



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

ANDERSON REGES DOS SANTOS

**PROLINA EXÓGENA E SILÍCIO MINIMIZAM OS EFEITOS DO DÉFICIT
HÍDRICO EM FEIJÃO-CAUPI**

**CAMPINA GRANDE - PB
MAIO DE 2019**

ANDERSON REGES DOS SANTOS

**PROLINA EXÓGENA E SILÍCIO MINIMIZAM OS EFEITOS DO DÉFICIT
HÍDRICO EM FEIJÃO-CAUPI**

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC de natureza “artigo”, apresentado ao Departamento de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de licenciado em Biologia.

Área de concentração: 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.

S237p Santos, Anderson Reges dos.
Prolina exógena e silício minimizam os efeitos do déficit hídrico em feijão-caupi [manuscrito] / Anderson Reges dos Santos. - 2019.
29 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

ANDERSON REGES DOS SANTOS

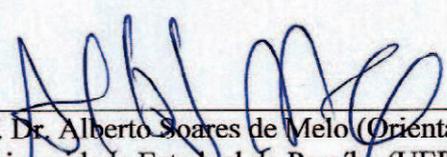
PROLINA EXÓGENA E SILÍCIO MINIMIZAM OS EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM
FEIJÃO-CAUPI

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC de natureza "artigo", apresentado ao departamento de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de licenciado em Biologia.

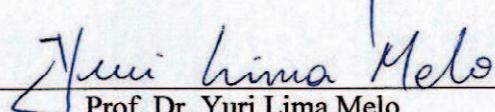
Área de concentração: Ciências Biológicas

Aprovada em: 28/05/2019.

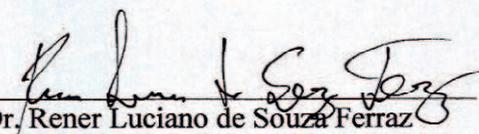
BANCA EXAMINADORA



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 por ter me dado sabedoria e saúde para
terminar mais um ciclo da minha vida, DEDICO.

“Viva como um selo postal – cole-se num
único objetivo até alcançá-lo.”

(Josh Billings)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Cultivar BRS Guariba utilizada na pesquisa. (A) BRS Guariba; (B) Planta em estágio V3. Campina Grande, PB, 2018.....	13
Figura 2 –	Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo dos vasos em delineamento inteiramente casualizados. Campina Grande, PB, 2018	13
Figura 3 –	Estufa para secagem do material para posterior obtenção da massa seca, Campina Grande, PB, 2019.....	15
Gráfico 1 –	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.....	17
Gráfico 2 –	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.....	19
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.....	20
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.....	21
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.....	22
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.....	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2. METODOLOGIA	10
2.1 Localização, delineamento e fatores estudados	10
2.2 Instalação e condução do experimento	11
2.3 Variáveis estudadas	12
2.3.1 Variáveis de crescimento	12
2.3.2 Variável Fisiológica	13
2.3.3 Variáveis Bioquímicas	13
2.4 Análises Estatísticas	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1 Indicadores de Crescimento	15
3.2 Conteúdo Relativo de Água (CRA)	17
3.3 Teor de Prolina Livre	18
3.4 Ascorbato Peroxidase (APX)	19
3.5 Catalase (CAT)	20
4. CONCLUSÕES	21
REFERÊNCIAS	22
AGRADECIMENTOS	27

PROLINA EXÓGENA E SILÍCIO MINIMIZAM OS EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM FEIJÃO-CAUPI

EXOGENOUS PROLINE AND SILICON MINIMIZE THE EFFECTS OF WATER DEFICIT IN COWPEA

Anderson Reges dos Santos*

RESUMO

A água é um dos principais fatores limitantes para o crescimento e desenvolvimento das culturas quando cultivadas na região semiárida, caracterizada pela limitação hídrica. Com isso, deve-se atentar para o uso eficiente da água, o que pode ser obtido com uso de cultivares tolerantes à restrição de água. O déficit hídrico na planta pode ser mitigado por meio da aplicação de eliciadores endógenos como o Silício e a Prolina. Objetivou-se avaliar a prolina e o silício como atenuadores de déficit hídrico na cultivar de feijão-caupi BRS Guariba cultivado sob irrigação deficitária por 14 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2 com 4 repetições, 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. A aplicação da prolina de forma isolada minimizou os efeitos do déficit hídrico e contribuiu para a manutenção do crescimento do feijão-caupi “BRS Guariba”, em variáveis como massa seca total da parte aérea, conteúdo relativo de água, área foliar total. Sob deficiência hídrica houve maior produção de prolina livre, o que sugere que os atenuadores Silício ou Prolina atuaram no ajustamento osmótico do “BRS Guariba”. Sob déficit hídrico, o tratamento com prolina promoveu aumento da atividade das enzimas Catalase e Ascorbato peroxidase, o que indica tolerância ao período de 14 dias de déficit hídrico.

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

ABSTRACT

Water is one of the main limiting factors for the growth and development of crops when cultivated in the semi-arid region, characterized by water limitation. With this, something must pay attention to the efficient use of water, someone can get which with the use of cultivars that tolerate water restriction. It can mitigate the water deficit in the plant through the application of endogenous elicitors such as silicon and Proline. The objective of this study was to test proline and silicon as a water deficit attenuators in BRS Guariba cowpea cultivar cultivated under irrigation deficit for 14 days. The experimental design was completely randomized, in a 4x2 factorial scheme with 4 replicates, where the control treatment

* Aluno de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.
Email: regisanderson198@gmail.com

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 silica corresponded to the concentration 0.15 g L⁻¹ and the treatment with proline and silicon 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 water deficit and not submitted to the water deficit, with four replications and the experimental plot comprising two useful plants. It analyzed physiological variables of water status: 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. The application of proline in an isolated way minimized the effects of the water deficit and contributed to the maintenance of BRS Guariba cowpea growth, in variables such as total dry mass of shoot, relative water content, total leaf area. Under water deficiency there was greater free proline production, which suggests that the Silicon or Proline attenuators acted in the osmotic adjustment of the “BRS Guariba”. Under drought, proline treatment promoted an increase in the activity of the enzymes Catalase and Ascorbate peroxidase, which indicates tolerance to the 14 days period of water deficit.

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

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma Fabaceae de considerável importância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Possui características nutricionais importantes como a presença de proteínas, aminoácidos essenciais e carboidratos (BASTOS et al., 2018). O cultivo de feijão-caupi, que abrange cerca de 1.451.578 ha (LEITE, 2018), está localizado principalmente nas regiões Norte e Nordeste e atualmente está em expansão na região Centro-oeste, despertando o interesse de agricultores empresariais e familiares que utilizam práticas tradicionais de cultivo (SILVA et al., 2019).

