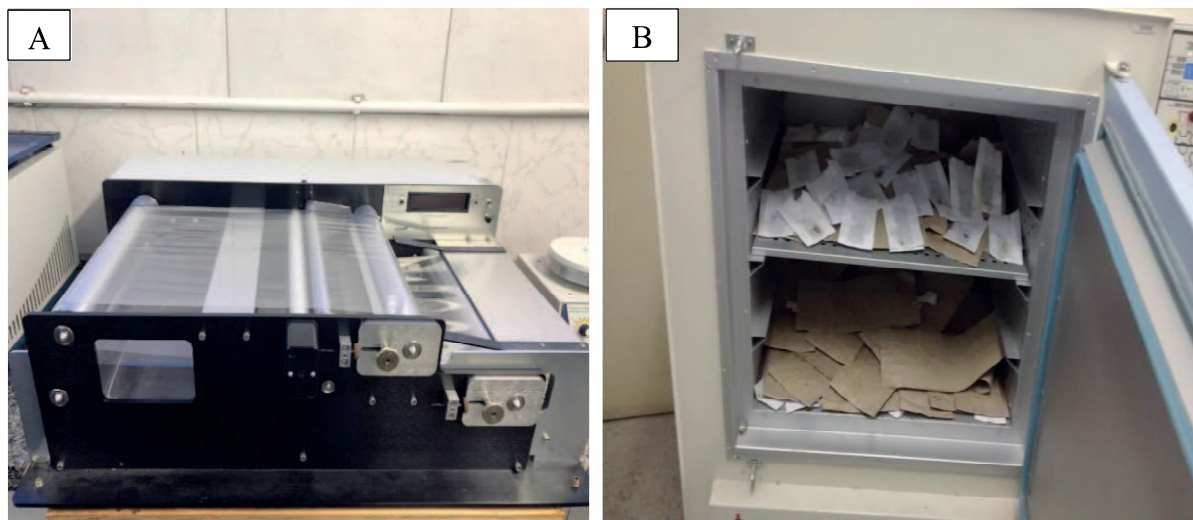
2.3 Variáveis Estudadas

2.3.1 Variáveis de crescimento

No estágio V₅, avaliou-se a área foliar total (AFT) e massa seca total da parte aérea (MST). A área foliar total (cm²) de cada planta foi estimada, utilizando-se medidor de área foliar modelo Li-Cor 3100 (Li-Cor Corporation, USA) (Figura 3A).

Em relação à massa seca, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas em estufa com circulação de ar a 70 °C por um período de 48 horas para secagem (Figura 3B). Em seguida, o material vegetal foi pesado em balança analítica.

Figura 3 – Medidor para análise de área foliar e estufa para secagem do material para posterior obtenção da massa seca. Campina Grande, PB, 2019.



Legenda: Medidor de Área Foliar modelo Li-Cor 3100 (A). Massa seca em estufa (B)
Fonte: Santos (2019).

2.3.2 Variável Fisiológicas

Para a análise do conteúdo relativo de água (CRA %), no estágio V5, as folhas foram coletadas, depois pesadas em balança analítica para verificação da massa fresca das folhas (MF). Em seguida, foram imersas em água destilada por 24 horas para pesagem da massa túrgida da folha (MT). Posteriormente, esse material foi levado à estufa com circulação de ar a 80°C por período de 24 horas para aferição da massa seca da folha (MS). A partir destes dados, o CRA (%) foi calculado por meio da equação:

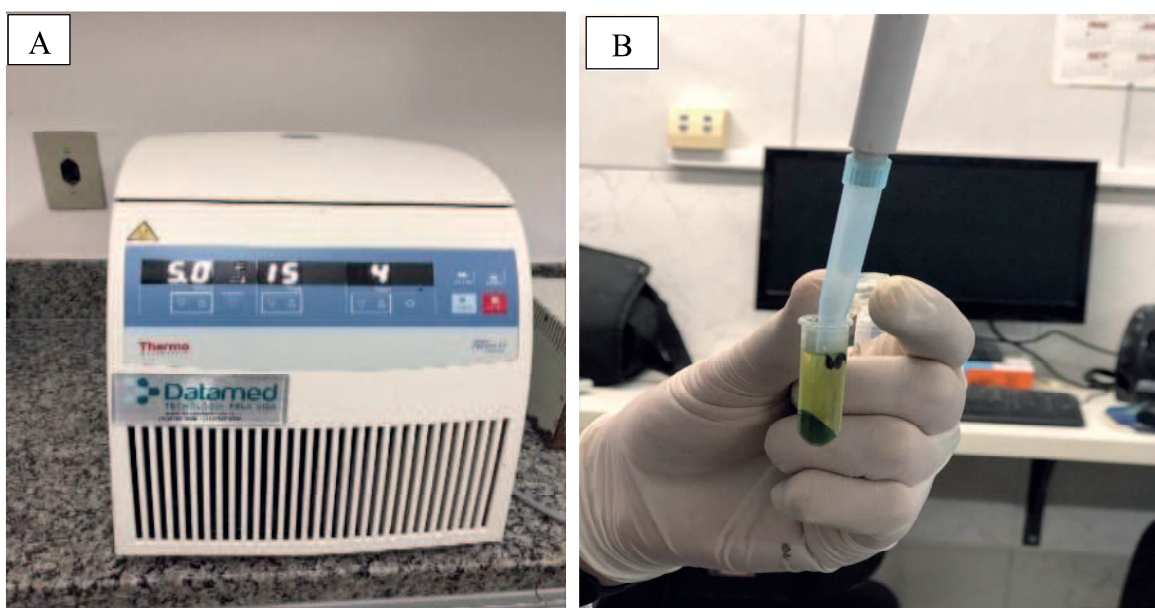
$$\text{CRA (\%)} = \frac{(MF-MS)}{(MT-MS)} \times 100 \text{ (IRIGOYEN et al, 1992).}$$

2.3.3 Variáveis Bioquímicas

Para as determinações bioquímicas serem realizadas, foi utilizada a planta em estágio V5. Posteriormente, para obtenção do extrato vegetal para extração enzimática, foram pesados e macerados 200 mg de tecido foliar fresco (o folíolo central da primeira trifoliar de cada tratamento), em 2 mL de tampão fosfato de potássio (concentração final de 50 mM e pH final 7), acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (3%), segundo dados de Nakano e Asada (1981).

Em seguida, os extratos foram submetidos a centrifugação a 14.000 rpm, 4 °C, durante 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado e alocados em microtúbulos de 2,5 mL e mantidos em freezer a -20 °C, até o momento das análises (Figura 4).

Figura 4 – Etapas de análises para determinações bioquímicas.



Legenda: Centrifugação do extrato vegetal (A). Aspiração do sobrenadante (B).

