



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

**VENÂNCIO ELOY DE ALMEIDA NETO**

**ÁCIDO SALICÍLICO E PROLINA ATENUAM O DÉFICIT HÍDRICO POR MEIO  
DE OSMORREGULAÇÃO E REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM *Vigna  
unguiculata* (L.) Walp.**

**CAMPINA GRANDE, PB**  
**2019**

VENÂNCIO ELOY DE ALMEIDA NETO

**ÁCIDO SALICÍLICO E PROLINA ATENUAM O DÉFICIT HÍDRICO POR MEIO DE OSMORREGULAÇÃO E REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM *Vigna unguiculata* (L.) Walp.**

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC de natureza “artigo”, apresentado ao Departamento Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

**Área de concentração:** Ciências Biológicas

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

**CAMPINA GRANDE, PB  
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.

A447a Almeida Neto, Venâncio Eloy de.  
Ácido salicílico e prolina atenuam o déficit hídrico por meio de osmorregulação e redução do estresse oxidativo em *Vigna unguiculata* (L.) Walp. [manuscrito] / Venancio Eloy de Almeida Neto. - 2019.  
21 p.  
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 ,  
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."  
1. Seca. 2. Osmorregulação. 3. Ácido salicílico. 4. Prolina.  
5. Feijão-caupi. I. Título  
21. ed. CDD 583.74

VENÂNCIO ELOY DE ALMEIDA NETO


ÁCIDO SALICÍLICO E PROLINA ATENUAM O DÉFICIT HÍDRICO POR MEIO DE OSMORREGULAÇÃO E REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC de natureza “artigo”, apresentado ao Departamento Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

**Área de concentração:** Ciências Biológicas

Aprovada em: 20/11/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

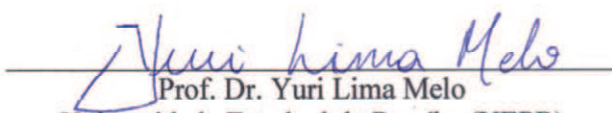


---

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

---

Profa. Dra. Dilma Maria de Brito Melo Trovão  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



---

Prof. Dr. Yuri Lima Melo  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei  
sobre ombros dos gigantes”  
(Isaac Newton)

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Conteúdo relativo de água (CRA), umidade (U), taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de expansão absoluta (TEA), massa fresca total (MFT) e área foliar total (AFT) de feijão-caupi Paulistão submetido a diferentes tratamentos na ausência (W100) e presença (W50) do déficit hídrico, acrescido de 4,0 mM de ácido salicílico (W50 + AS), 6,0 mM de prolina (W50 + PRO) e de ambos os tratamentos (W50 + AS + PRO)..... 13
- Tabela 2 - Concentração de prolina (PRO), atividade da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) de feijão-caupi Paulistão submetido a diferentes tratamentos na ausência (W100) e presença (W50) do déficit hídrico, acrescido de 4,0 mM de ácido salicílico (W50 + AS), 6,0 mM de prolina (W50 + PRO) e de ambos os tratamentos (W50 + AS + PRO)..... 15

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 METODOLOGIA.....</b>	<b>9</b>
2.1 Localização do Experimento: .....	9
2.2 Tratamentos e delineamento estatístico .....	9
2.3 Instalação e condução .....	9
2.4 Variáveis analisadas .....	10
2.4.1 Indicadores de status hídrico .....	8
2.4.2 Variáveis de crescimento e ecofisiológicas .....	9
2.4.3 Avaliação dos caracteres bioquímicos .....	9
2.5 Análises estatísticas .....	12
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>12</b>
3.1 Indicadores de status hídrico e de crescimento .....	12
3.2 Concentração de prolina e atividade de enzimas antioxidantes .....	14
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>16</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>17</b>

**ÁCIDO SALICÍLICO E PROLINA ATENUAM O DÉFICIT HÍDRICO POR MEIO DE OSMORREGULAÇÃO E REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM *Vigna unguiculata* (L.) Walp.**

**SALICYLIC ACID AND PROLIN ATTENUE WATER DEFICIT THROUGH OSMOREGULATION AND REDUCTION OF OXIDATIVE STRESS IN *Vigna unguiculata* (L.) Walp.**

Venâncio Eloy de Almeida Neto\*

**RESUMO**

Ácido salicílico e prolina são utilizados como atenuadores de déficit hídrico, podendo mitigar os efeitos negativos e deletérios do estresse. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da aplicação de doses de ácido salicílico e de prolina sobre indicadores de crescimento e da atividade enzimática antioxidante em plantas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp, genótipo Paulistão, submetidas ao déficit hídrico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 5 tratamentos: W100 - controle com 100% da reposição hídrica diária; W50 - controle com 50% da reposição hídrica diária; W50 + AS - 50% da reposição hídrica + 4 mM de ácido salicílico; W50 + PRO - 50% da reposição hídrica + 6 mM de prolina; W50 + AS + PRO- 50% da reposição hídrica + 4 mM de AS + 6 mM de PRO, com 5 repetições para cada tratamento. Para tanto, foram realizadas avaliações do status hídrico, indicadores de crescimento e atividade antioxidante em folhas do feijão-caupi sob condições de estresse hídrico. A aplicação dos atenuadores forneceu melhora nos indicadores de status hídrico em plantas submetidas ao déficit hídrico, garantindo um melhor ajustamento nos indicadores de crescimento para os mesmos. A aplicação de prolina exógena tanto de forma isolada como em associação com o ácido salicílico foi suficiente para o aumento na tolerância das plantas de feijoeiro submetidas ao déficit hídrico, devido à ação osmorreguladora pelo acúmulo de osmólitos compatíveis. A prolina e ácido salicílico podem ter atuado como removedores não enzimáticos de espécies reativas de oxigênio, desse modo, reduzindo a atividade das enzimas antioxidantes das plantas de feijão-caupi Paulistão.