No cultivo do semiárido, verifica-se a limitação da produtividade do feijão-caupi devido aos estresses abióticos, principalmente pela irregularidade das chuvas e as altas temperaturas, as quais proporcionam um considerável déficit hídrico, sendo este um dos fatores mais limitantes para o desenvolvimento da espécie (ARAÚJO et al., 2018). A escassez hídrica reduz o desempenho do feijão-caupi, 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).

As respostas das plantas às condições de déficit hídrico variam de acordo com a espécie, cultivar, tempo de exposição, fatores edáficos, entre outros (NASCIMENTO et al., 2011; CARVALHO et al., 2016). Como resposta mais comum, a redução da produtividade, causada pela inviabilização do processo fotossintético, é consequência das alterações na atividade de algumas enzimas, proteínas e no crescimento da planta (FERRAZ et al., 2014; ARAÚJO et al., 2018; DUTRA et al., 2017). Sob restrição de água no solo, as plantas apresentam ajustamento osmótico por meio da acumulação ativa de osmólitos compatíveis como um importante mecanismo de adaptação à seca (BABITA et al., 2010; OLIVEIRA NETO et al., 2016; SILVA et al., 2016;). Esse processo faz com que o acúmulo de solutos promova a diminuição do potencial hídrico da planta e, conseqüentemente, garanta a manutenção da turgescência por meio da absorção de água do solo, além de proteger as estruturas celulares e estimular o crescimento das raízes (GONZALEZ et al., 2010; MENDES et al., 2013).

Além da restrição na aquisição de nutrientes, o estresse hídrico provoca o estresse oxidativo, pois conduz a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs). Essas espécies atuam como mensageiros de vários processos celulares, incluindo a tolerância aos diferentes estresses ambientais, as quais dependem do equilíbrio entre sua produção e sua eliminação (SHARMA et al., 2012).

Para eliminar o excesso de EROs, as plantas apresentam sistemas enzimáticos antioxidantes e não-antioxidantes que constituem importante defesa primária contra os radicais livres gerados sob condições de estresse, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX); bem como a osmoproteção por solutos compatíveis e removedores de radicais livres, como a prolina (YANG et al., 2015; SZABADOS; SAVOURE, 2009; LISAR et al., 2012).

Nesse sentido, a indução de melhorias na fisiologia e morfologia do feijão-caupi torna-se uma estratégia importante para a viabilidade do cultivo no semiárido. O estresse hídrico pode ser atenuado por meio da aplicação de indutores de tolerância, tais como o silício (FERRAZ et al., 2014) e a prolina (ARDABILI et al., 2013; MERWAD et al., 2018).

O silício (Si) é um elemento químico benéfico aos vegetais por proporcionar aumento na produtividade de diversas culturas, reduzir o excesso de metais potencialmente fitotóxicos e promover maior tolerância às situações de estresse, seja hídrico ou salino (RODRIGUES et

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

A prolina contribui com o estabelecimento de membranas e proteínas, na eliminação de radicais livres e no ajuste do potencial redox da célula em condições de estresse, em que suas concentrações geralmente são proporcionais ao nível de tolerância da espécie estudada (ARDABILI et al., 2013; MERWAD et al., 2018).

Em alguns estudos, os pesquisadores mostram que a aplicação de prolina em plantas submetidas a estresses ambientais provoca efeito preventivo ou de recuperação, entretanto, altas doses podem ser prejudiciais, causando efeitos inibitórios sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas e, mais especificamente, causando desbalanço metabólico (DEUSCHLE et al., 2001; HARE et al., 2003; ARDABILI et al., 2013; ASHRAF, 2007).

Assim, considerando-se a importância da produção do feijão-caupi no Nordeste e a necessidade de melhoria na eficiência no uso da água para os sistemas de produção irrigados, faz-se necessária a realização de pesquisas que visem a promoção de cultivares promissores com maior tolerância ao déficit hídrico e a caracterização fisiológica e bioquímica dos mecanismos antioxidantes e de ajustamento osmótico, bem com o entendimento da atuação da prolina e do silício como agentes mitigadores do déficit hídrico.

Objetivou-se avaliar a ação da prolina e do silício como atenuadores do déficit hídrico na cultivar BRS Guariba de feijão-caupi, cultivada sob irrigação deficitária durante 14 dias dando ênfase para sua influência sob aspectos bioquímicos e fisiológicos.

2. METODOLOGIA

2.1 Localização, delineamento e fatores estudados

O presente estudo foi realizado em uma área experimental da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) / (Horto Florestal Lauro Pires Xavier) e no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal de Plantas Cultivadas (ECOLAB) da UEPB, localizado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias (Campus I), ambos situados em Campina Grande-PB, Brasil (07° 13' 50" de latitude, 35° 52' 52" de longitude e 551 m de altitude).

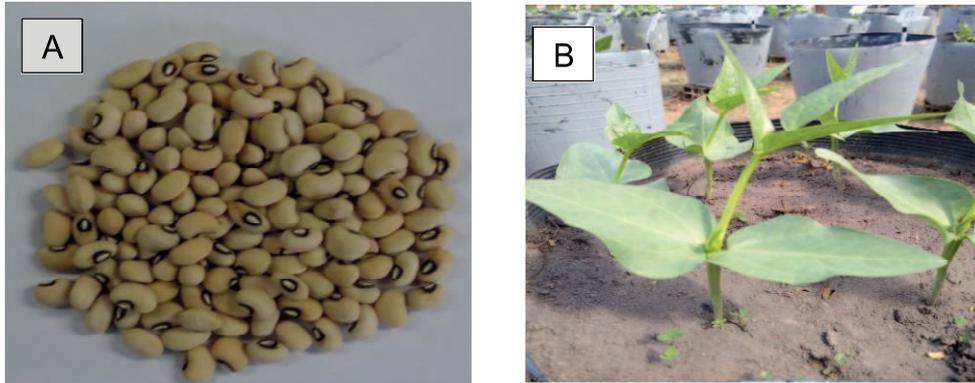
O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), onde foram estudados dois fatores: reposição hídrica (RH) e a aplicação de dois atenuadores isolados e combinados (Prolina - Pro e/ou Silício- Si), além de um controle (CTRL). Para tanto, a combinação dos níveis dos dois fatores (4 ATE x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

O atenuador 'Si' foi composto por dois níveis de concentração (zero e 0,15 g L⁻¹), ajustados de Ferraz et al. (2014) na forma de silicato de potássio (K₂SiO₃), cuja fonte utilizada foi o silício líquido comercial (Sifol®), com as seguintes características: Silício (Si) = 12%; Potássio (KO) = 15%; índice salino = 26; condutividade elétrica = 1,93 dS m⁻¹; densidade = 1,40 g L⁻¹; pH = 10,96; natureza física = líquido. A 'Pro' teve dois níveis de concentração (zero e 0,69 g L⁻¹), de acordo com Merwad et al. (2018). Já a combinação de 'Pro+Si, foi aplicada com as duas doses: PRO 0,69 g L⁻¹ + SI 0,15 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 à 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 evapotranspiração) (DUTRA et al., 2015). Ressalta-se que a irrigação foi efetuada diariamente, tendo como base a taxa de evapotranspiração.