Fonte: Oliveira (2019)

Para a mensuração da atividade de ascorbato peroxidase (APX), o consumo do ascorbato foi detectado por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância a 290 nm em cubeta de quartzo (NAKANO; ASADA, 1981). Foram utilizados 100 μL do extrato enzimático ao meio de reação, contendo 2,7 mL de tampão fosfato de potássio (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 H_2O_2 (2 mM), monitorando assim, o decréscimo da absorbância durante 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10 segundos. Os cálculos foram determinados pela lei de Lambert Beer, adaptados por AHMED et al. (2016), conforme equação abaixo:

Equação 1 - $\text{Act.} = (\Delta\text{A} \cdot \text{Vt}) / (\epsilon \cdot \Delta\text{t} \cdot \text{Ve} \cdot \text{p})$ onde,

Act: Atividade enzimática expressa em $\text{nmol} / \text{min} / \text{mg}$ de massa fresca;

ϵ : coeficiente de extinção molar de M linear;

Δ : Diferença na absorbância média;

Vt: volume total da mistura reacional em ml;

Ve: Volume de extrato de enzima em ml;

L: largura da cubeta de medição em cm; (1 cm, valor utilizado na pesquisa)

P: teor de massa fresca em mg;

Δt : Tempo de leitura em min.

Os cálculos foram realizados possuindo como coeficiente de extinção molar o do ascorbato ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A atividade final da APX foi expressa em nmol de ascorbato $\text{min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de MF. Vale salientar que, todas as determinações bioquímicas foram realizadas em duplicata.

A atividade de catalase (CAT) foi medida conforme Sudhakar et al. (2001), onde é definida com base no consumo do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima

presente no extrato. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático (150 μL) a cubeta de quartzo, contendo 1950 μL de tampão fosfato de potássio (100 mM e pH 7,5), 150 μL do tampão de extração (ácido ascórbico 0,1 mM, EDTA 0,1 mM e polivinilpirrolidona a 3%) e 750 μL da solução de peróxido de hidrogênio H_2O_2 (50 mM), segundo Mishra (1976). Após leve agitação, a solução foi levada ao espectrofotômetro, regulado em 240 nm, e verificado o decréscimo da absorbância no decurso de dois minutos, sendo as leituras realizadas a cada dez segundos.

Os cálculos foram efetuados segundo a equação de Lambert Beer e adaptados de Ahmed et al. (2016) (Equação 1), tendo como coeficiente de extinção molar o do peróxido de hidrogênio ($39,4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A atividade da catalase foi expressa em μmol de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

A quantificação de prolina livre foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011). Para tanto, foram pesados e macerados 0,25 g de tecido foliar fresco (estádio V_5) em ácido sulfossalicílico a 3% (5mL) e centrifugados a 2000 rpm por dez minutos, o sobrenadante foi aspirado e utilizado nas determinações.

O desenvolvimento da cor (Figura 5) foi obtido por meio do aquecimento, em banho-maria regulado a 100 °C durante 1 hora, dos tubos de ensaio contendo a mistura: extrato, ninhidrina ácida e ácido acético glacial, na proporção 1:1:1, com volume total de 3 mL. Após o período determinado, o tubos de ensaio foram resfriados em banho de gelo, e adicionado em seguida 2 mL de tolueno, sendo posteriormente agitados no vortex por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos para que ocorre a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado, alocado em cubeta de vidro e transferido para o espectrofotômetro onde foi obtida a leitura da absorbância no comprimento de onda de 520 nm, utilizando o tolueno puro como o branco.

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 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF. Para o cálculo da prolina foi utilizada a média da absorbância obtida nas duplicatas.

Figura 5-Coloração específica para quantificação da prolina. Campina Grande,PB, 2019.



Fonte: Oliveira (2019).

2.4 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram avaliados por análise de variância (teste F até 5% de probabilidade), seguida de teste de comparação de médias (Tukey, $P < 0,05$) para os níveis de silício, prolina e prolina + silício. O teste de pares independentes (t de Student, $P < 0,05$) foi utilizado para o fator deficit hídrico, utilizando o *software* SIVAR 5.6.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Indicadores de crescimento

Quanto à área foliar, após sete dias da aplicação dos tratamentos com os atenuadores, pôde-se observar que houve diminuição de 18,78% para o tratamento W50 na ausência de atenuadores, quando comparado no nível de reposição hídrica W100, mesmo não havendo diferença significativa entre eles (Gráfico 1).

A redução da área foliar em alguns vegetais, em condições de deficiência hídrica, é uma estratégia para evitar gastos de energia metabólica, onde essa depleção culmina em menor crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ et al., 2017). Sendo assim, dentre os mecanismos de adaptação ao estresse hídrico, a redução da área foliar e o controle na abertura dos estômatos são estratégias utilizadas pelas plantas para reduzir as perdas de água por transpiração, resultando em uma taxa fotossintética menor, constituindo assim, uma das causas do reduzido crescimento da espécie sob condições de irrigação deficitária (FLOWERS, 2004, CORREIA; NOGUEIRA, 2004).

Observando-se a o nível de reposição hídrica W100, não foi possível identificar diferença significativa entre os tratamentos com atenuadores (Gráfico 1). No entanto, na lâmina W50, quando adicionado os atenuadores, observou-se aumentos de 26,07, 47,71 e 18,07%, nos tratamentos PRO, SI e SI+PRO, respectivamente, comparando-se ao tratamento W50 sem atenuadores (Gráfico 1).

No tratamento com prolina isolada, as plantas obtiveram área foliar média de 214,12 cm², o que pode ter se dado devido a prolina possuir diversos efeitos na célula vegetal, bem como na planta por inteiro, pois o acúmulo de prolina nas folhas mantém a divisão celular, o turgor e o conteúdo de clorofila, garantindo a atividade fotossintética mesmo em estresse hídrico (FREITAS, 2013; HASANUZZAMAN, 2014).

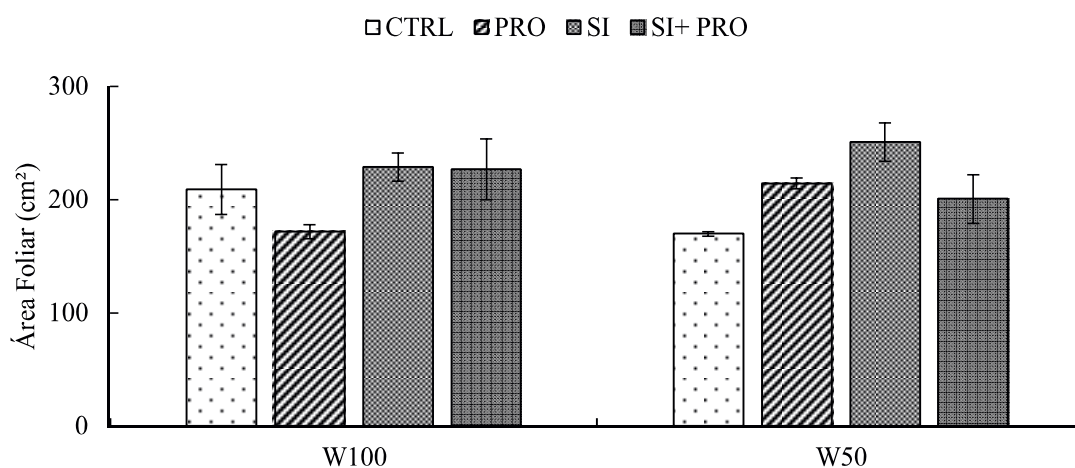
Ao adicionar o silício às plantas sob déficit hídrico, observou-se área foliar de 250,86 cm², sendo o maior valor médio obtido dentre os tratamentos, fazendo com que este elemento seja, possivelmente, o melhor atenuador no estresse. Os dados corroboram com o trabalho de Hussein et al. (2007) e Ferraz et al. (2014) que afirmam que o uso de atenuadores como a prolina e o silício, em culturas como o feijão, podem resultar em aumento da área foliar.