**Palavras-chave:** Elicidores, Seca, Osmorregulação

---

\* Aluno de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.  
E-mail: netove7@gmail.com



## ABSTRACT

Salicylic acid and proline are used as attenuators of water deficit and can mitigate the negative and deleterious effects of stress. Thus, the objective of the present study was to evaluate the effects of the application of salicylic acid and proline doses on growth indicators and antioxidant enzymatic activity in *Vigna unguiculata* (L) plants. Walp, genotype Paulistao, submitted to water deficit. The experimental design was completely randomized, consisting of 5 treatments: W100 - control with 100% of daily water replacement; W50 - control with 50% of daily water replacement; W50 + AS - 50% water replacement + 4 mM salicylic acid; W50 + PRO - 50% water replacement + 6 mM proline; W50 + AS + PRO - 50% water replacement + 4 mM AS + 6 mM PRO, with 5 repetitions for each treatment. For this purpose, water status, growth indicators and antioxidant activity were evaluated in cowpea leaves under water stress conditions. The application of attenuators provided improvement in water status indicators in plants subjected to water deficit, ensuring a better adjustment in growth indicators for them. The application of exogenous proline either alone or in association with salicylic acid was sufficient to increase the tolerance of common bean plants submitted to water deficit due to osmoregulatory action by accumulation of compatible osmolytes. Proline and salicylic acid may have acted as non-enzymatic removers of reactive oxygen species, thereby reducing the activity of the antioxidant enzymes of Paulistao cowpea plants.

**Keywords:** Elicitors, Drought, Osmoregulation

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) destaca-se pelo seu alto valor nutritivo, fonte de aminoácidos, proteínas e nutrientes essenciais para o consumo humano, características essas que fazem dessa leguminosa uma das principais consumidas no Brasil. Além disso, o feijão-caupi tem importante valor comercial e social, por ser uma fonte de renda para populações rurais, em destaque nas regiões Norte e Nordeste (PÚBLIO-JUNIOR et al., 2017).

Todavia, mesmo sendo uma cultura de moderada adaptação às condições de solo, clima e sistemas de cultivo, em relação a outras leguminosas, o feijão-caupi encontra dificuldades em alcançar bons níveis de produtividade (SILVA et al., 2016). Um dos fatores agravantes para a redução dessa produtividade é o déficit hídrico, este que induz uma série de consequências físicas, bioquímicas e fisiológicas nas culturas vegetais, como diminuição da área foliar, alterações nos processos fotossintéticos, diminuição do potencial hídrico celular, dentre outras (FREITAS et al., 2017).

O déficit hídrico pode também induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), também conhecidos como radicais livres, causando danos oxidativos nas culturas vegetais. A síntese de EROs influenciada pela seca leva a oxidação de pigmentos fotossintéticos, lipídios de membrana, proteínas e ácidos nucleicos, gerando danos suficientes para a modificação do status redox celular (NAHAR et al., 2017).

No entanto, as plantas desenvolvem vários mecanismos na tentativa de evitar a formação de EROs, ou mesmo a eliminação destas, de tal modo que, a planta não sofra com o estresse oxidativo e em casos mais graves venha a morrer (PINTÓ-MARIJUAN E MUNNÉ BOSCH, 2014). A produção de enzimas antioxidantes é um importante mecanismo de defesa primária contra esses radicais livres, as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) merecem destaque por serem os principais participantes na remoção das EROs do interior das células vegetais (YANG et al., 2015; LISAR et al., 2012).

Outra estratégia do metabolismo dos vegetais superiores é a síntese e acúmulo de solutos orgânicos compatíveis no citosol, sendo essa uma das principais estratégias do ajustamento osmótico, mecanismo para contornar os efeitos do déficit hídrico. A prolina, por exemplo, reduz o potencial osmótico e aumenta o potencial de turgescência na célula, garantido a absorção de água e a manutenção do crescimento celular, atuando ainda como removedor de radicais livres do metabolismo vegetal (MERWAD et al., 2018).

Há atualmente tentativas para se aprimorar as qualidades fisiológicas e bioquímicas de espécies cultivadas em condições de déficit hídrico, como a utilização de substâncias indutoras exógenas ou endógenas, tais como o ácido salicílico (AS) (AGOSTINI et al., 2013) e a prolina (MERWAD et al., 2018). Com funções reguladores na germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas, o AS é um composto fenólico que auxilia na absorção e transporte de água e nutrientes, na taxa fotossintética e atua como agente antioxidante não-enzimático (KANG et al., 2014; DUTRA et al., 2017). Enquanto a prolina auxilia na formação e estabilização de proteínas e membranas celulares, participa como removedor não-enzimático de radicais livres e do ajuste do potencial redox da célula submetida ao déficit hídrico (MERWAD et al., 2018).