A cultivar utilizada foi o BRS Guariba (Figura 1), com porte semiereto, crescimento indeterminado e ciclo fenológico entre 65-70 dias (EMBRAPA, 2018), adquirido no Banco de Germoplasma da Embrapa Meio Norte e armazenado em embalagens impermeáveis no Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas da UEPB, até a instalação do experimento.

Figura 1 – ‘BRS’ Guariba, cultivar utilizada 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, no período de setembro a dezembro de 2018, sendo distribuídos em 4 linhas, cada linha com 8 vasos, totalizando 32 parcelas experimentais, com um espaçamento de 1 m entre linhas e 0,8 m entre vasos (Figura 2).

Figura 2 - Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo em delineamento inteiramente casualizados. Campina Grande, PB, 2018.



Fonte: Santos (2018)

As sementes de feijão-caupi utilizadas no experimento, foram triadas com o objetivo de eliminar aquelas que continham danos físicos, biológicos e/ou má formação. Após a triagem, as sementes foram pesadas e transferidas para rolo giratório, construído de tubo de PVC, juntamente com fungicida (Captan®) na concentração de $0,22 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de sementes, mantendo-o sob rotação durante 5 minutos e, em seguida, as sementes permaneceram 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) e em seguida corrigido e adubado conforme o resultado da análise. A correção da salinidade foi realizada utilizando sulfato de cálcio, e 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.

As aplicações foliares da prolina e do silicato de potássio, de forma isolada e conjunta, ocorreram na fase V9 (último nó com trifólio aberto, antes da floração). Após 14 dias da aplicação, ocorreram as coletas de todo o material foliar utilizado para as avaliações.

A reposição hídrica foi realizada diariamente, com base na taxa de evapotranspiração onde o cálculo foi efetuado a partir da área do vaso, estágio fenológico e evaporação diária fornecida por um atmômetro modelo JR-120 da Soilcontrol.

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

Características físicas		Características químicas	
Granulometria (%)		Cálcio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	1,42
Areia	86,63	Magnésio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	1,50
Silte	9,04	Sódio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	0,84
Argila	4,33	Potássio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	0,21
Classificação textural	Areia franca	S ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	3,97
Densidade do solo(g/cm^3)	1,44	Hidrogênio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	0,64
Densidade de partículas(g/cm^3)	2,72	Alumínio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	0,00
Porosidade	47,06	T ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$)	4,61
Umidade	40%	Carbonato de Cálcio Qualitativo	Ausência
		Carbono orgânico (%)	0,51
		Matéria orgânica (%)	0,88
		Nitrogênio	0,05
		Fósforo Assimilável mg/100g	1,35
		pH H_2O (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 V9, avaliou-se a área foliar total (AFT) e a massa seca total da parte aérea (MST). A área foliar total (cm^2) de cada planta foi estimada utilizando-se um medidor de área foliar modelo Li-cor 3100 (Li-Cor Corporation, USA). Quanto à massa seca, as plantas com

sua parte aérea, 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 3). Posteriormente, o material vegetal foi pesado em balança analítica.

Figura 3 – Estufa para secagem do material para posterior obtenção da massa seca, Campina Grande, PB, 2019.



Fonte: Santos (2018).

2.3.2 Variável Fisiológica

Para a análise do conteúdo relativo de água (CRA em %), no estágio V9, folhas foram coletadas, depois pesadas em balança analítica para verificar a massa fresca das folhas (MF). Em seguida, as folhas 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:
$$\text{CRA (\%)} = \frac{(MF-MS)}{(MT-MS)} \times 100$$
 (IRIGOYEN et al., 1992).

2.3.3 Variáveis Bioquímicas

As determinações bioquímicas foram mensuradas no estágio V9. Para a obtenção do extrato vegetal, foram pesados e macerados, para a extração enzimática, 200 mg de tecido foliar fresco (o folíolo central da primeira trifoliar de cada tratamento), separadamente, em 2 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 7) acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM, EDTA 0,1 mM e polivinilpirrolidona a 3%) (NAKANO; ASADA, 1981).

Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 14.000 rpm, 4 °C, durante 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para microtubos de 2,5 mL, os quais foram mantidos em freezer a -20 °C até o momento das análises.

A atividade da Ascorbato peroxidase (APX) foi calculada com base no consumo do ascorbato (NAKANO; ASADA, 1981) por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância a 290 nm em cubeta de quartzo. Foram misturados 100 µL de extrato enzimático ao meio de reação (2,7 mL), composto por tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 6,0) acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). Em seguida, a reação foi iniciada pela adição de 200 µL de peróxido de hidrogênio 2 mM e monitorado o decréscimo da absorbância durante 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10 segundos. Os cálculos foram mensurados pela lei de Lambert Beer, adaptados por Ahmed et al. (2016), conforme a equação a baixo:

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

Act: Atividade enzimática expressa em nmol / min / mg 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 (1cm, valor utilizado na pesquisa)

p: teor de massa fresca em mg

Δt : Tempo de leitura em min

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

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada conforme Sudhakar et al. (2001), a qual é definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima presente no extrato. Iniciou-se a reação pela adição do extrato enzimático (150 μL) à cubeta de quartzo, contendo 1950 μL de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,5), 150 μL do tampão de extração (ácido ascórbico 0,1 mM, EDTA 0,1 mM e polivinilpirrolidona a 3%), 750 μL da solução do peróxido de hidrogênio (50 mM) (MISHRA, 1976). Após uma leve agitação, a solução foi levada a espectrofotômetro, regulado em 240 nm, onde foi observado o decréscimo da absorbância, durante o período de 2 minutos, com leituras realizadas a cada 10 segundos.

Já os cálculos foram realizados pela equação de Lambert Beer, adaptados por 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 H_2O_2 $\text{min}^{-1} \text{ g MF}^{-1}$.

A quantificação de prolina livre foi determinada pelo método colorimétrico proposto por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011). Foram pesados e macerados 0,25 g de tecido foliar fresco (estádio V9), em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL) e centrifugado a 2.000 rpm por 10 minutos.