Além disso, Moreira et al. (2010), ao estudarem o efeito do silício na soja, verificaram-se que esse elemento propiciou ganho de área foliar no vegetal. Ahmed et al. (2011), observaram que, plantas de sorgo submetidas a 200 mg L⁻¹ de silicato de potássio produziram maior área foliar em comparação com o controle, concordando com o observado no presente estudo. Esse aumento na área foliar, ao ser aplicado o silício, indica que possivelmente esse elemento promoveu efeito benéfico para expansão e manutenção da área foliar, e, em consequência disso, aumentou a capacidade de ganho

da taxa fotossintética, por meio de maior captação de energia luminosa (ARAÚJO, 2018).

Quando aplicados os dois atenuadores de forma simultânea em feijoeiros submetidos ao regime hídrico W50, verificou-se que as plantas alcançaram área de 200,53 cm², sendo menor que o tratamento com aplicações dos atenuadores isolados. Essa diminuição da área foliar não foi significativa, o que possivelmente pode ser justificado pelo trabalho de Bokor et al. (2014) onde, em condições de estresse hídrico, nem sempre o silício é capaz de mitigar o efeito de depleção na folha causada pela irrigação deficitária, ainda que aplicada prolina exógena. Esse aumento da área foliar quando adicionados os atenuadores Si e Pro de forma isolada, na lâmina W50, pode ter sido beneficiado pelo aporte hídrico CRA (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Área Foliar (AF) do cultivar BRS Guariba condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e aplicação de quatro atenuadores (CTRL- Controle; PRO- Prolina; SI-Silício; SI+PRO- Silício+ Prolina) em um período de 7 dias em estresse hídrico. Campina Grande, PB, 2019.



Fonte: Oliveira (2019).

Em relação à massa seca total, verificou-se que houve diminuição significativa de 37,73% para o tratamento W50 na ausência de atenuadores, em relação ao tratamento no nível de reposição hídrica W100, também sem atenuadores (Gráfico 2). Os resultados podem ser corroborados com aqueles observados por Gonçalves (2013) em estudos para identificar linhagens de feijoeiros tolerantes à seca, no qual se pôde observar que o déficit hídrico ocasionou reduções na massa seca total.

No nível de reposição hídrica W100, houve uma diminuição 44,90% em relação à massa seca quando aplicou-se prolina exógena. Comparando-se o conteúdo da massa seca na lâmina W50 na ausência de atenuadores é possível perceber uma diminuição de 37,73% em relação à lâmina W100 também sem atenuadores, sendo significativa (Gráfico 2).

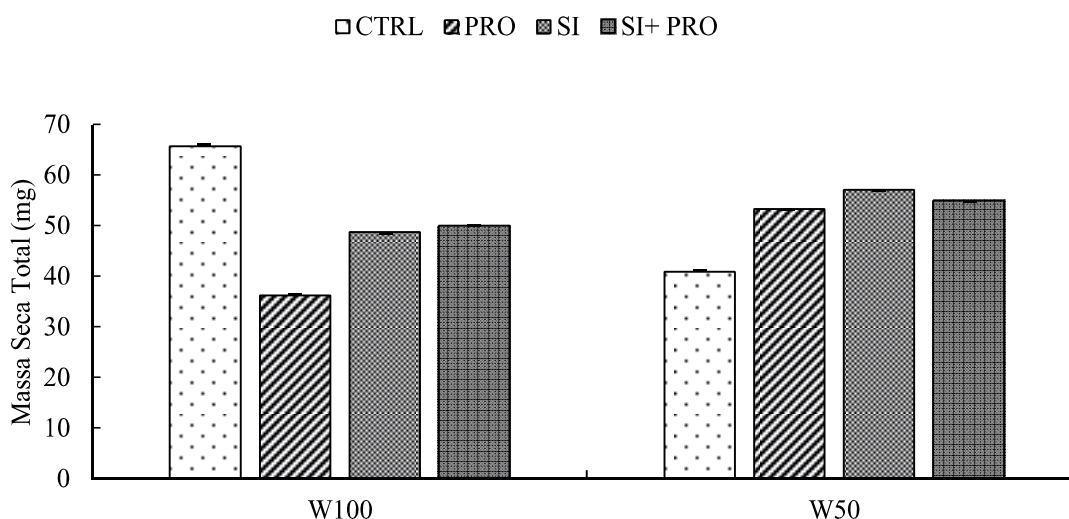
Na lâmina W50, quando adicionados os atenuadores Pro, Si e Pro+Si, as plantas obtiveram massas de 53,32 mg, 57,03 mg e 54,87 mg, respectivamente, não havendo diferença significativa se comparado ao controle da mesmo nível de reposição hídrica.

Ao adicionar o silício, na lâmina W50, foi possível observar aumento de 39,41% na MST, comparado à mesma lâmina na ausência de atenuadores (Gráfico 2).

Moreira et al. (2010) e Teodoro et al. (2015), descreveram que o Si exerceu efeito positivo no rendimento de massa seca de grãos de soja cultivada sob déficit hídrico. Para esses pesquisadores, as respostas positivas à aplicação do Si, podem ser atribuídas a maior taxa de assimilação líquida de CO₂, e, conseqüentemente, maior crescimento relativo da cultura. Sendo este, possivelmente, o melhor atenuador ao estresse no presente estudo.

Ao adicionar a prolina, houve aumento de 30,35% comparado ao controle da mesma. Em trabalhos com estresse salino em meloeiro, verificou-se que a aplicação de prolina exógena estabeleceu ganho de massa seca, devido uma maior expansão do limbo foliar (LACERDA, 2012).

Gráfico 2 – Massa seca total da parte aérea (MST) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETC e W50 - 50% da ETC) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB, 2019.



Fonte: Oliveira (2019).

3.1 Conteúdo Relativo de Água (CRA)

Avaliando-se o conteúdo relativo de água (CRA) no nível de reposição hídrica W50, na ausência de atenuadores (Gráfico 3), pôde-se observar uma diminuição significativa de 10,54% nesta variável, quando comparada ao tratamento W100, também na ausência de atenuadores. Vale salientar que a água é essencial aos processos fisiológicos, bioquímicos, moleculares e morfológicos nas plantas (BHARGAVA; SAWANT, 2013), sendo a restrição hídrica responsável por afetar negativamente seu crescimento e produtividade (MANSORI et al., 2015), a integridade da membrana, a relação hídrica e a atividade fotossintética (TAIZ et al., 2017).