Desse modo, é fundamental a compreensão dos mecanismos antioxidantes e de ajustamento osmótico aliados com a aplicação de atenuadores, permitindo uma caracterização precisa do *Vigna unguiculata* (L.) Walp, e a seleção de genótipos mais resistentes às condições de seca. Além do mais, pouco se sabe sobre as formas mais eficientes de aplicação do ácido salicílico e prolina, bem como a contribuição conjunta desses dois eliciados na mitigação dos efeitos do déficit hídrico.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Localização do Experimento:

O presente estudo foi conduzido nas dependências do Complexo de Piscicultura e Produção de Mudanças, próximo à Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e as análises das plantas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp, genótipo Paulistão foram realizadas nas dependências do Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas, localizado no Complexo Três Marias, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UEPB, situado na Rua Juvêncio Arruda, s/n, Bairro Universitário, Campina Grande-PB (07° 12' 42,99'' de latitude Sul, 35° 54' 36,27'' longitude Oeste), a uma altitude de 521 metros.

### 2.2 Tratamentos e delineamento estatístico

No feijão-caupi genótipo Paulistão, durante o estágio V5, 25 dias após a emergência, foi efetuada a aplicação dos tratamentos, conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), constituído por cinco tratamentos com cinco repetições, distribuídos em 25 unidades experimentais, com parcela experimental de uma planta por vaso. Os tratamentos para simular o déficit hídrico foram: W100 e W50, equivalentes a reposições hídricas de 100 e 50% da evapotranspiração diária, determinada utilizando-se um evaporímetro (EVAPOREMETER® JR-120); além da adição de ácido salicílico (AS) e prolina (PRO) ao tratamento W50, correspondendo a: W50 + 4,0 mM de AS (W50 + AS), W50 + 6,0 mM de PRO (W50 + PRO); e a combinação W50 + AS + PRO, todos com aplicação via foliar.

### 2.3 Instalação e condução

Para o presente estudo foram utilizadas as sementes de feijão-caupi Paulistão, passando por uma prévia triagem eliminando aquelas que continham danos físicos, biológicos e/ou má formação. Após a triagem, as sementes foram pesadas e tratadas com fungicida Captan® em pó, na dosagem de 0,22 g. 100 g<sup>-1</sup> de sementes, ficando em repouso por 24 horas.

Após se elevar a umidade do solo ao nível próximo ao da capacidade de campo, foram alocadas seis sementes por vaso a uma profundidade média de 2 cm. A semeadura foi realizada manualmente em vasos de polietileno com capacidade para 20 litros, preenchidos com material de solo de textura franco-arenosa, com as seguintes características físico-químicas: pH (H<sub>2</sub>O) = 5,00; P = 36 mg dm<sup>-3</sup>; K<sup>+</sup> = 0,19 cmolc dm<sup>-3</sup>; Na<sup>+</sup> = 0,21 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> = 1,37 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> = 2,81 cmolc dm<sup>-3</sup>; Al<sup>+3</sup> = 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; H<sup>+</sup> = 3,22 cmolc dm<sup>-3</sup>; M.O. = 1,53%; N% = 0,09; areia = 659 g kg<sup>-1</sup>; silte = 101 g kg<sup>-1</sup>; argila = 240 g kg<sup>-1</sup>; densidade aparente = 1,38 g cm<sup>-3</sup>; densidade real = 2,63 g cm<sup>-3</sup>; porosidade total = 0,48 m<sup>3</sup> m<sup>-3</sup>; umidade = 75 g kg<sup>-1</sup>; argila natural = 240 g kg<sup>-1</sup>. O solo foi corrigido conforme a necessidade nutricional da espécie (MELO et al., 2005). Ainda, foram realizados tratamentos culturais de modo a manter a cultura livre de plantas invasoras, doenças e pragas.

Após a emergência das plântulas, foram realizados desbastes, deixando-se aos 7 dias após a emergência (DAE), apenas duas plantas por vaso. A aplicação dos tratamentos com e sem déficit hídrico (W100 e W50), além dos tratamentos com AS e PRO (0,0 mM – controle; 4,0 mM de AS; 6,0 mM de PRO e 4,0 mM de AS + 6,0 mM de PRO) foi realizada de forma simultânea, onde os tratamentos com atenuadores foram aplicados via foliar, por meio de pulverização até o ponto de escorrimento, no início do estágio V5, correspondendo a 25 DAE. Assim, folhas das plantas de feijão-caupi, submetidas aos diferentes tratamentos propostos no presente estudo, ficaram expostas aos tratamentos durante um período de sete dias, com posterior coleta do material vegetal para as análises laboratoriais.

## 2.4 Variáveis analisadas

Para comprovar os efeitos dos diferentes tratamentos propostos no presente estudo, aferições quanto a indicadores do status hídrico, indicadores de crescimento e variáveis bioquímicas da atividade antioxidante foram realizadas em plantas de feijão-caupi submetidas ao déficit hídrico, tratadas ou não com ácido salicílico e prolina, representados por:

### 2.4.1 Indicadores de status hídrico

Conteúdo relativo de água:

Para aferir o conteúdo relativo de água (CRA) foi utilizada a metodologia de Irigoyen et al. (1992), utilizando-se a expressão matemática:

$$CRA = (MF - MS / MT - MS) \times 100$$

Onde: “MF”, “MS” e “MT” correspondem à massa fresca, seca e túrgida do tecido vegetal.

Percentual de umidade:

O percentual de umidade (%U) foi determinado segundo Slavick (1974), utilizando-se a relação:

$$\%U = [(MF - MS) / MF] \times 100.$$

### 2.4.2 Variáveis de crescimento e ecofisiológicas

Taxa de crescimento absoluto (TCA) e Taxa de expansão caulinar (TEA):

O diâmetro do caule (DC) (mm) foi medido utilizando o paquímetro digital. A altura da planta (ALT) (cm) foi medida do colo à gema apical com uma régua graduada em centímetros. Foram realizadas duas avaliações de plantas, uma no início dos tratamentos e outra no dia da coleta das plantas, percorrendo um período de sete dias (SILVA et al., 2000).