Posteriormente, o sobrenadante foi retirado e utilizado nas determinações. Tubos de ensaio contendo a mistura extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1:1 (volume total 3 mL) permaneceram durante uma hora em banho-maria a 100 °C. Em seguida, os mesmos foram resfriados em banho de gelo, sendo posteriormente adicionados 2 mL de tolueno, os quais foram agitados em agitador de tubos tipo Vortex por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos, para que ocorresse a separação das fases. As leituras do sobrenadante foram realizadas em espectrofotômetro a 520 nm, utilizando o tolueno puro como branco. A concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L-prolina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 mg L^{-1}) e expressa em $\mu\text{mol gMF}^{-1}$. A média da absorbância obtida nas duplicatas foi utilizada para o cálculo de prolina.

2.4 Análises Estatísticas

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indicadores de Crescimento

Ao analisar a massa seca total da parte aérea (Gráfico 1) em plantas do estágio V9, pode-se observar diminuição significativa de 40,4% na lâmina W50 sem a aplicação de atenuadores, quando comparada à lâmina W100 também na ausência de atenuadores. Taiz et al. (2017) relatam que modificações fenológicas, controle estomático, estruturas morfoanatômicas capazes de reduzir as perdas de água, ajuste osmótico e o aprofundamento do sistema radicular são algumas das adaptações que podem ocorrer como resultado do déficit hídrico em detrimento à diminuição da sua massa seca total.

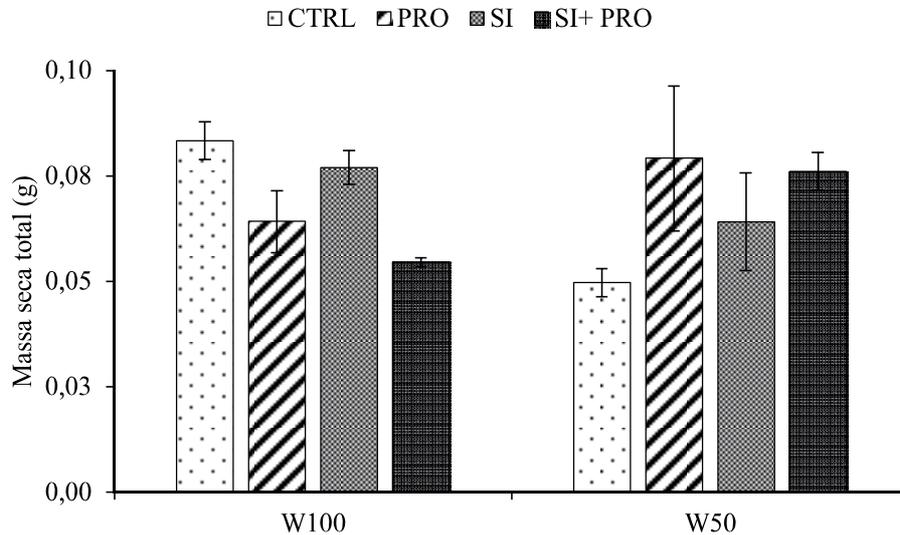
Na lâmina W100, não houve diferença estatística entre os tratamentos com atenuadores, comparados ao tratamento na ausência dos mesmos. Na lâmina em estresse, W50, quando adicionado os atenuadores Pro, Si e Si+Pro as plantas aumentaram os valores médios de massa seca em 59,31%, 29,06% e 53,17%, respectivamente, quando comparados ao tratamento W50 na ausência de atenuadores, mesmo não havendo diferença estatística entre eles (Gráfico 1). Ao adicionar a prolina de forma isolada, observou-se que esse atenuador apresentou o maior valor médio dentre os tratamentos estudados, neste caso é possível que a prolina exerça funções importantes na planta, entre elas, a reserva de carbono, a desintoxicação do excesso de amônia e a estabilização de membranas (KAVI KISHOR et al., 2005). Os mesmos autores relatam, ainda, que a prolina pode interagir com enzimas para preservar a estrutura e a atividade das proteínas estruturais, o que aumenta seu esqueleto carbônico, conseqüentemente sua massa seca total.

Segundo El-samad et al. (2011), em trabalho realizado com plantas de milho e fava, em diferentes condições de estresse hídrico, a massa seca das plantas diminuiu em todos os tratamentos em estresse e o tratamento com prolina a 10 mM adicionada no solo recuperou o crescimento dessas plantas.

Ao adicionar o silício, também houve aumento na massa seca total da parte aérea das plantas de feijão-caupi, esse aumento, provavelmente, ocorreu devido ao acúmulo desse nutriente nas folhas, o qual pode ter atuado na manutenção dos processos metabólicos e no *status* hídrico, em consequência de menor perda de água por transpiração foliar (PEREIRA et al., 2004; TAIZ et al., 2017).

Esse aumento da MST quando adicionado os atenuadores PRO e SI de forma isolada, na lâmina em estresse (W50), pode ter sido favorecido pelo o aporte hídrico (CRA- Gráfico 3), onde provavelmente os processos fotossintéticos não foram afetados, repercutindo na produção de biomassa, e conseqüentemente um aumento da MST. O que pode ser corroborado por Araújo et al.,(2018), que trabalhou com aplicação de silício e verificou que este aumentou tanto o CRA quanto a MST quando as plantas de feijão foram submetidas ao estresse hídrico.

Gráfico 1- 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: Santos (2019).

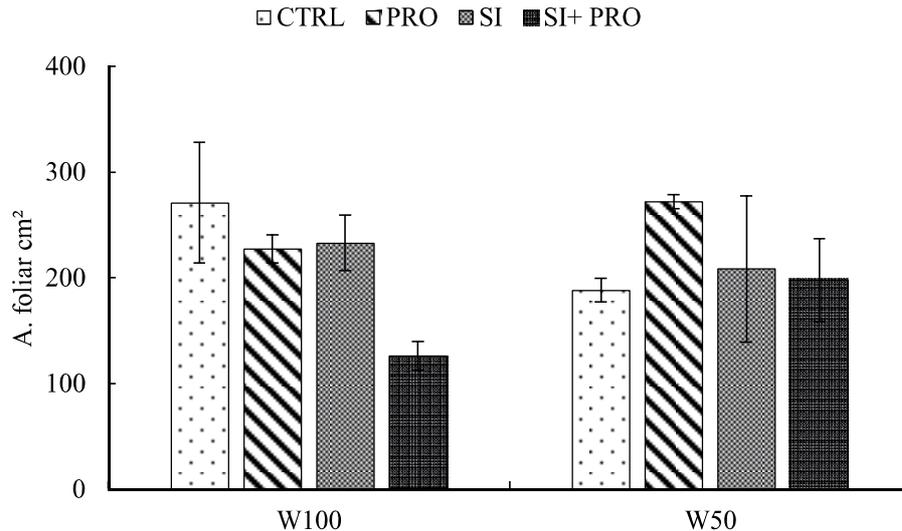
Ao analisar a área foliar, embora não significativa, pôde-se observar que houve diminuição de 30,53% no nível de reposição hídrica W50 na ausência de atenuadores, quando comparado ao nível de reposição hídrica W100 também sem atenuadores (Gráfico 2). Com área foliar menor a planta transpira menos, conservando, efetivamente, um suprimento de água limitado no solo por um período mais longo. Portanto, a redução da área foliar pode ser considerada a primeira linha de defesa contra a seca (ANJUM et al., 2011) e de acordo com Taiz et al. (2017) as plantas utilizam três principais mecanismos contra a deficiência hídrica: fechamento estomático, que reduz as perdas de água pela evapotranspiração; redução da expansão foliar, que reduz a área foliar transpirante; e alongamento das raízes, que permite às plantas obter água em camadas profundas do solo. Como consequência, a redução da área foliar poderá afetar a fotossíntese, resultando na redução do crescimento das plantas (HUANG, 2018). É evidente que nessas condições a restrição hídrica que causou redução do CRA (Gráfico 3), também provocou a redução da AFT (Gráfico 2) como forma de defesa e consequente diminuição na produção de MST (Gráfico 1).