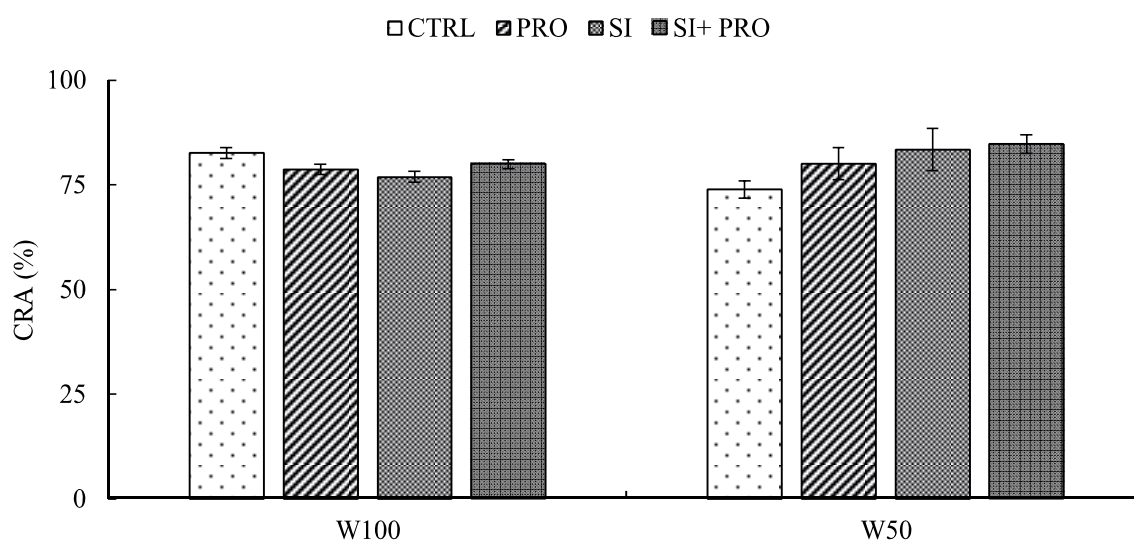
Esta redução do CRA é importante para identificar a ocorrência de estresse por deficiência hídrica no feijão-caupi, uma vez que, as funções fisiológicas da planta estão diretamente relacionadas ao seu status hídrico (conteúdo relativo de água e potencial hídrico), os quais dependem da umidade do solo, da capacidade de absorção de água e da condutividade hidráulica de tecidos e raízes e de partes aéreas (TAIZ et al., 2017),

sendo o déficit hídrico responsável pela redução do conteúdo relativo de água (SOUSA et al., 2014).

Não foram observadas diferenças de conteúdo relativo de água das plantas cultivadas no tratamento W100, após aplicação dos atenuadores (Gráfico 3). No entanto, na lâmina W50, houve aumento nos valores médios do CRA após aplicação de todos os atenuadores, com diferença significativa apenas para o tratamento SI+PRO (14,73%) quando comparado à lâmina W50 na ausência de atenuadores, sendo este, possivelmente, o melhor tratamento contra o déficit hídrico. Nos tratamentos PRO e SI aplicados de forma isolada na lâmina w50, as plantas alcançaram CRA de 80% e 83,3%, respectivamente, não diferindo estatisticamente das plantas submetidas à mesma lâmina sem atenuadores.

Após sete dias de imposição do déficit hídrico, é possível que as plantas já se encontrassem adaptadas à limitação de água no solo, o que pode ter sido potencializado pelo efeito cumulativo do silício e da prolina. Trabalhos como o de Ferraz et al. (2015), Merwad et al. (2018) e Liu et al. (2015), afirmam que em plantas nutridas com silício e prolina, há reduções na taxa de transpiração e, conseqüentemente, há melhor aproveitamento da água disponível no solo devido à melhoria da estrutura morfofisiológica da planta.

Gráfico 3 - Conteúdo relativo de água (CRA) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL).Campina Grande, PB, 2019.



Fonte: Oliveira (2019).

3.4 Teor de Prolina Livre

A prolina, em condições de estresses, pode ser uma molécula chave de sinalização capaz de desencadear múltiplas respostas que fazem parte do processo de aclimação, podendo ser acumulada na planta para proporcionar tolerância a estresses abióticos, principalmente o hídrico e o salino (GIL; TUTEJA, 2010).

No presente trabalho, observou-se que na cultivar BRS Guariba, no estágio V5, cultivada sob lâmina de irrigação W50, na ausência de atenuadores, a prolina obteve um aumento na sua concentração de $0,82 \mu\text{mol PRO g}^{-1}$ de MF (162,22%), em relação à lâmina de irrigação W100, também na ausência de atenuadores (Gráfico 4). Em geral, o teor de prolina nas folhas aumenta na medida em que a disponibilidade hídrica decresce, sugerindo que a produção desse aminoácido é, provavelmente, uma resposta comum sob condições de deficiência hídrica (FARHAD et al., 2011; MEWARD et al., 2018;). A prolina, por ser um dos solutos compatíveis, tem como função primária evitar a perda de água, mantendo a turgescência e o gradiente de absorção de água pela célula (LISAR et al., 2012). Neste caso, o ajuste osmótico é tido como uma das principais respostas das plantas ao estresse hídrico, o qual se relaciona ao grau de tolerância do vegetal, além da PRO atuar como um osmoprotetor efetivo (ARAÚJO et al., 2018; RHEIN et al., 2011).

Estudos apontam que, o acúmulo de prolina, além de estar relacionado com o ajustamento osmótico pode contribuir para a estabilização de membranas e proteínas, promover a eliminação de radicais livres, atuar na sinalização celular, participar do equilíbrio da oxirredução e na indução da expressão dos genes (ASHRAF, 2011; FREITAS, 2013; TAIZ et al., 2017).

Ainda, na condição de restrição hídrica, observou-se um aumento na concentração de prolina em 46,66% quando aplicada a prolina de forma isolada na lâmina W50, comparado à lâmina W100 também com a aplicação de PRO, apesar de não diferir estatisticamente (Gráfico 4). Com a aplicação de prolina exógena no genótipo BRS Guariba, na lâmina com 50% da reposição hídrica, foi possível constatar que houve um aumento de 25,12% na concentração de PRO, quando comparado ao tratamento W50 na ausência de atenuadores não diferindo estatisticamente (Gráfico 4).

A aplicação de prolina nas plantas de feijão-caupi sob estresse hídrico, possibilitou o aumento do seu conteúdo endógeno. O acúmulo significativo de prolina no feijoeiro, em resposta ao déficit hídrico, indica o importante papel de ajuste deste osmólito em condições desfavoráveis. A mesma, possivelmente propiciou a mitigação dos efeitos nocivos do déficit hídrico na cultivar, uma vez que esse aminoácido favorece o ajuste osmótico, sendo também, considerado um importante osmoprotetor (PILON et al., 2014). Sua contribuição para o ajuste osmótico é considerada um mecanismo para manter as relações hídricas e adiar a desidratação sob estresse osmótico (VICENTE, 2016; MEWARD, 2018;).