Para a Taxa de crescimento absoluto (TCA) e Taxa de expansão caulinar (TEA), foram utilizadas as fórmulas propostas por Benicasa (2003) e Floss (2004), respectivamente:  $TCA = (A2 - A1) / (T2 - T1)$  e  $TEA = (D2 - D1) / (T2 - T1)$ , expressas em  $cm \cdot cm^{-1} \cdot dia^{-1}$ , onde A1 e D1 representam as alturas e diâmetros dos caules das plantas aferidas antes da aplicação dos atenuadores, no tempo inicial (T1); A2 e D2 são as alturas e diâmetros dos caules das plantas aferidas 7 dias após a aplicação dos atenuadores, no tempo final (T2), em dias.

Massa fresca total:

A massa fresca total foi obtida a partir da pesagem de toda parte aérea da planta, incluindo folhas, pecíolos, caule, ramos, e demais estruturas, com elas ainda frescas logo após a coleta. Para evitar a perda de água, as plantas foram retiradas e vedadas em sacos plásticos e reservados em caixas térmicas.

Área foliar total:

A área foliar total (AFT) ( $cm^2$ ) de cada planta foi obtida utilizando um medidor de área foliar Li-cor 3100 (Li-Cor Corporation, USA) (SILVA et al., 2000).

### 2.4.3 Avaliação dos caracteres bioquímicos

Extração e determinação de prolina livre (PRO):

Para quantificação de prolina livre foi utilizado o método colorimétrico proposto por Bates et al. (1973), modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011). Desse modo foram pesados e macerados 0,25 g de matéria foliar fresca no estágio V5, adicionando ácido sulfossalicílico a 3% (5mL) e centrifugando o material a 2.000 rpm por um período de 10 minutos. Após, foi retirado o sobrenadante para a utilização nas determinações.

Utilizou-se tubos de ensaio contendo o extrato + ácido acético glacial + ninhidrina ácida, na proporção de 1:1:1, totalizando um volume de 3 mL, esses tubos permaneceram

durante uma hora em banho-maria à 100° C. Em seguida, os tubos foram colocados em banho de gelo para que ocorresse a quebra da reação e fossem resfriados, sendo posteriormente adicionados 2 mL de tolueno. Os tubos foram posteriormente agitados em vortex por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos, de modo que ocorresse a separação entre as fases da reação. As leituras utilizaram a fase do sobrenadante, no espectrofotômetro à 520 nm, utilizando o tolueno puro para zerar o equipamento. Na etapa final, as concentrações de prolina livre foram quantificadas baseadas na curva padrão de L-prolina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 mg L<sup>-1</sup>) e expressa em  $\mu\text{mol gMF}^{-1}$ . As leituras foram feitas em duplicatas e as médias das absorvâncias foram utilizadas para o cálculo de prolina.

#### Extração de enzimas:

O extrato vegetal para a determinação de enzimas foi obtido a partir de 200 mg de tecido foliar fresco, macerados em 2 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 7,8), acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (0,3%). Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 5000 rpm, 4 °C, durante 20 minutos. O sobrenadante foi transferido para microtubos (2 mL), os quais foram mantidos em *freezer* até o momento das análises.

#### Superóxido dismutase (SOD):

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base na capacidade de inibição da fotorredução do cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) pela enzima presente no extrato vegetal (GIANOPOLIS e REIS 1977). Aliquotas de 100  $\mu\text{L}$  foram adicionados em tubos de ensaio, protegidos da luz, contendo o meio de reação (1900  $\mu\text{L}$ ) composto por tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,8) acrescido de EDTA (0,1 mM), metionina (13 mM) e NBT (750  $\mu\text{M}$ ). Em seguida, iniciou-se a reação pela adição de riboflavina (7  $\mu\text{M}$ ) e a transferência dos tubos para a caixa de reação vedada, com iluminação interna (35 w) e temperatura ambiente, onde permaneceram durante 15 minutos. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro regulado em 560 nm.

Os tubos com extrato mantidos no escuro (os quais representam 0% da inibição de NBT- branco do escuro) foram considerados como branco da reação e os tubos sem o extrato mantidos sob iluminação (os quais representam 100% da inibição do NBT- branco do claro). Deve-se ressaltar que uma unidade de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT em comparação com o branco do claro, sendo a atividade expressa em  $\text{UA min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$ .

#### Catalase (CAT):

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada conforme Kar e Mishra (1976), a qual foi definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pela enzima presente no extrato. Iniciou-se a reação pela adição do extrato enzimático (150  $\mu\text{L}$ ) a cubeta de quartzo, contendo o meio de reação que foi composto de 1950  $\mu\text{L}$  tampão de determinação (100 mM, pH 7,0); 150  $\mu\text{L}$  tampão de extração (50 mM, pH 7,5) e 750  $\mu\text{L}$  solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50 mM).

Após uma leve agitação, a solução foi levada a espectrofotômetro, regulado em 240 nm, onde foi observado o decréscimo da absorvância, durante o período de 2 minutos, com leituras realizadas a cada 10 segundos. Os cálculos foram mensurados pela lei de Lambert Beer, conforme a equação a baixo:

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

Em que: A = decréscimo da absorvância (média da triplicata);  $\varepsilon$  = coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio (39,4 mol  $\text{cm}^{-1}$ ); b = caminho óptico; c = concentração da

enzima expressa em mol L<sup>-1</sup>. A atividade da catalase foi expressa em μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg de proteína<sup>-1</sup>.