No nível de reposição hídrica, quando adicionada prolina de forma isolada, houve aumento no valor médio da área foliar de 44,60% em relação ao tratamento na mesma condição hídrica sem atenuadores (Gráfico 2). O efeito mitigador da aplicação de prolina, sobre os efeitos nocivos da restrição hídrica no solo, se confirma com o ganho expressivo em CRA, MST e AFT (Gráfico 3, 1 e 2). Isso indica que esse atenuador foi benéfico, uma vez que proporcionou o desenvolvimento da cultura, mesmo sob restrição hídrica, atuando possivelmente como um indutor de tolerância ao estresse. Tem sido proposto que as folhas acumulam mais prolina para manter a taxa de divisão celular, o turgor e o conteúdo de clorofila para manter a atividade fotossintética, mesmo sob estresse hídrico. Resultados similares foram encontrados, por exemplo, em milho (FREITAS, 2013) e arroz (HASANUZZAMAN et al., 2014), ambos em estresse hídrico.

Na lâmina W100, mesmo irrigado pode se perceber uma diminuição de 53,57% no tratamento PRO+SI, quando comparado ao controle desta lâmina. Em trabalhos como em

pimentão a aplicação de doses elevadas de prolina via foliar, possivelmente provocaram alterações no pH citosólico e no estado redox, causando danos irreversíveis às membranas celulares das plantas, afetando severamente o crescimento e a área foliar do pimentão. (LIMA, et al.,2016).

Gráfico 2 – 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



Fonte: Santos (2019).

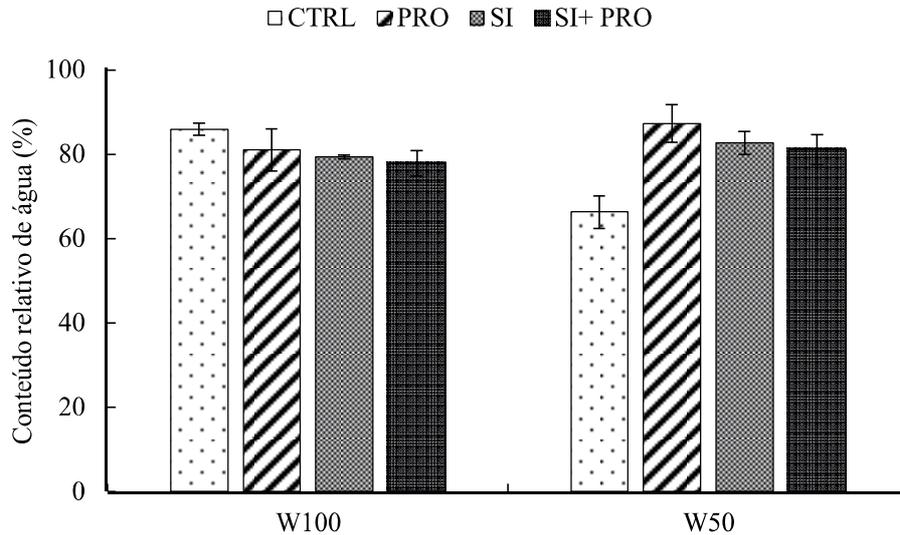
3.2 Conteúdo Relativo de Água (CRA)

Ao analisar o conteúdo relativo de água (CRA) em folhas, no estágio V9 (Gráfico 3), observou-se que, em condições de restrição hídrica (W50), sem atenuadores, houve diminuição de 29,6% em relação ao controle (W100). Deve-se salientar que em condições de estresse hídrico, a expansão celular e a síntese da parede celular são as primeiras alterações fisiológicas comprometidas (TAIZ et al., 2017), de modo que esta redução ocasionou redução no acúmulo de matéria seca, notadamente, pela limitação do crescimento do feijoeiro sob déficit hídrico (CARVALHO et al., 2016).

Avaliando apenas a nível de reposição hídrica W50, observou-se que houve diferença significativa após a aplicação dos atenuadores, quando comparados ao sem atenuadores (Gráfico 3). No tratamento com a aplicação de prolina, as plantas alcançaram 87% de CRA, mesmo sobre estresse, sendo o atenuador que apresentou o maior valor médio para esta variável. Com a aplicação do silício, as plantas aumentaram 24,7% seus níveis de CRA em relação ao tratamento W50 na ausência de atenuadores, alcançando o valor médio de 82% do seu conteúdo relativo de água (Gráfico 3). Ao aplicar os dois em conjuntos, houve diferença significativa e registrou estabilidade. Esse comportamento pode ser atrelado ao efeito responsivo do Si e da PRO sobre os processos de ajuste osmótico (FERRAZ et al., 2015; MERWAD et al., 2018). No milho, por exemplo, a adição de Si aumentou a eficiência do uso da água, reduzindo a transpiração da folha e a taxa de fluxo de água no vaso do xilema (GAO et al., 2006). Segundo Liu et al. (2015), o uso de atenuadores como a prolina e o silício está envolvido no aumento da expressão de aquaporinas presentes na membrana plasmática, que

contribuem para o aumento da absorção de água do solo, mesmo em condições de baixa disponibilidade de água.

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: Santos (2019).

3.3 Teor de Prolina Livre

Na ausência de atenuadores, pôde-se constatar aumento de 80,23% do teor de prolina livre, quando as plantas foram submetidas ao estresse, quando comparadas a lâmina W100, também sem atenuadores (Gráfico 4). A prolina é aminoácido responsável pelo ajustamento osmótico, auxiliando na manutenção da integridade das membranas celulares contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio e na manutenção da turgescência celular (TAIZ et al, 2017), podendo ser acumulada na planta para proporcionar tolerância a estresses abióticos, principalmente o hídrico e salino (GILL;TUTEJA, 2010).