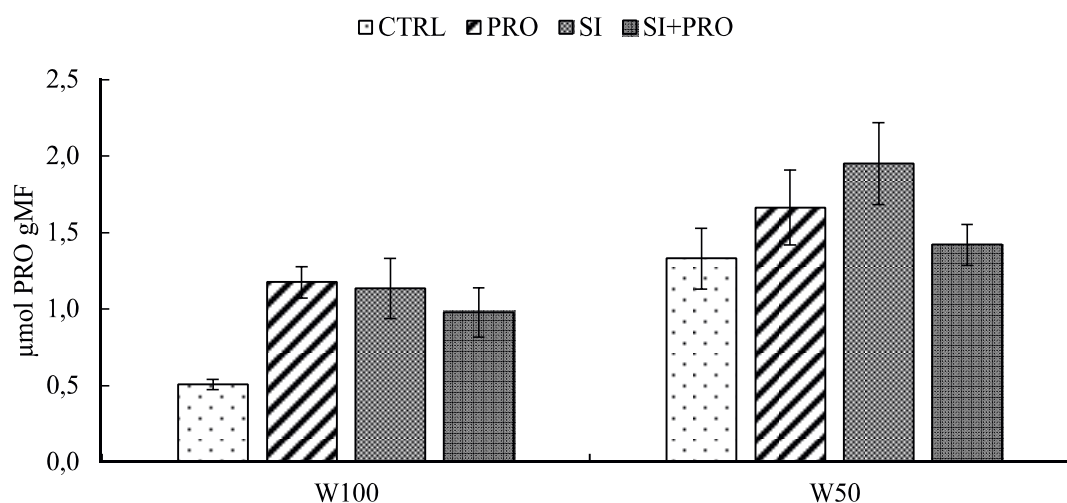
Em estudos realizados por Monteiro et al. (2014) e Vantini et al. (2016), em feijão guandu e cana-de-açúcar, respectivamente, esses pesquisadores investigaram que a síntese de prolina é estimulada quando as plantas são submetidas a estresses bióticos e abióticos, de maneira que os vegetais mantenham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

Todavia, a aplicação de silício na lâmina W50 proporcionou um aumento de 72,13% comparado a esse mesmo tratamento, na lâmina W100 (Gráfico 4). Ainda, o silício aplicado de forma isolada no tratamento W50 propiciou um aumento de 46,66% na concentração de prolina, comparado ao tratamento W50 na ausência de atenuadores, mesmo não havendo diferença significativa (Gráfico 4).

Na literatura, também é possível encontrar resultados significativos do aumento da prolina em função da aplicação do silício, corroborando com os resultados encontrados por Mauad (2006), ao avaliar o desenvolvimento e marcha de absorção do silício em plantas de arroz sob condição de déficit hídrico e adubação silicatada. O acúmulo de prolina, também foi registrado por Kafi e Hahimi (2011), os quais observaram aumento de PRO na espécie *Portulaca oleracea* L., condicionada à salinidade e tratadas com silício, possivelmente pelo ajustamento osmótico.

Segundo Vicente et al. (2016), o acúmulo de prolina é uma resposta fisiológica comum encontrada em muitas plantas cultivadas em diferentes estresses abióticos, o qual tem sido sugerido como índice de resistência ao estresse. A prolina exógena é capaz de melhorar o crescimento das plantas e manter o seu estado nutricional promovendo a absorção de N, P, e K⁺, sob estresse hídrico (ALI et al., 2007).

Gráfico 4 Teor de Prolina livre (PRO) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB,2019



Fonte: Oliveira (2019).

3.5 Ascorbato Peroxidase (APX)

A ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima reguladora do grupo das peroxidases, com diferentes formas isoenzimáticas, que age em distintos compartimentos celulares (CAVERZAN et al., 2012) como citosol, cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos, e parede celular (DABROWSKA et al., 2007), requerendo o ácido ascórbico como redutor (BARBOSA et al., 2014). Segundo Sharma et al. (2012), a APX, por possuir afinidade com o peróxido de hidrogênio, permite a eliminação do H₂O₂ em baixas concentrações.

Como visto no Gráfico 5, houve aumento na atividade da enzima ascorbato peroxidase de 33,49%, quando o feijão-caupi foi submetido ao estresse hídrico (lâmina W50) sem a aplicação de atenuadores, comparando-se ao tratamento na lâmina W100, também sem atenuadores, embora, estatisticamente esses dados não apresentem diferenças significativas. Campos et al. (2004) constataram que enzimas oxidativas, apresentam atividade enzimática alterada com o aumento do estresse abiótico. Sendo assim, é importante destacar que a atividade antioxidante aumenta quando as plantas estão submetidas a estresses bióticos e abióticos, o que é associado à necessidade de equilíbrio entre a produção e remoção de EROs em nível intracelular. Dentre as enzimas que atuam na atividade antioxidante, a APX é uma das mais importantes para eliminar o H₂O₂.

É importante destacar que ainda sob restrição hídrica, foram constatados aumentos na atividade da APX com o uso de todos os atenuadores, comparados aos seus respectivos tratamentos em W100, sendo que os aumentos mais expressivos se deram com a aplicação de prolina e silício, onde foram obtidos 38,39 e 37,20 $\mu\text{mol de } \mu\text{mol de ASC min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de MF, respectivamente (Gráfico 5).

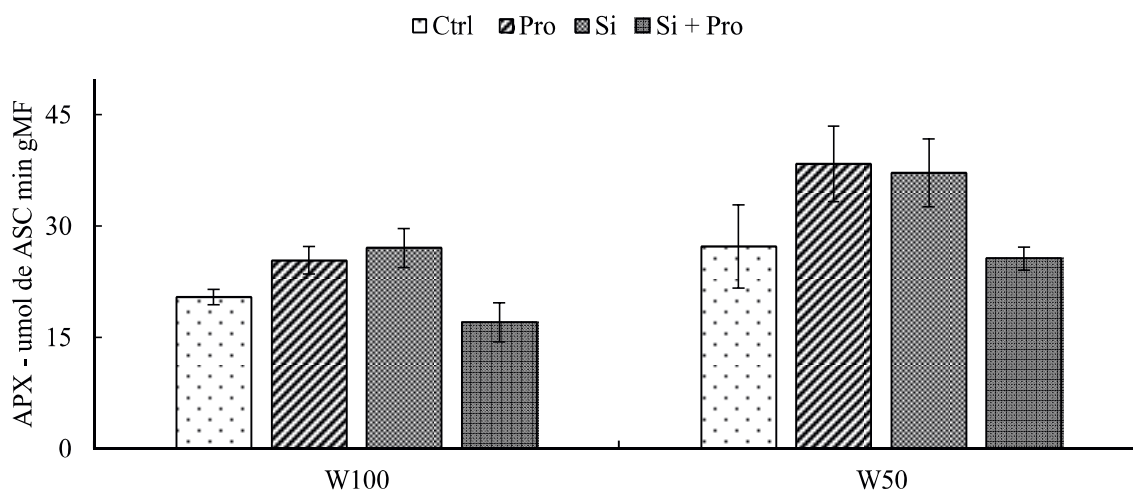
Quando aplicada de forma isolada na lâmina W50, a prolina aumentou em 40,72% a atividade da APX em relação à mesma lâmina sem atenuadores (Gráfico 5). Em trabalhos com culturas de células de soja mantidas sob estresse salino, a aplicação de prolina aumentou as atividades da superóxido dismutase (SOD) e da ascorbato peroxidase (APX), contribuindo para o aumento da tolerância ao sal (YAN et al., 2000; HUA; GUO, 2002; MEWARD et al, 2018;). Noujan et al. (2012), trabalhando com plantas de arroz submetidas à salinidade observaram aumento em atividade da APX com a aplicação exógena de prolina a 10 mM. Hoque et al. (2007) em seu trabalho utilizando prolina exógena para avaliar as atividades das enzimas do ciclo ascorbato glutationa, verificou que a aplicação de prolina regula positivamente e aumenta as atividades de enzimas antioxidantes como a APX.