#### Ascorbato peroxidase (APX):

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi calculada com base no consumo do ascorbato (NAKANO e ASADA, 1981) por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância a 290 nm em cubeta de quartzo. Foram misturados 100 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. Já os cálculos foram realizados pela equação de Lambert Beer (Equação 1), tendo como coeficiente de extinção molar o do ascorbato (2,8 mM cm<sup>-1</sup>). A atividade final de APX foi expressa em nmol de ascorbato min<sup>-1</sup> mg de proteína<sup>-1</sup>.

### **2.5 Análises estatísticas**

Os dados das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ) e Teste de Tukey para as médias ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa computacional Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011).

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **3.1 Indicadores de status hídrico e de crescimento**

Utilizados como importantes indicadores de tolerância à seca, o conteúdo relativo de água (CRA) e a umidade (U) são duas das principais variáveis determinantes da atividade metabólica e sobrevivência da folha, além de indicar se as folhas estão em bom *status* hídrico.

No presente estudo, tanto o CRA quanto a umidade da folha, apresentaram reduções significativas entre o tratamento na ausência (W100) e presença (W50) do déficit hídrico. Para o CRA, a redução foi de 7%, enquanto que para a umidade, a redução foi de 11% (Tabela 1).

A redução na quantidade de água no interior da planta pode levar ao déficit hídrico de tal modo que cause estresse ao vegetal, afetando processos fisiológicos essenciais para o indivíduo, como redução na taxa fotossintética, fechamento dos estômatos e redução na condutância estomática (CECHIN et al., 2015; MOTA e CANO, 2016). Geralmente as plantas tem um conjunto de respostas ao déficit hídrico, onde um mecanismo influencia no outro, por exemplo, a redução na atividade fotossintética em função do fechamento estomático causado pela diminuição do potencial hídrico desencadeia um menor suprimento de carbono para o vegetal, afetando negativamente parâmetros de crescimento da planta, como altura, diâmetro, massa fresca e seca e área foliar (FERRAZ et al., 2011; SOUZA et al., 2016).

**Tabela 1** - Conteúdo relativo de água (CRA), umidade (U), taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de expansão absoluta (TEA), massa fresca total (MFT) e área foliar total (AFT) de feijão-caupi Paulistão submetido a diferentes tratamentos na ausência (W100) e presença (W50) do déficit hídrico, acrescido de 4,0 mM de ácido salicílico (W50 + AS), 6,0 mM de prolina (W50 + PRO) e de ambos os tratamentos (W50 + AS + PRO).

Tratamento	CRA (%)	U (%)	TCA (cm dia <sup>-1</sup> )	TEA (mm dia <sup>-1</sup> )	MFT (g)	AFT (cm <sup>2</sup> )
<b>W100</b>	80,1 a*	89,8 a	0,071 b	0,135 a	11,31 a	150,09 a
<b>W50</b>	74,5 bc	80,0 b	0,100 b	0,071 b	9,56 b	159,02 a
<b>W50 + AS</b>	78,2 ab	84,9 ab	0,071 b	0,071 b	5,88 b	140,69 a
<b>W50 + PRO</b>	77,2 abc	82,1 b	0,143 a	0,071 b	11,61 a	143,29 a
<b>W50 + AS + PRO</b>	72,7 c	84,5 ab	0,071 b	0,143 a	8,29 b	125,08 a

\*Letras minúsculas comparam as médias dentro das colunas, para os diferentes tratamentos ( $P \leq 0,05$ ).

**Fonte:** elaborada pelo autor, 2019.

Contudo, após as aplicações do AS e da PRO ao tratamento W50 (W50 + AS e W50 + PRO, respectivamente), de forma isolada, observaram-se aumentos de 4,9 e 3,6% nos valores médios do CRA, quando comparados ao tratamento W50 (Tabela 1). Em condições de déficit hídrico, a aplicação de AS de forma isolada (W50 + AS) e associada à prolina (W50 + AS + PRO), observaram-se aumentos de aproximadamente 6% do CRA em ambos os tratamentos, comparados a W50 (Tabela 1).

O ajustamento osmótico contribui para a manutenção do *status* hídrico vegetal através do acúmulo de osmólitos compatíveis, como a prolina, que garantem a manutenção de água nos tecidos vegetais, resultando em condições fisiológicas estáveis sob condições de estresse (OLIVEIRA-NETO et al., 2016).

Já análises referentes a indicadores de crescimento são técnicas valiosas para entender a fisiologia do vegetal sobre a influência de determinadas variáveis ambientais, genéticas e/ou agronômicas, permitindo um acompanhamento do desenvolvimento das plantas em diferentes intervalos de tempo.

Após 7 dias de submissão aos diferentes tratamentos, observou-se que o déficit hídrico (W50) reduziu a taxa de expansão absoluta caulinar (TEA) e a massa fresca total (MFT) em 47 e 15%, respectivamente, comparados aos seus respectivos tratamentos W100 (Tabela 1). A taxa de crescimento absoluta e a altura foliar não foram afetadas pelo déficit hídrico.

Limitações no crescimento dos vegetais observado no presente estudo ocorreram devido ao déficit hídrico que leva a perda do potencial hídrico celular, promovendo a diminuição da divisão celular, assim como no alongamento celular, acarretando redução no crescimento e desenvolvimento do vegetal (NASCIMENTO et al., 2011).