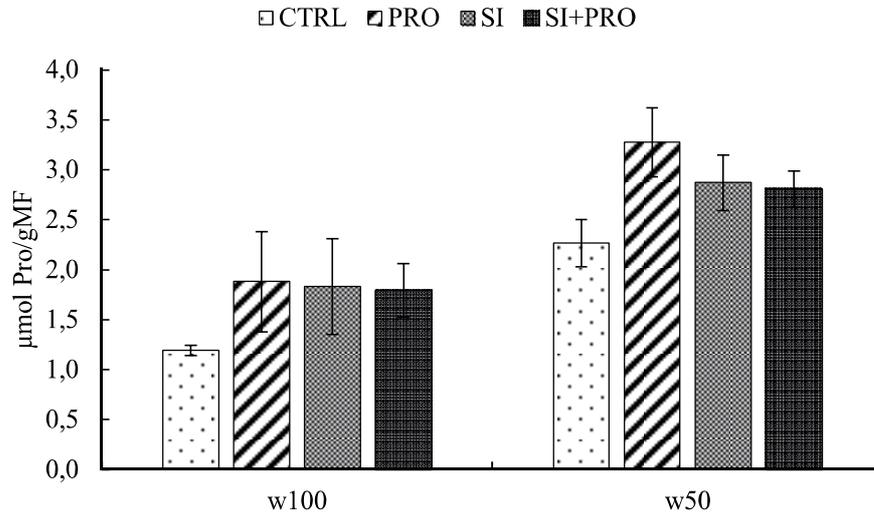
Quando aplicada a prolina exógena na lâmina W50, pôde-se observar aumento significativo de 44,60% comparado à mesma lâmina na ausência de atenuadores (Gráfico 4).

Pode-se inferir que este aumento está relacionado com aplicação exógena da prolina, que estimulou o mecanismo de osmorregulação, indicando que o feijão-caupi acumula este aminoácido quando exposto a baixas quantidades de água, com o intuito de proteger as estruturas celulares dos danos provocados durante o período de estresse, esses dados corroboram, com o encontrado no trabalho de Meward et al. (2018), onde foi observado aumento do teor de prolina livre, quando aplicada a prolina exógena. Está bem documentado que a exposição a condições adversas induz o acúmulo de prolina livre na planta, por meio do aumento da síntese ou inibição da sua degradação, o que pode melhorar a tolerância a vários estresses abióticos especialmente o hídrico e o salino (GILL; TUTEJA, 2010).

Ao aplicar o silício de forma isolada (SI) e associado à prolina (SI+PRO) na lâmina W50, apesar de não haver diferença significativa, pôde-se observar aumentos de 26,79% e 23,96%, respectivamente, quando comparado à mesma lâmina na ausência de atenuadores (Gráfico 4). Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Ouzounidou, et al. (2016), os quais verificaram aumento de prolina na espécie *Cucumis sativus* L., condicionada

à salinidade e tratada com silício. Para esses pesquisadores, o Si promoveu maior tolerância ao estresse salino, possivelmente pelo ajustamento osmótico.

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: Santos (2019).

3.4 Ascorbato Peroxidase (APX)

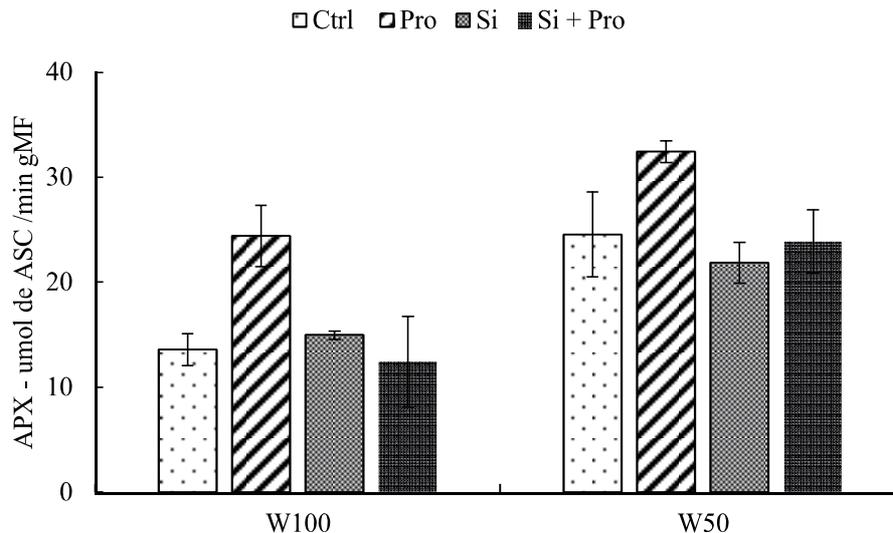
Ao analisar a APX, pôde-se observar um aumento significativo de 60,65% na lâmina W50 na ausência de atenuadores, quando comparada à lâmina W100, também sem atenuadores (Gráfico 5). O aumento na atividade da APX mostrou a importância dos antioxidantes como mecanismo de defesa em resposta ao agravamento do déficit hídrico, prevenindo o estresse oxidativo (NIKOLAEVA et al., 2017). Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam ativação de sistemas de defesa da do feijoeiro, uma vez que as enzimas do mecanismo antioxidativo das plantas estão presentes em diferentes compartimentos celulares e contribuem efetivamente para o controle das EROs, o que confere a homeostase redox no sistema, destacando-se entre essas enzimas a ascorbato peroxidase, responsável pela remoção de peróxido de hidrogênio do sistema (GIL;TUTEJA,2010)

Entre os atenuadores aplicados na lâmina W50, a aplicação de prolina de forma isolada aumentou significativamente em 32,12% a atividade da APX, quando comparada ao tratamento sem atenuadores na mesma lâmina (Gráfico 5). A prolina tem mostrado funcionar como uma chaperona molecular, capaz de proteger a integridade de proteínas e aumentar a atividade de enzimas responsáveis pela eliminação das espécies reativas de oxigênio. Além disso, pode reduzir a peroxidação de lipídeos, proteger o aparato fotossintético e restaurar o equilíbrio oxidorreduutivo (SZABADOS; SAVOURÉ, 2009). Nos trabalhos de Meward et al. (2018), Yan et al. (2000), Hua e Guo (2002), todos trabalhando com uso de prolina exógena em soja e feijão, em estresse salino e hídrico, também observaram aumentos na SOD e APX, o que contribuíram para maior tolerância ao estresse.