Referente ao silício, quando aplicado de forma isolada, no estresse hídrico (W50), é possível verificar aumento de 36,36% na atividade da APX se comparado à lâmina W50 sem atenuadores, embora estatisticamente ambos não tenham diferido entre si. Esse aumento possivelmente se deve ao fato de que o silício, quando aplicado de forma isolada, aumenta a atividade antioxidante da APX, a qual tem alta afinidade pelo peróxido de hidrogênio, sendo possível a sua eliminação em baixas concentrações (KHOSHGOFTARMANESH et al., 2014).

Hasanuzzaman et al. (2018), estudando o efeito do silício na regulação da defesa antioxidante em *Brassica napus* L. observaram que, quando tratados com Si, a atividade da APX aumentou em 25 e 13% sob estresse moderado e severo, respectivamente, em comparação com mudas expostas ao mesmo nível de estresse hídrico sem o silício.

A aplicação dos atenuadores Si+Pro na lâmina W50, proporcionou à planta aumento de 50,69% na atividade da APX, comparada com a lâmina W100, com a aplicação do mesmo atenuador (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Atividade da Ascorbato peroxidase (APX) da cultivar BRS Guariba condicionada a dois regimes hídricos (W100- 100% da ETc e W50 - 50% da ETc) e aplicação de dois atenuadores isolados (Prolina - PRO ou Silício- Si) e combinados (Prolina e Silício), e um controle (CTRL). Campina Grande, PB, 2019



Fonte: Oliveira (2019).

3.6 Atividade de Catalase (CAT)

A enzima Catalase (CAT) compõe uma das principais enzimas na eliminação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo capaz de converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de H_2O_2 , em H_2O e O_2 por minuto, muitos desses H_2O_2 são gerados nos peroxissomos (GIL; TUJEJA, 2010). O mecanismo de ação da CAT consiste, possivelmente, em duas etapas onde primeiramente o H_2O_2 reage com o Fe do grupo heme da CAT, formando o peróxido de ferro e a reação pode, então, seguir duas direções: caso a concentração do H_2O_2 do meio seja elevada, o peróxido de ferro reagirá outra vez com outra molécula de H_2O_2 , formando H_2O e O_2 . Em compensação, se a concentração de H_2O_2 for baixa, o peróxido de ferro poderá ser reduzido por doadores de H^+ , a exemplo do etanol e ascorbato (PEREIRA, 2008).

Ao comparar as duas condições de reposição hídrica, W100 e W50 na ausência de atenuadores, pôde-se perceber que houve diferenças significativas entre as duas lâminas. No controle da lâmina W50, verificou-se aumento de 66,50% da atividade da Catalase, em relação ao controle da lâmina W100 (Gráfico 6).

A atividade da CAT foi assim superior nas plantas submetidas a condições de déficit hídrico, quando em comparação com plantas em regime normal. Ackay et al. (2010), estudando a atividade da CAT em acessos de amendoim rasteiro e ereto, encontraram que a atividade dessa enzima aumentou consideravelmente no acesso ereto, quando submetido ao estresse. Isso também foi corroborado pelo trabalho de Pereira et al. (2012), ao analisar mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado.

No contexto, Silva (2014), avaliando componentes de produção e fisiológicos em feijão-caupi sob reposição hídrica, observou um aumento da atividade da CAT nas folhas a medida que o déficit hídrico era intensificado, sendo esta diminuída com a reidratação das plantas. Sendo assim, a restrição de água resultou em um aumento na atividade da CAT na lâmina a 50% de reposição hídrica, onde, esse comportamento pode ser reflexo do aumento da produção de H_2O_2 (DUTRA, 2015). 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).

Ao aplicar prolina exógena na lâmina W50, verificou-se que houve um aumento de 57,48% da catalase, em relação à aplicação do mesmo atenuador na lâmina W100, além de aumentar em 25,32% a atividade da CAT quando comparada à lâmina W50 sem atenuadores (Gráfico 6). Segundo Meward et al. (2018), a aplicação exógena de solutos orgânicos ou osmólitos, têm sido sugerida como forma de reduzir o estresse oxidativo, proporcionando aumento da produtividade das culturas submetidas à irrigação deficitária.

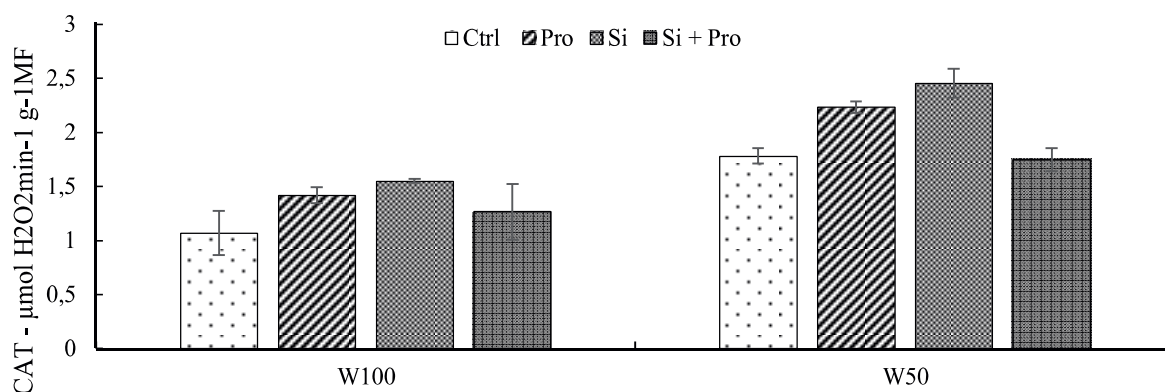
Em trabalhos como o de Butt et al. (2016), a prolina, aplicada de forma exógena, conferiu tolerância ao estresse salino em cultura de pimenta, aumentando assim, as atividades de SOD e CAT. Ainda assim, a aplicação de prolina também melhorou a tolerância ao sal nas plantas de tabaco, ativando as enzimas antioxidantes envolvidas no sistema de defesa (HOQUE et al., 2008).