A aplicação de AS de forma isolada não provocou alterações significativas nos diferentes indicadores de crescimento. Contudo, após a aplicação de PRO de forma isolada ao tratamento W50 (W50 + PRO), verificou-se aumentos de 101% na TCA e 21% na MFT, quando comparados aos seus respectivos tratamentos W50 (Tabela 1). Adicionalmente, a aplicação de PRO associada ao AS nas plantas submetidas ao déficit hídrico (W50 + AS + PRO), aumentou a TEA em 101%, comparada ao tratamento W50 (Tabela 1).

A aplicação da prolina de forma isolada como atenuador para essas variáveis foi satisfatória, principalmente para a TCA e a MFT, assim como a sua ação associada ao AS na variável TEA. A prolina é um aminoácido constituinte de proteínas celulares, atuando no

crescimento e desenvolvimento do vegetal, levando ainda a uma maior tolerância ao estresse hídrico (MERWAD et al., 2018). A aplicação exógena desse aminoácido como atenuador pode aumentar sua disponibilidade para o vegetal, levando a uma maior síntese proteica, aporte hídrico e contribuindo no crescimento da planta (SHARMA et al., 2012).

### **3.2 Concentração de prolina e atividade de enzimas antioxidantes**

Ao avaliar a concentração de PRO nas folhas do genótipo Paulistão, verificou-se um aumento de 84% deste osmólito no tratamento W50, quando comparado ao tratamento W100 (Tabela 2).

A prolina é um aminoácido que exerce importante papel como molécula sinalizadora em plantas submetidas ao estresse hídrico, desencadeando uma série de respostas que fazem parte do processo de ajustamento osmótico, a partir do acúmulo desse aminoácido na planta, garantindo maior tolerância aos estresses abióticos (GIL; TUTEJA, 2010). Estudos feitos por Monteiro et al. (2014) com feijão guandu mostraram como a síntese de prolina é induzida em plantas submetidas as condições de estresse biótico e abiótico, desempenhando papel essencial na manutenção da turgescência celular.

Em condições de déficit hídrico, as aplicações de PRO (W50 + PRO) e AS associada à PRO (W50 + AS + PRO) promoveram aumentos de 30 e 102%, respectivamente, quando comparados ao tratamento W50 (Tabela 2).

O acúmulo de prolina no interior das células vegetais geralmente é correlacionado com a capacidade de tolerância da planta quando submetida ao déficit hídrico, de tal modo que, maiores concentrações desse aminoácido são encontradas em indivíduos mais tolerantes e menores concentrações em indivíduos sensíveis ao déficit hídrico (ASHRAF e FOOLAD, 2007). Desse modo, a prolina atua efetivamente como um mecanismo de osmorregulação, buscando proteger a planta dos efeitos negativos e danosos oriundos do déficit hídrico.

A aplicação de prolina exógena em plantas já submetidas ao déficit hídrico pode ter contribuído no incremento desse aminoácido no citoplasma celular do vegetal, o que pode ter gerado efeitos benéficos na manutenção do status hídrico da planta e de indicadores de crescimento. A aplicação de prolina exógena ofereceu resultados semelhantes nos trabalhos de Ferraz et al. (2015) e Merwad et al. (2018), devido a melhoria na estrutura morfofisiológica da planta que ofereceu melhor aproveitamento da água disponível no solo.



**Tabela 2** – Concentração de prolina (PRO), atividade da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) de feijão-caupi Paulistão submetido a diferentes tratamentos na ausência (W100) e presença (W50) do déficit hídrico, acrescido de 4,0 mM de ácido salicílico (W50 + AS), 6,0 mM de prolina (W50 + PRO) e de ambos os tratamentos (W50 + AS + PRO).

Tratamentos	PRO ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	SOD (UA $\text{mg}^{-1}$ prot $\text{min}^{-1}$ )	APX ( $\mu\text{mol asc min}^{-1}$ $\text{mg}^{-1}$ prot)	CAT ( $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ $\text{mg}^{-1}$ prot)
W100	0,79 d	269,75 cd	9,36 b	0,36 ab
W50	1,46 c	604,66 a	17,60 a	0,47 a
W50 + AS	1,23 c	188,75 d	4,32 c	0,25 b
W50 + PRO	1,91 b	390,58 b	8,36 b	0,24 b
W50+AS+PRO	2,95 a	292,97 c	8,47 b	0,46 a

\*Letras minúsculas comparam as médias dentro das colunas, para os diferentes tratamentos ( $P \leq 0,05$ ).

**Fonte:** elaborada pelo autor, 2019.

Ao avaliar as atividades das enzimas antioxidantes, verificou-se aumentos nas atividades da SOD (124,1%), APX (88%) e CAT (30,5%) em condições de déficit hídrico (W50), comparado ao tratamento controle (W100) (Tabela 2).

Em plantas submetidas ao déficit hídrico, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que em excesso podem afetar diretamente a fisiologia e metabolismo do vegetal, podendo levar até a morte celular (MAIA et al., 2012; LISAR et al., 2012; BARBOSA et al., 2014). No entanto, mecanismos de defesa são comumente acionados nessas situações, bem representados pelas enzimas antioxidantes, superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase que estão totalmente relacionadas com mecanismos de sinalização e defesa da planta contra o déficit hídrico, auxiliando na remoção das EROs (BARBOSA et al., 2014). O incremento na atividade das enzimas SOD, CAT e APX, em plantas de feijoeiro em estágio de desenvolvimento inicial submetidas ao déficit hídrico foi observado também em trabalho de Dutra et al. (2017).