Ao adicionar Pro+Si nas plantas submetidas ao nível hídrico W50, houve aumento de 92,14% tendo uma atividade de $23,88 \mu\text{mol de ASC min}^{-1} \text{g}^{-1}\text{MF}$, quando comparado ao atenuador silício+ prolina na lâmina W100. Pressupõe-se, então, que o silício junto com a

prolina pode mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico por promover a redução de radicais livres, devido ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes, e conseqüentemente pode induzir maior tolerância ao estresse nas plantas (FERRAZ et al., 2015; ARAÚJO, 2018).

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: Santos (2019).

3.5 Catalase (CAT)

Quando avaliada a catalase, pôde-se observar aumento significativo correspondente a 35,61% no tratamento W50 sem atenuadores, comparado ao W100 na ausência de atenuadores. A CAT é uma proteína que catalisa a detoxificação de H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração, a β -oxidação dos ácidos graxos das células e o catabolismo de purinas (GILL;TUTEJA, 2010; BARBOSA et al., 2014;TAIZ et al., 2017), convertendo o peróxido de hidrogênio a H_2O e O_2 sem a necessidade de um agente redutor para a remoção do H_2O_2 (SHARMA et al., 2012), o que pode favorecer maior eficiência na remoção de altas concentrações de H_2O_2 em estresse severo (DUBEY, 2011).

Ao adicionar a prolina de forma isolada no tratamento W50, pôde-se perceber aumento no valor médio de 20,98%, quando comparado à mesma lâmina na ausência de atenuadores (Gráfico 6). A aplicação exógena de solutos orgânicos ou osmólitos nas plantas tem sido sugerida como forma de reduzir o estresse oxidativo e assim, promover o aumento da produtividade das culturas sob condições de estresse (MERWAD et al., 2018).

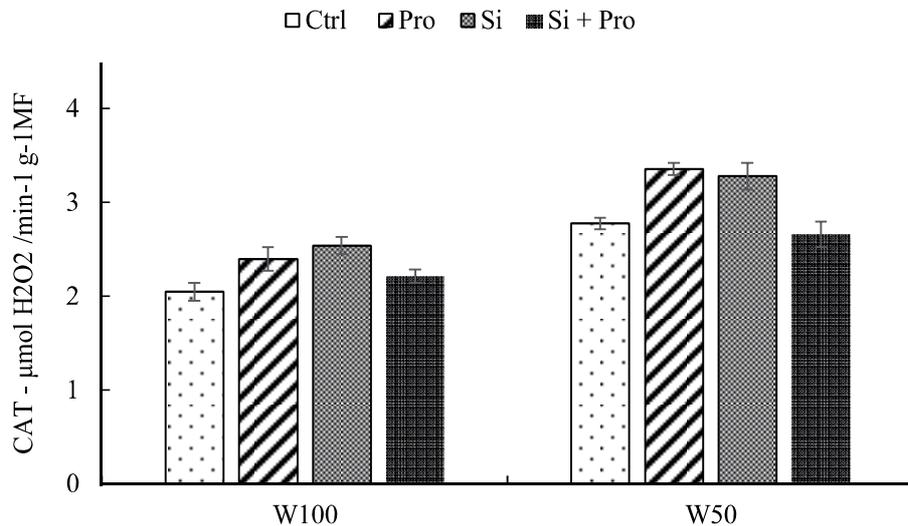
Em trabalhos como o de Butt et al. (2016), a prolina aplicada exogenamente conferiu tolerância ao estresse salino em cultura de pimenta, aumentando as atividades de APX e CAT. A aplicação de prolina também melhorou a tolerância a seca nas plantas de feijão-caupi, ativando as enzimas antioxidantes envolvidas no sistema de defesa (MEWARD, 2018).

Ainda na situação de restrição hídrica, pôde-se observar aumento na atividade da catalase de 18,21%, quando adicionado o silício de forma isolada, quando comparado à lâmina W50 sem atenuadores (Gráfico 6). Para Zanetti et al. (2016) e Ferraz et al. (2015), o Si potencializa a atividade antioxidante da CAT a qual tem alta afinidade pelo peróxido de

hidrogênio, permitindo a sua eliminação em baixas concentrações. Pressupõe-se, então, que o silício pode mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico por promover a redução de radicais livres, devido ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes, e conseqüentemente pode induzir maior tolerância ao estresse nas plantas (FERRAZ et al., 2015; ARAÚJO, et al., 2018).

Quando adicionado o SI + PRO no estresse, as plantas tiveram atividade $2,65 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de MF, representando diminuição significativa, quando comparado ao tratamento destes mesmo atenuadores de forma isolada. Alguns estudos mostram que a aplicação de prolina em plantas submetidas a estresses ambientais provoca um efeito preventivo ou de recuperação, entretanto, altas doses podem ser prejudiciais, causando efeitos inibitórios sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas e, mais especificamente, causando desbalanceamento metabólico (DEUSCHLE et al., 2001; HARE et al., 2003).

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



Legenda: Letras minúsculas diferenciam os atenuadores. Letras maiúsculas diferenciam as condições hídricas.

Fonte: Santos (2019).

4. CONCLUSÕES

Sem o uso dos atenuadores prolina e silício, o déficit hídrico causou redução do crescimento, do conteúdo relativo de água nas folhas e promoveu aumento na atividade das enzimas antioxidantes ascorbato peroxidase e catalase.

Prolina e silício aplicados de forma isolada atuaram na produção de prolina e contribuíram para o ajustamento osmótico do feijão-caupi “BRS Guariba” sob deficiência hídrica.

A aplicação da prolina de forma isolada minimizou os efeitos do déficit hídrico e contribuiu para a manutenção do crescimento do feijão-caupi “BRS Guariba” e aumento da atividade das enzimas antioxidantes ascorbato peroxidase e catalase.

REFERÊNCIAS

- 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.
- ANJUM, S.A. et al. Morphological, physiological and biochemical responses f plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011
- 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.
- ARDABILI, A. A, SADEGHIPOUR, O., ASL, A. R. The effect of proline application on drought tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). **Avances in Environmental Biology**, v. 7, n. 14, p. 4689-4696, 2013.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, n.2, p. 206-216, 2007.
- BABITA, M.; MAHESWARI, M.; RAOA, L. M.; SHANKERB, A. K.; GANGADHAR, R. D. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, v.69, n.3, p.243-249, 2010.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Revista Ciências Agrárias**, v.44, n.3, p.453-460, 2014
- BASTOS, E. A.; FERREIRA, V. M.; DA SILVA, C. R., DE ANDRADE JÚNIOR, A. S. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo do feijão-caupi no Vale do Guruguia, Piauí. **Irriga**, v. 13, n. 2, p. 182-190, 2018.
- 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.
- BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife: UFRPE, 2011. 267p
- 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. Agriculture..**, v. 53, n.1, p. 43-49, 2016.
- CARVALHO, D. F.; OLIVEIRA NETO, D. H.; FELIX, L. F.; GUERRA, J. G. M.; SALVADOR, C. A. Yield, water use efficiency, and yield esponse factor in carrot crop under differentirrigation depths. **Ciência Rural**, v.56, n.7, p.1145-1150, 2016.
- DEUSCHLE, K.; FUNCK, D.; HELLMANN, H.; DASCHNER, K.; BINDER, S.; FROMMER, W. B. A nuclear gene encoding mitochondrial D1-pyrroline5-carboxylate

dehydrogenase and its potential role in protection from proline toxicity. **Plant Journal**, v. 27, n.1, p. 345–355, 2001.