Ao aplicar o atenuador silício, na lâmina W50, percebe-se que houve um aumento de 58,54% na atividade da catalase, em relação ao mesmo atenuador na lâmina W100, além de aumentar em 37,85% a atividade da CAT quando comparada à lâmina W50 sem atenuadores (Gráfico 6). Essa situação sugere que o Si potencializou o

aumento da atividade de CAT, a qual mitigou os efeitos deletérios provocados pelo peróxido de hidrogênio (ARAÚJO et al.2018). O Silício propicia condições de tolerância ao estresse hídrico devido ao aumento da atividade enzimática (ARAÚJO, et al.2018).

O déficit hídrico pode causar estresse tecidual, o que exigiria a ação antioxidante, especialmente da prolina, superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT), prevenindo assim, danos celulares. No estudo em questão, a aplicação de Si, em plantas submetidas a estresse hídrico proporcionou o aumento de enzimas antioxidantes, como a catalase, sugerindo que um mecanismo de proteção contra o dano oxidativo foi induzido pela aplicação de Si (MEWARD, 2018).

Gráfico 6 – Atividade da Catalase (CAT) do cultivar BRS Guariba condicionados a dois regimes hídricos (W-100 e W-50) e aplicação de quatro atenuadores (CTRL - Controle; PRO- Prolina; SI-Silício; SI+PRO- Silício+ Prolina) em um período de 7 dias em estresse hídrico. Campina Grande, PB, 2019.



Fonte: Oliveira (2019)

4 CONCLUSÃO

Em variáveis como CRA, AFT e MST, a aplicação do atenuador silício (Si), de forma isolada, reduziu os efeitos do déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi (BRS Guariba), contribuindo dessa forma para o crescimento deste, no período de estresse (7 dias).

Sob deficiência hídrica houve maior produção de prolina endógena nos vegetais que foram aplicados o atenuador silício, em seguida prolina, sugerindo que estes atenuadores atuaram na produção desta molécula para defesa contra o estresse permitindo o ajustamento osmótico.

Em situação de deficiência hídrica, sem o uso de atenuadores, o estresse ocasionou diminuição do CRA, AFT e MST. Já para as variáveis bioquímicas como: APX e CAT, o estresse provocou aumento em suas atividades enzimáticas.

Em situação de estresse hídrico, os atenuadores silício e prolina, utilizados de forma isolada, promoveram a melhor resposta em relação as atividades das enzimas APX e CAT, de forma que atuaram proporcionando ao vegetal uma melhor tolerância ao período de estresse (7 dias).

REFERÊNCIAS

- ACKAY, U. C. Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. **Plant Growth Regulation**, v.61, n. 01, p. 21-28, 2010.
- AHMED, M.; BOUMEDRIS, Z.; TAHAR, A.; DJEBAR, M. Impact of an Atmosphere Rich in Sulfur Dioxide on a Foliose Lichen Species *Flavoparmelia Caperata* (L) Hale from the El Kala National Park (Northeast Algerian). **International Journal of Scientific Research in Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 21-27, 2016.
- ALI, M. A. M.; RAMEZANI, A.; FAR, S. M.; SADAT, K. Application of silicone ameliorates salinity stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **International Journal of Agriculture and Crop Science**, v. 6, n. 20, p. 1367-1372, 2013.
- ALI, Q.; ASHRAF, M.; ATHAR, H.U .R. Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n.4, p.1133-1144, 2007.
- ARAÚJO, E. D. D., MELO, A. S. D., ROCHA, M., SOCORRO, D., CARNEIRO, R. F., ROCHA, M. D. M.. Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 1, p. 80-89, 2018.
- ASHRAF, M.; AKRAM, N. A.; AL-QURAINY, F.; FOOLAD, M. R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v. 11, n. 1, p. 249- 296, 2011.
- BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, v.32, n.1, p.21-32, 2013.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p. 205-207, 1973.
- BUTT, M.; AYYUB, C. M.; AMJAD, M.; AHMAD, R. Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. **Pakistan Journal of Botany**., v. 53, n.1, p. 43-49, 2016.
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANÇÃO, N.; SILVEIRA, E. P. DA; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.637-643, 2004.
- CAVERZAN, A.; PASSAIA, G.; ROSA, S. B.; RIBEIRO, C. W.; LAZZAROTO, F. PINHEIRO, M. M. Plant responses to stress: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1011-1019, 2012.
- CARVALHO, A. F. U.; SOUSA, N. M.; FARIAS, D. F.; ROCHA-BEZERRA, L. C. B.; SILVA, R. M. P.; VIANA, M. P.; GOUVEIA, S. T.; SAMPAIO, S. S.; SOUSA, M. B.; LIMA, G. P. G.; MORAIS, S. M.; BARROS, C. C.; FREIRE FILHO, F. R.

Nutritional ranking of 30 Brazilian genotypes of cowpeas including determination of antioxidant capacity and vitamins. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.26, n.1-2, p.81-88, 2012.

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

DEUNER, C.; MAIA, M. S.; DEUNER, S.; ALMEIDA, A. S.; MENEGHUELO, G. E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p. 711-720, 2011.

DUTRA, W. F. **Ácido Salicílico como indutor de tolerância ao déficit hídrico nas fases de germinação e crescimento inicial de feijão-caupi**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual da Paraíba, 2015.

FARHAD, M.; MANDOULAKANI, B. A.; REZA, Z. M.; SADAGHIANI, M. R. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.1, 2011.

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

FERRAZ, R.L.de S.;MAGALHÃES,I.D.;BELTRÃO,N.E. de M.;MELO,A.S.de.;NETO, J. F.de B.;ROCHA,M.doS. Photosynthetic pigments, cell extrusion and relative leaf water content of the castor be anunder silicone and salinity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.9, p.841–8, 2015.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 28-92. 2005.

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**, p. 84, 2011.

FREITAS, R.; 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.

FREITAS, P. A. F. **Aplicação foliar de prolina como meio de minorar os efeitos do estresse salino em plantas de milho**. 2013. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2013.

- FROTA, K. de 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.
- 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.
- GONÇALVES, J. G. R. **Identificação de linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes à seca**. Campinas-SP, 2013. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Instituto Agrônômico, 2013.
- GONZALEZ, A.; BERMEJO, V.; GIMENO, B. S. Effect of different physiological traits on grain yield in barley grown under irrigated and terminal water deficit conditions. **Journal Agricultural Science**, v. 148, p. 319-328, 2010.
- HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; ANEE, T. I.; KHAN, M. I. R.; FUJITA, M. Silicon mediated regulation of antioxidant defense and glyoxalase systems confers drought stress tolerance in *Brassica napus* L. **South African Journal of Botany**, n.115, p. 50-57, 2018.
- HOQUE, M. A.; BANU, M. N. A.; AMAKO, E. O. K.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Exogenous proline and glycylbetaine increase NaCl induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycylbetaine in tobacco Bright Yellow – 2 suspension-cultured cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 1457-1468, 2007.
- HUA, B.; GUO, W.Y. Effect of exogenous proline on SOD and POD activity of soybean callus under salt stress. **Acta Agriculturae Boreali-Sinica**, v.17, p. 37- 40, 2002.
- IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D.W.; SÁNCHEZ-DIAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v.84, n.1, p. 55-60, 1992.
- KAFI, M.; RAHIMI, Z. Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline contents and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). **Soil Science Plant & Nutrition**, v. 57, n.2, p. 341-347, 2011.
- LACERDA, F. H. D.; PEREIRA, F. H. F.; NEVES, D. S.; BORGES, F. Q. C. Aplicação exógena de prolina na redução do estresse salino em meloeiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.10, n.12, 2012.

LIU, P.; YIN, L.; WANG, S.; ZHANG, M.; DENG, X.; ZHANG, S.; TANAKA, K. Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon and proline alleviated salt induced osmotic stress in Sorghum bicolor L. **Environ**, v.11, n.1, p. 42–51, 2015.

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**, p. 1-14, 2012.

MAUAD, M. **Desenvolvimento e marcha de absorção de silício em plantas de arroz sob condição de deficit hídrico e adubação silicatada**. 2006. Dissertação (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu, 2006.

MENDES, M. H. S. J.; PAULA, N. F. de.; SCARPINATTI, E. A.; PAULA, R. C. de. Respostas fisiológicas de genótipos de eucalyptus grandis x e. urophylla à disponibilidade hídrica e adubação potássica. **Cerne**, v.19, n.3, p. 603-611, 2013.

MEWARD, A. R. M.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. **Scientia Horticulturae**, v.228, p. 132-144, 2018.

MISHRA, D.; KAR, M. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n.2, 1976.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e conteúdo de proline em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n.3, p. 413-423, 2014.

NETO, B.; BARRETO, L. P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 267. 2011.

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

NOUNJAN, N.; NCHIA, P.T.; THEERAKULPISUT, P. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes. **Journal of plant physiology**, v. 169, p. 596-604, 2012.

PEREIRA, F. J. **Caracterização das modificações morfo-anatômicas e bioquímicas, em ciclos de seleção de milho saracura, para tolerância ao encharcamento do solo**. 2008. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, 2008.

PEREIRA, W. P.; MELO FILHO, P. A.; ALBUQUERQUE, M. B.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C. Mudanças Bioquímicas em Genótipos de Amendoim Submetidos a Déficit Hídrico Moderado. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 4, p. 766-773, 2012

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

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 hídricos e ácido no solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n.4, p. 1345-1360, 2011.

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

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.

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

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

SILVA, A.; BRITO, M.E.B.; FRADE, L.J.G.; NOBRE, R.G.; COSTA, F.B.; MELO, A.S.; SILVA, L.A. Crescimento e trocas gasosas de genótipos de feijão-caupi sob estratégias de cultivo. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, p. 745-758, 2016.

SOUZA, J. V. de.; RODRIGUES, C. R.; LUZ, J. M. Q.; CARVALHO, P. C. de.; RODRIGUES, T. M.; BRITO, C. H. Silicato de potássio via foliar no milho: fotossíntese, crescimento e produtividade. **Bioscience Journal**, v. 26, n.4, p. 502-513, 2010.

SOUZA, L. S. B.; MOURA, M. S. B.; SEDIYAMA, G. C.; SILVA, T. G. F. Eficiência do uso da água das culturas do milho e do feijão-caupi sob sistemas de plantio exclusivo e consorciado no semiárido brasileiro. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p.715-721, 2011.

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. **Environmental and Experimental Botany**, v.51, n.1, p.45-56, 2004.

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**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6^o ed. Porto Alegre. Artmed, 2017.

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

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

VICENTE, O.; AL HASSAM, M.; BOSCAIU, M. Contribution of osmolyte accumulation to abiotic stress tolerance in wild plants adapted to different stressful environments. *In*: IQBAL, N.; NAZAR, R.; KHAN, N. **Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies**. Springer, India, 2016, p. 13-25.

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

YAN, H.; GANG, L.Z.; ZHAO, C.Y.; GUO, W.Y. Effects of exogenous proline on the physiology of soybean plantlets regenerated from embryos in vitro and on the ultrastructure of their mitochondria under NaCl stress. **Soybean Science**, v. 19, p. 314-319, 2000.

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

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer em especial ao Senhor Jesus Cristo, sem a SUA permissão eu não conseguiria chegar até aqui. Foi Ele quem iluminou os meus caminhos para que conseguisse vencer muitos obstáculos. Obrigada Senhor, por sua proteção, zelo e amor.

Quero agradecer aos meus pais: Auriberto e Penha, vocês que são minha fortaleza, que nunca mediram esforços pra me ver estudar e ser alguém na vida. Lhes agradeço com o coração repleto de gratidão. Amo vocês.

Quero agradecer ao meu orientador Professor Dr. Alberto Soares de Melo, por ter me acolhido no ECOLAB, pelos ensinamentos, dedicação, companheirismo, e por ter participado da minha formação acadêmica. Obrigada pela confiança depositada em mim.

Agradeço a Dr. Yuri Lima Melo, você que sempre teve paciência comigo, sempre esteve presente na diária do ECOLAB ajudando ali nas análises. Muito obrigado por todo o apoio.

Agradeço de coração ao meu namorado e futuro marido, Anderson Reges, meu companheiro de UEPB, laboratório e de vida. Sem você, eu não teria feito nem metade desta pesquisa. Obrigada, meu amor, por sua paciência para me ouvir (que as vezes você perdia rsrs), por sua ajuda tão fundamental, por seu carinho, seus conselhos e seu amor. Quantas vezes eu quis desistir e você esteve ali segurando minha mão e dizendo que no final tudo daria certo, e deu. Obrigada por cada momento ao lado de sua presença. Que nosso amor seja como o de Beren e Lúthien. Sou muito grata à ti.

Agradeço à minha *Sociedade do Anel*: Dalescka, Genielyson, Igor e Dani, por terem dividido comigo essa jornada universitária. Vocês marcaram minha vida acadêmica. Essa sociedade estará sempre de pé, guardo todos em meu coração !

Agradeço aos meus companheiros do ECOLAB: Anderson Reges, Auta Paulina, Igor Eneas, Renato Jales e Venâncio Eloy, por todo apoio e ajuda, vocês são demais. Sozinha eu não faria nada, parte deste trabalho eu devo à vocês. Obrigada por toda convivência todos os dias naquele laboratório, as quais saíram muitas risadas, muitos conselhos, discussões.

Agradeço ao Dr. Ferraz, por ter aceitado participar da minha banca, é uma honra ter você presente com suas contribuições e conhecimento.

Agradeço à todos os professores que participaram da minha formação. Sou grata por toda dedicação e conhecimento que me proporcionaram.

Agradeço à Universidade Estadual da Paraíba e ao CNPq, pela concessão da bolsa para que esse projeto pudesse ser executado, bem como pela disponibilidade do espaço e equipamentos para as realizações das atividades do projeto.

Por fim, agradeço à todos que direta ou indiretamente participaram da minha formação.