Após a aplicação do AS de forma isolada ao tratamento com déficit hídrico (W50 + AS), observou-se reduções nas atividades da SOD (68,7%), APX (75,4%) e CAT (46,8%). Da mesma forma, a aplicação isolada de PRO ao tratamento W50 (W50 + PRO) reduziu as atividades da SOD em 35,4%, da APX em 52,5% e da CAT em 48,9%, comparados ao tratamento W50 (Tabela 2). Adicionalmente, a aplicação de AS associada à PRO, no tratamento com déficit hídrico (W50 + AS + PRO) provocou reduções nas atividades de SOD e APX de aproximadamente 51,5% e 51,8%, respectivamente (Tabela 2).

No presente estudo, é possível que a aplicação exógena de prolina e ácido salicílico tenha influenciado positivamente sobre a osmorregulação por meio do acúmulo de compostos nitrogenados, além disso, esses atenuadores podem ter atuado, de forma direta ou indireta, como compostos não enzimático, removendo os radicais livres em excesso no citoplasma celular da planta, dessa forma, contribuindo para a redução na atividade das enzimas antioxidantes estudadas (SIGNORELLI et al., 2014).

Em síntese, a redução da atividade enzimática nos tratamentos com atenuadores foi suprida pela ação destes que atuaram tanto como moléculas não enzimáticas, removendo EROs, como produtos da osmorregulação no ajustamento osmótico, desse modo, garantindo à cultura estudada melhor tolerância ao déficit hídrico.

#### **4 CONCLUSÕES**

A aplicação dos atenuadores prolina, ácido salicílico e a associação entre prolina e ácido salicílico em plantas submetidas ao déficit hídrico melhorou o status hídrico.

A manutenção do status hídrico das plantas submetidas ao déficit hídrico e tratadas com atenuadores contribuiu no ajustamento nos indicadores de crescimento.

A aplicação de prolina exógena tanto de forma isolada como em associação com o ácido salicílico foram suficientes para a melhora na tolerância das plantas de feijoeiro submetidas ao déficit hídrico devido à ação osmorreguladora.

A redução na atividade das enzimas antioxidantes pode ter ocorrido devido à ação prévia de mecanismos do ajustamento osmótico, principalmente devido ao acúmulo de prolina livre no citosol das células vegetais das plantas de feijoeiro da cultura estudada.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, E. A. T.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Induction of water deficit tolerance by cold shock and salicylic acid during germination in the common bean. **Acta Scientiarum**, v.35, n.2, p.209-219, 2013.
- 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.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciências Agrárias**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- 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.
- BEKKA, S.; ABROUS-BELBACHIR, O.; DJEBBAR, R. Effects of exogenous proline on the physiological characteristics of *Triticum aestivum* L. and *Lens culinaris* Medik. under drought stress. **Acta agriculturae Slovenica**, v.111, n.2, p. 477-491, 2018.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. V. 72, p. 248-254, 1976.
- CARVALHO, M., MATOS, M., CASTRO, I., MONTEIRO, E., ROSA, E., LINO-NETO, T.; CARNIDE, V. Screening of worldwide cowpea collection to drought tolerant at a germination stage. **Scientia Horticulturae**, v. 247, p. 107-115, 2019.
- CECHIN, I.; CARDOSO, G.S.; FUMIS, T.F.; CORNIANI, N. Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. **Bragantia**, v.74, n.2, p.200-206, 2015. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.353>.
- COLLI, S. Outros reguladores: brassinosteróides, poliaminas, ácidos jasmônico e salicílico. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 2 ed., cap. 14, p. 296-302.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.
- DUTRA, W. F.; MELO, A.S. de; SUASSUNA, J. F.; MAIA, J. M.; Dutra, A. F.; SILVA, D. C. Antioxidative Responses of Cowpea Cultivars to Water Deficit and Salicylic Acid Treatment. **Agronomy Journal**, v.109, p.895-905, 2017.
- 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 S. Photosynthetic pigments, cell extrusion and relative

leaf water content of the castor be an under silicone and salinity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 9, p. 841-8, 2015.

FERRAZ, R. L. S.; MELO, A. S.; SUASSUNA, J. F.; BRITO, M. E. B.; FERNANDES, P. D.; NUNES JÚNIOR, E. S. Trocas gasosas e eficiência fotossintética em ecótipos de feijoeiro cultivados no semiárido. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 957-964, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632012000200010>

FERREIRA D. F. SISVAR: a program for statistical analysis and teaching. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 10, p. 39-42, 2011.

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

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.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p.309-314, 1977.

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.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Role of proline under changing environments: a review. **Plant signaling & behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456-1466, 2012.

IRIGOYEN, J. J.; EMERICH, D. W; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfafa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, v. 84, n. 1, p. 55-60, 1992.

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

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.

MAIA, J. M.; SILVA, S. L. F.; VOIGT, E. L.; MACÊDO, C. E. C. de; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v. 2, n. 26, p. 342-349, 2012.

MELO, F. B.; CARDOSO, M. J.; SALVIANO, A. A. C. Fertilidade do solo e adubação. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**; Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2005. Cap. 6. p. 229-242.

- 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.
- MONTEIRO, J.G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 3, p. 416-426, 2014.
- MOTA, C.S.; CANO, M.A.O. Respostas fotossintéticas e acúmulo de massa em plantas jovens de macaúba submetida ao déficit hídrico cíclico. **Revista Caatinga**, v.29, n.4, p.850-858, 2016. <https://doi.org/10.1590/1983-21252016v29n409rc>.
- 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 ambiental**, v. 15, n. 8, p. 8, 2011.
- NAHAR, K.; HASANUZZAMAN, M.; ALAM, M.M.; RAHMAN, A.; MAHMUD, J.A.; SUZUKI, T.; FUJITA, M. Insights into spermine-induced combined high temperature and drought tolerance in mung bean: osmoregulation and roles of antioxidant and glyoxalase system. **Protoplasma**, v.254, p.445–460, 2017.
- NAZAR, R.; IQBAL, N.; SYEED, S.; KHAN, N. A. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v.168, n.8, p. 807–815, 2011.
- 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. SILVA, R. T. L. de, SIQUEIRA, J. A. M.da. 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.
- PEOPLES, M. B.; FAIZAH, A. W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D. F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. **Australian Centre for International Agricultural Research Canberra**, 1989. 76 p
- PINTÓ-MARIJUAN, M., MUNNÉ-BOSCH, S. Photo-oxidative stress markers as a measure of abiotic stress-induced leaf senescence: advantages and limitations. **Journal of Experimental Botany**, v.65, p.3845–3857, 2014.
- PÚBLIO JÚNIOR, E.; MORAIS, O. M.; ROCHA, M.M.; PÚBLIO, A.P.P.B.; BANDEIRA, A.S. Características agrônômicas de genótipos de feijão-caupi cultivados no sudoeste da Bahia. **Científica**, v.45, n.3, p.223-230, 2017.
- RAI, V.K.; SHARMA, U.D. Amino acids can modulate ABA induced stomatal closure, stomatal resistance and K<sup>+</sup> fluxes in *Vicia faba* leaves. **Beitr Biol Pflanzenphysiol**, v. 66, p.393-405. 1991.
- ROCHA, M. E. L. (2018). **Ação do ácido salicílico nas características morfofisiológicas e bioquímicas em mudas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. e *Cedrela fissilis* VELL.**

Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Paraná, p. 168. 2018.

SANTOS R.F.; CARLESSO R. Water deficit and morphologic and physiologic behavior of the plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2 p. 287- 294, 1998.

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

SIGNORELLI, S.; COITINO, E. L.; BORSANI, O.; MONZA, J. Molecular mechanisms for the reaction between OH radicals and proline: insights on the role as reactive oxygen species scavenger in plants stress. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 1, p. 37-47, 2013.

SILVA, A. R. da; BEZERRA, F. M.; LACERDA, C. F. D.; MIRANDA, R. D. S.; MARQUES, E. C.; GOMES-FILHO, E. Organic solutes in *Coco nutpalm* seed lings under water and salt stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 11, p. 1002-1007, Campina Grande, 2016.

SILVA, L. C.; BELTERÃO, N. E. M.; AMORIM NETO, M. S. **Análise do Crescimento de Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA Algodão. Circular técnica, 34).

SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. **New York: Springer Verlong**, 449p. 1974.

SOUSA, C. C. M.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; OLIVEIRA FILHO, R. A.; SOUZA, M. A. L. M.; PEREIRA FILHO, J. V. Crescimento e respostas enzimáticas do feijoeiro caupi sob estresse hídrico e nematoide de galhas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.2, p.113-118, 2015.

SOUZA, T. M. A.; SOUZA, T. A.; LAUTER SILVA SOLTO; SÁ, F. V. S.; PAIVA, E. P. de; BRITO, M. E. B.; MESQUITA, E. F. Crescimento e trocas gasosas do feijão caupi cv. brs pujante sob níveis de água disponível no solo e cobertura morta. **Irriga**, v. 21, n. 4, p. 796-805, 2016. <http://dx.doi.org/10.15809/irriga.2016v21n4p796-805>.

TAIZ, L. ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

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

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aqueles que são meus criadores e minha base, grato meus pais pelo dom da vida e por todo o apoio, amor e dedicação que por mim tiveram durante a jornada da minha vida que está apenas começando.

Agradeço ao meu grande orientador Prof. Dr. Alberto Soares de Melo por ter aberto as portas da ciência para mim e todos os que passaram pelo ECOLAB. Todos os conselhos, histórias de vida e broncas foram e serão essenciais na minha vida. Com certeza, além de um amigo, você é inspiração para todos.

Agradeço a Profa. Dr. Dilma Maria de Brito Melo Trovão por fazer parte da banca avaliadora com tamanho prazer e vontade. Saiba que sua disciplina de Fisiologia Vegetal, ministrada durante a graduação, encheu-me enormemente de curiosidade e interesse sobre o mundo das plantinhas além de guiar-me no caminho da ciência.

Agradeço ao meu amigo Prof. Dr. Yuri Lima Melo, que sempre com humildade, bom humor e discernimento, moldou-me no caminho da boa ciência. Saiba que você foi grande inspiração para mim em diversos aspectos da vida dentro e fora da academia.

Agradeço ao amigo Wellerson Leite que me puxou para dentro do ECOLAB, fazendo assim tomar gosto pela ciência, alguém que estava sem rumo no curso.

Aos companheiros e amigos do ECOLAB, Auta, Anderson, Ferraz, Louise, Renato, Duval, Igor, Rayanne, por todo apoio e bons momentos que vivemos.

Agradeço o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, para a realização dessa pesquisa.

Agradeço a EMBRAPA Meio- Norte, pela concessão das sementes utilizadas no estudo.

A Universidade Estadual da Paraíba e ao curso de Ciências Biológicas pela enorme oportunidade cedida para realização desse estudo, incluindo o apoio obtido a partir da excelente grade curricular ofertada pelo curso, com profissionais excelentes, os quais foram também deveras importantes, indiretamente ou diretamente, nessa caminhada.

Agradeço a todos aqueles que de forma direta ou indireta fizeram parte da minha formação.

A todos, o meu muito obrigado.