DUBEY, R. S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S. D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. **Enfield: Science Publishers**, v.9, n.1, p.178-203, 2011

DUTRA, W. F.; MELO, A. S.; 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.

EL-SAMAD, H. M. A.; SHADDAD, M. A. K.; BARAKAT, N. Improvement of plants salt tolerance by exogenous application of amino acids. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n.1, p. 5692-5699, 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. do S. 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.

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.

GAO X.; ZOU C.; WANG L.; ZHANG F. Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. **Journal of Plants Nutrition**, v.29, p.1637-1694, 2006.

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.

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.

HARE, P. D.; CRESS, W. A.; van STADEN, J. A regulatory role for proline metabolism in stimulating *Arabidopsis thaliana* seed germination. **Plant Growth Regulation**. v. 30, p. 41-50, 2003.

HASANUZZAMAN, M.; ALAM, M.M.; RAHMAN, A.; HASANUZZAMAN, K. N.; FUJITA, M. Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **BioMed Research International**, v.2, n.1, p. 1-18, 2014.

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.

HUANG, R. D. Research progress on plant tolerance to soil salinity and alkalinity in sorghum. **Journal of Integrative agriculture**, v.17, p. 739-746, 2018.

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

LEITE, L. Sistema de produção Embrapa. Cultivo de Feijão Caupi. Disponível: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaold=9109&p_r_p_-996514994_topicold=10505 Acesso: 26 mar. 2018.

LIMA, G. S.; DOS SANTOS, J. B.; DOS ANJOS SOARES, L. A.; GHEYI, H. R.; NOBRE, R. G.; PEREIRA, R. F. Irrigação com águas salinas e aplicação de prolina foliar em cultivo de pimentão ‘All Big’. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 4, p. 513-522, 2016.

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

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.

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

MERWAD, 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.

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

NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p.853-860, 2011.

NIKOLAEVA, M. K.; MAEVSKAYA, S. N.; VORONIN, P. Y. Photosynthetic CO₂ /H₂O gas exchange and dynamics of carbohydrates content in maize leaves under drought. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 64, p. 536-542, 2017.

OLIVEIRA NETO, C. F. DE; OLIVEIRA, T. B. DE; SILVA, K. R. S.; NOGUEIRA, G. A. DOS S.; MALTAROLO, B. M.; COSTA, T. C.; CARDOSO, K. P. S; SOUZA, L. C. DE; SILVA, R. T. L. DA; SIQUEIRA, J. A. M. Nitrogen compounds and enzyme activity in young muruçi (*Byrsonima crassifolia* L.) plant subjected to water stress. **Australian Journal of Crop Science**, v.10, n.1, p. 111-117, 2016

OUZOUNIDOU, G.; GIANNAKOULA, A.; ILIAS, I., ZAMANIDIS, P. Alleviation of drought and salinity stresses on growth, physiology, biochemistry and quality of two *Cucumis sativus* L. cultivars by Si application. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 531-539, 2016.

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

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.

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.; 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.

SILVA, W. C., DE MOURA, J. G., VIANA, I. E. T., NOGUEIRA, A. L. D. S. P., DA SILVA, T. M., DE OLIVEIRA, A. B. Produtividade de feijão-caupi submetido a diferentes lâminas de irrigação com uso de biofertilizante. **Revista brasileira de agricultura irrigada-rbai**, v. 12, n. 6, p. 3028-3039, 2019.

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

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.

SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: A Multifunctional Amino Acid. Trends in **Plant Sciences**, v.15, n.1, p. 89-97, 2009

TAIZ, L. ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

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.

YANG, S. L.; CHEN, K.; WANG, S. S.; GONG, M. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 3, p. 529-536, 2015

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

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder saúde, sabedoria e coragem para concluir este curso, e por fazer tudo se tornar possível;

Agradeço aos meus pais: Geane Reges dos Santos e Roberto Ricardo dos Santos, pelo amor, pela confiança, compreensão, educação, carinho, apoio, conselho e dedicação para me manter nesses cinco anos de graduação;

Agradeço a minha namorada e futura esposa Louise Fernandes, por sempre está ao meu lado desde o segundo período, me ajudando no que preciso (me ajudouuuu bastante, meu braço direito kkkkk). Você é o presente de Deus na minha, minha pérola preciosa. Te amo.

Agradeço a toda minha família e ao meu irmão Emanuel, meus avós, pelos conselhos e por todo apoio durante a minha graduação;

Ao meu orientador Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, por ter me acolhido no ECOLAB, obrigado professor, por todo conhecimento, todos os momentos de alegrias, pelas as broncas (que sempre foram bem-vindas) e pela dedicação na sua orientação;

Agradeço ao Prof. Dr Yuri pelos ensinamentos, apoio e paciência (olhe que perguntei coisa viu kkkkkk) e compreensão durante a realização das atividades laboratoriais;

Aos meus colegas do Ecolab, Auta, Yuri, Igor Renato, Caica (vulgo Venâncio), Louise, Ferraz, Wellerson e Duval por todo companheirismo e ajuda na realização das atividades;

Agradeço aos meus colegas de curso e amigos que me incentivaram para terminar esse curso, Martinho, Cassiano, Aleff, Alexandre, Juan, Geniellyson, Cleuton Igor, Dani, Dalescka, Iran, Robson, Marcelly, Thayram, Thalisson, Márcio, Wellerson, Neto, Eudes, Guilherme, Rafael, Raniere, Kelvin, Caio, Mykael por terem estado ao meu lado durante esses últimos anos, compartilhando conhecimento e aprendizado;

Agradeço a todos os professores 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;

Agradeço a Embrapa meio-norte, pela concessão das sementes utilizadas na pesquisa;

Agradeço a UEPB / CNPq pela concessão da bolsa de estudos, referente ao projeto de iniciação científica (PIBIC), e disponibilidade do espaço e equipamentos necessários para realização das atividades do referido projeto;

Agradeço a todos que constituem a Universidade Estadual da Paraíba, por disponibilizar a infraestrutura e apoio necessário durante a graduação;

Agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado

