



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

ANIELE DE LIMA RODRIGUES

**SILÍCIO E METIONINA NA RESPOSTA FISIOLÓGICA DO FEIJÃO-CAUPI (BRS
VERDEJANTE) DURANTE DÉFICIT HÍDRICO E REIDRATAÇÃO**

**CAMPINA GRANDE
2024**

ANIELE DE LIMA RODRIGUES

SILÍCIO E METIONINA NA RESPOSTA FISIOLÓGICA DO FEIJÃO-CAUPI (BRS VERDEJANTE) DURANTE DÉFICIT HÍDRICO E REIDRATAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso de natureza (Artigo), apresentado ao Departamento de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo.

**CAMPINA GRANDE
2024**

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.

R696s Rodrigues, Aniele de Lima.
Silício e metionina na resposta fisiológica do Feijão-caupi (BRs Verdejante) durante déficit hídrico e reidratação [manuscrito] / Aniele de Lima Rodrigues. - 2024.
23 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Coordenação do Curso de Ciências Agrárias - CCHA. "

1. Adaptação vegetal. 2. Respostas antioxidantes. 3. Feijão-caupi. I. Título

21. ed. CDD 570

ANIELE DE LIMA RODRIGUES

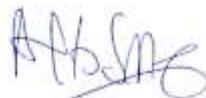
SILÍCIO E METIONINA NA RESPOSTA FISIOLÓGICA DO FEIJÃO-CAUPI (BRS VERDEJANTE) DURANTE DÉFICIT HÍDRICO E REIDRATAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso de natureza (Artigo) apresentado ao Departamento de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

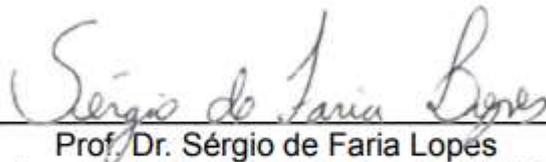
Área de concentração: Ciências Biológicas.

Aprovada em: 27/06/2024.

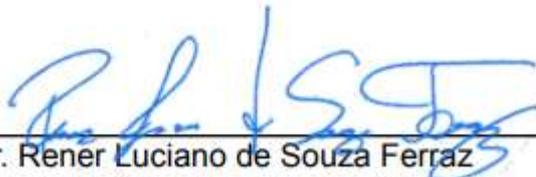
BANCA EXAMINADORA



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



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



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

“A maior glória em viver não está em nunca cair, mas em levantar-se toda vez que você cai.”

Nelson Mandela

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 6 |
| 2 | METODOLOGIA | 7 |
| 2.1 | Localização do experimento | 7 |
| 2.2 | Delineamento estatístico e tratamentos | 7 |
| 2.3 | Instalação e condução | 8 |
| 2.4 | Variáveis analisadas | 11 |
| 2.4.1 | <i>Atividade do mecanismo antioxidante</i> | 11 |
| 2.4.1.1 | Superóxido Dismutase (SOD) | 11 |
| 2.4.1.2 | Ascorbato peroxidase (APX) | 11 |
| 2.4.1.3 | Catalase (CAT) | 12 |
| 2.4.2 | <i>Indicador de ajustamento osmótico</i> | 12 |
| 2.4.2.1 | Prolina (PRO) | 12 |
| 2.4.3 | <i>Status hídrico</i> | 12 |
| 2.4.3.1 | Conteúdo relativo de água (CRA) | 12 |
| 2.4.3.2 | Vazamento de eletrólitos (VE) | 13 |
| 2.4.4 | <i>Análise Estatística</i> | 13 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 13 |
| 4 | CONCLUSÃO | 19 |
| | REFERÊNCIAS | 20 |
| | AGRADECIMENTOS | 23 |

SILÍCIO E METIONINA NA RESPOSTA FISIOLÓGICA DO FEIJÃO-CAUPI (BRS VERDEJANTE) DURANTE DÉFICIT HÍDRICO E REIDRATAÇÃO

SILICON AND METHIONINE IN THE PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF COWPEA (BRS VERDEJANTE) DURING WATER DEFICIT AND REHYDRATION

Aniele de Lima Rodrigues¹
Aniele de Lima Rodrigues²

RESUMO

Vigna unguiculata, conhecida popularmente como Feijão-caupi, é uma leguminosa amplamente cultivada no Brasil, principalmente no Norte-Nordeste, devido ao seu elevado valor nutricional e econômico. Por esse motivo, é essencial buscar tecnologias que permitam o cultivo dessa cultura sob tais adversidades. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a eficácia da pulverização foliar de silício (Si) e metionina (MET), isoladamente e em combinação, na mitigação dos danos causados pelo déficit hídrico em feijão-caupi, focando nos parâmetros bioquímicos e no status hídrico da planta. Para tanto, foi conduzido um experimento em estufa utilizando-se de delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo avaliadas plantas que passaram por déficit hídrico e posteriormente reidratadas, e quatro tratamentos, sendo: controle, silício ($300 \text{ mg L}^{-1} \text{ Si}$), metionina ($890 \text{ mg L}^{-1} \text{ de MET}$) e sua respectiva combinação, silício e metionina ($300 \text{ mg L}^{-1} \text{ de Si} + 890 \text{ mg L}^{-1} \text{ de MET}$) Foram avaliados, superóxido dismutase (SOD); catalase (CAT); ascorbato peroxidase (APX); prolina (PRO); conteúdo relativo de água (CRA) e vazamento de eletrólitos (VE). Os dados foram submetidos à análise de variância e testes de comparações de médias. Conclui-se que o déficit hídrico causou danos nas plantas de feijão-caupi, evidenciado pelo vazamento de eletrólitos e conteúdo relativo de água. No entanto, os tratamentos com silício e metionina melhoraram a defesa antioxidante das plantas, com a metionina se destacando na eficiência contra espécies reativas de oxigênio. A utilização de silício isolado e sua combinação com metionina expressou resultados promissores. Portanto, a utilização desses elicitores é uma abordagem promissora para fortalecer a produção de feijão-caupi em regiões de seca e chuvas irregulares, contribuindo para a sustentabilidade agrícola e segurança alimentar.

Palavras-Chave: adaptação vegetal; respostas antioxidantes; feijão-caupi.

ABSTRACT

Vigna unguiculata is a widely cultivated legume due to its high nutritional and economic value. Despite its adaptations to withstand adverse conditions, this plant can undergo several negative changes when subjected to abiotic stress, especially water stress. In this regard, the objective was to evaluate the efficacy of foliar spray of silicon and methionine, alone and in combination, in mitigating water stress-induced damage in cowpea, focusing on biochemical parameters and plant water status. An experiment

¹ Aniele de Lima Rodrigues, aniele.rodrigues@aluno.uepb.edu.br, UEPB, lattes.cnpq.br/3813713246428718

² Aniele de Lima Rodrigues, aniele.rodrigues@aluno.uepb.edu.br, UEPB, lattes.cnpq.br/3813713246428718

was conducted in a greenhouse using a completely randomized design with four replications. Plants were subjected to water stress followed by rehydration, with four treatments: Control (Nothing Applied), silicon ($300 \text{ mg/L}^{-1} \text{ Si}$), methionine ($890 \text{ mg/L}^{-1} \text{ MET}$), and their combination, silicon and methionine ($300 \text{ mg/L}^{-1} \text{ Si} + 890 \text{ mg/L}^{-1} \text{ MET}$). Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), proline (PRO), relative water content (RWC), and electrolyte leakage (EL) were evaluated. Data were subjected to analysis of variance and mean comparison tests. It was concluded that water stress caused damage to cowpea plants, as evidenced by electrolyte leakage and relative water content. However, treatments with silicon and methionine improved the antioxidant defence of plants, with methionine showing efficiency against reactive oxygen species. The use of silicon alone and in combination with methionine showed promising results. Therefore, the use of these elicitors represents a promising approach to enhance cowpea production in regions with drought and irregular rainfall, thereby contributing to agricultural sustainability and food security.

Keywords: plant adaptation; antioxidant responses; cowpea.

1 INTRODUÇÃO

A água é indispensável as plantas, principalmente às de importância agrícola, o requerimento deste, aumenta com o decorrer do crescimento e desenvolvimento da planta, a inanição deste insumo suscita em uma série de alterações metabólicas (REICHARDT & TIMM, 2022)

Essas modificações ocasionadas pelo déficit hídrico, geram às espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs são produzidas durante o metabolismo celular, a fotossíntese, a respiração e em resposta a estressores ambientais, que por sua vez, podem causar danos oxidativos, como a peroxidação de lipídeos, a degradação de proteínas e danos a DNA/RNA, podendo levar à morte celular do vegetal (ZHU et al., 2020).

. Com isto, existem mecanismos de desintoxicação em células vegetais incluem superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), cujo equilíbrio é essencial para manter os níveis de superóxido e peróxido de hidrogênio sob controle (MITTLER, 2002; SCANDALIOS, 1993; BREUSEGEM et al., 2001).

Nesse contexto, o feijão-caupi, de nome científico *Vigna unguiculata* (L.) Walp., que é uma leguminosa originária da África introduzida no Brasil pelos portugueses, é popularmente conhecido por suas características adaptativas às condições áridas e semiáridas encontradas no Brasil, notadamente pela sua variabilidade genética, tolerância moderada ao déficit hídrico e baixo custo de produção (MELO et al., 2022), sendo cultivada inicialmente na Bahia durante o século XVI antes de se espalhar para outros locais do país (MOTTA, 2022). Até meados da década de 1990, esta cultura era principalmente cultivada e consumida em regiões específicas, particularmente no Nordeste e Norte do Brasil (FREIRE FILHO et al., 2023).

Além das informações supracitadas anteriormente, vale ressaltar os atributos nutricionais dos grãos, sendo uma fonte significativa de proteínas, carboidratos, fibras, ferro, zinco e selênio, se qualificando como uma possibilidade de garantir segurança alimentar além de fonte de renda (SOUSA et al., 2023; DUARTE et al., 2024).

Em dados atuais, os estados que se destacam na produção deste grão no Nordeste são: Bahia, Piauí e Pernambuco. Estima-se, uma produtividade de 961

Kg/ha na safra de 2023/2024, um incremento de 21,18 % em relação à safra 2017/2018 (CONAB, 2024).

Contudo, apesar do aumento de área plantada e todos os seus benefícios, ainda é baixo o emprego de tecnologias que possam proporcionar ainda mais produtividade frente aos eventos climáticos extremos e chuvas irregulares (CONAB, 2024). Na maioria dessas regiões produtoras, prevalece a agricultura familiar, que por sua vez são acometidos por perdas consideráveis, muito em decorrência do déficit hídrico (ANDRADE et al., 2021).

No entanto, as plantas de feijão-caupi desenvolveram mecanismos de defesa, como produzir solutos compatíveis, como a prolina, além de ativar o sistema antioxidante, produzindo as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), que atuam eliminando as ERO's (ALENCAR et al., 2024).

Salienta-se que, diversas substâncias vêm sendo estudadas com o intuito de minimizar os efeitos deletérios da restrição hídrica, dentre elas se destacam o silício e a metionina, melhorando atributos fisiológicos e induzindo respostas adaptativas (OLIVEIRA et al., 2023; ARAÚJO et al., 2023). Logo, a aplicação de silício e metionina emerge como uma estratégia promissora para induzir a tolerância do feijão-caupi ao estresse por restrição hídrica, facilitando seu cultivo em regiões de seca. Essa abordagem pode ser fundamental para fortalecer a produção de feijão-caupi em face dos desafios ambientais e econômicos (MELO et al., 2022). Todavia, pouco se sabe sobre as contribuições desses agentes mitigadores, principalmente sobre sua ação conjunta sob o déficit hídrico.

Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a pulverização foliar de silício e metionina como atenuador do déficit hídrico feijão-caupi por meio dos parâmetros bioquímicos e status hídrico e, assim, contribuir para o êxito da produção agrícola dessa cultura, levantando a hipótese de que a pulverização foliar de silício e metionina, bem como sua combinação, mitiga os danos causados pela restrição hídrica na planta, o silício pode fortalecer as paredes celulares, enquanto a metionina pode atuar como um precursor de compostos antioxidantes.

2 METODOLOGIA

2.1 Localização do experimento

O presente estudo foi conduzido em casa de vegetação pertencente à Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) Campus II, em Lagoa Seca-PB (7° 09' 17" de latitude sul, 35° 52' 16" longitude Oeste) a uma altitude de 652 metros, e as análises de status hídricos e bioquímicas foram realizadas nas dependências do Laboratório de Ecofisiologia e Melhoramento de Plantas Cultivadas (EcoLab), localizado no Complexo Três Marias, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UEPB campus I, em Campina Grande-PB (07° 12' 42" de latitude Sul, 35° 54' 36" longitude Oeste), a uma altitude de 521 metros.

2.2 Delineamento estatístico e tratamentos

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x4, com quatro repetições. O primeiro fator consistido de dois períodos: Período de déficit hídrico (Restrição da irrigação durante 10 dias) e período de reidratação (Retorno da irrigação durante 2 dias). O segundo fator e referente as

aplicações dos elicitores, sendo: controle, silício ($300 \text{ mg L}^{-1} \text{ Si}$); metionina (890 mg L^{-1} de MET) e sua respectiva combinação, silício e metionina (300 mg L^{-1} de Si + 890 mg L^{-1} de MET). As concentrações de Si e MET foram definidas a partir dos estudos de Araújo et al. (2023) e Oliveira et al. (2023), respectivamente. A combinação desses fatores resultou em 16 unidades experimentais, onde, cada unidade foi constituída de um vaso com quatro plantas.

2.3 Instalação e condução.

Para a execução do experimento, vasos de polietileno de 3,6 L foram preparados com uma fina camada de brita na base e preenchidos com 3,7 Kg de solo seco (Figura 1). Após, foi realizado a saturação dos mesmos com água, afim de se obter um substrato próximo da capacidade de campo. Por diante, 24 h depois, procedeu-se a semeadura com cinco sementes por vaso (Figura 2), utilizando-se de sementes de feijao-caupi da cultivar BRS Verdejante, que passaram por triagem, eliminando aquelas que continham danos físicos, biológicos e/ou má formação.

Figura 1- Vasos de polietileno (3,6 L) sendo preenchidos com uma fina camada de brita e 3,7 Kg solo seco. Lagoa Seca-PB, 2024.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Figura 2- Semeadura. Lagoa Seca-PB, 2024.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Os vasos foram dispostos em bancada em quatro linhas de quatro vasos, espaçados em 20 cm entre vasos (Figura 3)

Figura 3- Disposição dos vasos. Lagoa Seca-PB, 2024



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Transcorridos 20 dias após semeadura, intercorreu a aplicação dos tratamentos, onde, foram aplicados via foliar com pulverizador manual de 2 L, de compressão previa da marca Dasshaus, a aplicação foi realizada até ponto de escorrimento nas folhas (aproximadamente 83,33 mL/planta), para melhor aderência dos elicitores utilizou-se espalhante Adesivo Wil Fix[®], seguindo as instruções do fabricante.

Seguida a aplicação dos tratamentos, todos os vasos foram submetidos a restrição da irrigação, decorridos 10 dias da aplicação dos tratamentos efetuou-se a

primeira coleta, decorrido isso, os vasos retornaram a receber irrigação normalmente durante 2 dias, onde ocorreu a segunda e última coleta. Nas duas coletas as plantas se encontravam em transição da fase fenológica V4 a V5.

O manejo da irrigação foi realizado diariamente pelo método de pesagens proposto por Silva et al. (2020), com adaptações. Em que foi reposta a água evapotranspirada no dia que antecedeu cada evento de irrigação. Para tanto substrato foi saturado com água correspondente a 75% (v/m) da massa do substrato. Transcorridas 24 horas, foi obtida a massa dos vasos com o substrato na capacidade de campo (MSCC). Diariamente, foi realizada a pesagem dos vasos, de modo a se obter a massa do substrato após evapotranspiração (MSET). Posteriormente, o volume de água requerido (VAR) para reposição do solo à condição de capacidade de campo foi calculado utilizando-se da expressão:

$$VAR = MSCC - MSET$$

$$VAR(70\%) = \frac{VAR * 70}{100}$$

VAR: Volume de água requerido (mL);

MSCC: Massa do substrato na capacidade de campo (g);

MSET: Massa do substrato após evapotranspiração (g);

VAR (70%): 70% do volume de água requerido (mL).

Foi reposto 70% do volume de água requerido, afim de evitar que o substrato permaneça encharcado (Figura 5). Para reposição do volume de água requerida, utilizou-se de proveta graduada em mililitros (mL) com capacidade volumétrica para 250 mL. As pesagens foram realizadas no período entre 07:00 e 08:00 horas. Para as pesagens, utilizou-se de balança digital portátil, com capacidade para 15 Kg (TOMATE, modelo SF-440) (Figura 6).

Figura 5- Manejo de irrigação. Lagoa Seca-PB, 2024.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Figura 6- Balança digital portátil (modelo SF-440). Lagoa Seca – PB, 2024.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

2.4 Variáveis analisadas

2.4.1 Atividade do mecanismo antioxidante

2.4.1.1 Superóxido Dismutase (SOD)

Para determinar a atividade da SOD, foi preparada uma mistura de reação composta por 0,3 mL de metionina a 130 μM ; 0,1 mL de azul de p-nitrotetrazólio (NBT) a 2250 μM ; 0,1 mL de EDTA a 3 μM ; 0,2 mL de riboflavina; 0,75 mL de água deionizada; e 1,5 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM com pH 7,8. A essa mistura, foram adicionados 100 μL do extrato enzimático bruto. Em seguida, a absorvância foi medida a 560 nm, sendo subtraída da leitura de absorvância da mistura de reação sem o extrato enzimático. Nessas condições, uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (GIANNOPOLITIS & RIES, 1977).

2.4.1.2 Ascorbato peroxidase (APX)

A atividade da enzima APX foi realizada pelo método proposto por Nakano e Asada (1981), onde, 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) e acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). Em seguida, a reação foi iniciada pela adição de 200 μL de peróxido de hidrogênio (2 mM), à qual foi monitorada pelo decréscimo da absorvância, durante 1 min, com a realização das leituras a cada 10 segundos. Utilizou-se a equação de Lambert-Beer para expressar os dados de absorvância em $\text{nmol de ascorbato min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Em que:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

A= diminuição da absorvância (média em duplicata);

ϵ = coeficiente de extinção molar (2,8 $\text{mmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$);

b = comprimento do caminho óptico (1 cm);

c = concentração da enzima expressa (mol L^{-1})

2.4.1.3 Catalase (CAT)

A atividade da enzima CAT foi quantificada de acordo com Kar e Mishra (1976). A reação ocorre por meio da adição do extrato enzimático (150 µL) na cubeta de quartzo, contendo o meio de reação (2,95 mL), composto por tampão fosfato de potássio (50 mM com pH 7) e acrescido de peróxido de hidrogênio (20 mM). Após breve agitação, a solução foi levada ao espectrofotômetro, configurado em 240 nm, cujos decréscimos da absorbância foram observados durante 2 min e as leituras realizadas a cada 10 segundos. Utilizou-se a equação de Lambert-Beer para expressar os dados de absorbância em µmol de H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

Em que:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

A = diminuição da absorbância (média em duplicata)

ε = coeficiente de extinção molar (39,4 mol⁻¹ cm⁻¹);

b = comprimento do caminho óptico (1 cm);

c = concentração da enzima (mol L⁻¹)

2.4.2 Indicador de ajustamento osmótico

2.4.2.1 Prolina (PRO)

A concentração de prolina livre foi determinada pelo método, proposto por Bates et al. (1973). Inicialmente, foram pesados 0,25 g de tecido foliar fresco e macerados em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL), o qual foi centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi retirado e armazenado em tubos tipo eppendorf de 2 mL, para posterior determinação da concentração de PRO. Na sequência, tubos de ensaio foram usados para adição da mistura: extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1:1 (volume total 3 mL). Após a mistura das substâncias, os tubos foram submetidos ao banho-maria a 100 °C por um período de 1 h, para o desenvolvimento da cor rosa/avermelhado. Em seguida, os mesmos tubos foram resfriados em banho de gelo para estabilizar a reação e posteriormente foram adicionados 2 mL do reagente tolueno. Na sequência, os tubos foram agitados em vórtex por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos, até a separação da solução em duas fases (cromóforo e translúcida). A leitura do sobrenadante ocorreu em espectrofotômetro (520 nm) e o tolueno puro foi usado como branco, para zerar o aparelho. A concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L- prolina e expressa em µmol g de matéria fresca⁻¹.

2.4.3 Status hídrico

2.4.3.1 Conteúdo relativo de água (CRA)

O CRA foi avaliado a partir de cinco discos foliares. Os discos foram obtidos através de cortes, auxiliados por um perfurador de cobre. Após a retirada dos discos, a pesagem foi realizada para obtenção da massa fresca (MFD) e, em seguida, foram imersos em 10 mL de água destilada, por um período de 24 horas. Após o tempo previsto, os discos foram pesados novamente, para obtenção da massa túrgida (MTD). Posteriormente, os discos foram submetidos a uma temperatura de 80 °C, em uma estufa de circulação de ar forçada por 48 horas, para aferição da sua massa seca (MSD). Dessa forma, o CRA (%) foi calculado baseado na seguinte equação proposta por Smart e Bingham (1974):

$$CRA (\%) = \left[\frac{(MFD - MSD)}{MTD - MSD} \right] \times 100$$

2.4.3.2 Vazamento de eletrólitos (VE)

O vazamento de eletrólitos (VE), foi medido conforme Scotti Campos e Thu Pham Thi (1997). Para tanto, utilizou-se um perfurador de cobre a fim de se obter, por unidade experimental, cinco discos foliares, os quais foram acondicionados em tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada, permanecendo fechados e em repouso, por 24 horas. Após esse período, foi realizada a aferição da condutividade elétrica da solução do tubo de ensaio (X_i) utilizando-se condutivímetro portátil (WATERPROOF). Os tubos foram novamente fechados e submetidos à temperatura de 100 °C, por 60 minutos, em banho-maria. Após resfriamento do conteúdo dos mesmos à temperatura ambiente, aferiu-se a condutividade final (X_f) da solução. O percentual de vazamentos de eletrólitos foi calculado com base na expressão a seguir:

$$VE = \left(\frac{X_i}{X_f} \right) \times 100$$

2.4.4 Análise Estatística

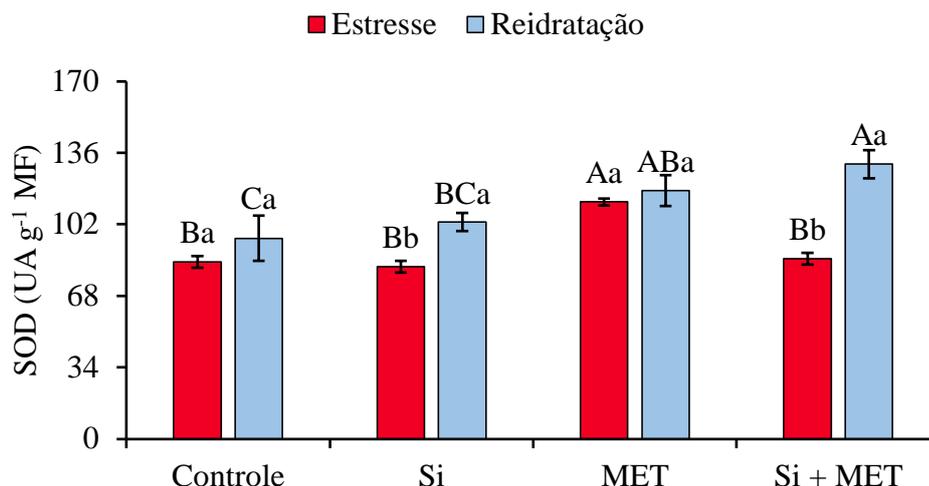
Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F até 5% de probabilidade), seguidos pelo teste de pares independentes (*t-student*, $P < 0,05$) para os dois períodos, antes e depois da reidratação, e os tratamentos pelo teste de comparação de médias (Tukey, $P \leq 0,05$), para tanto foi utilizado o software computacional SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que as plantas produziram SOD sob restrição hídrica, com destaque para o tratamento com metionina (MET), que proporcionou um aumento de 33,8% em relação ao controle. Após a reidratação, todos os tratamentos mostraram aumento da SOD, com maior produção nos tratamentos com metionina e sua combinação com silício, resultando em incrementos de 23,9% e 37%, respectivamente, em comparação ao controle durante a reidratação (Figura 7 – gráfico A). As plantas superiores desenvolveram mecanismos para lidar com o estresse, incluindo enzimas antioxidantes (SHAMS & KHADIVI, 2023). A superóxido dismutase (SOD) é a primeira linha de defesa, minimizando os efeitos do dano oxidativo e mantendo a homeostase celular (RAJPUT et al., 2021).

Figura 7 - Superóxido dismutase (SOD) da cultivar de feijão-caupi: BRS Verdejante, estressado e reidratado, e aplicações de Silício (Si), metionina (MET) e a combinação Silício + Metionina (Si + MET). Letras maiúsculas diferenciam as os tratamentos (Tukey $P < 0,05$). E letras minúsculas diferenciam os períodos de déficit hídrico e reidratação (*t-student* $P < 0,05$). Campina Grande – PB, 2024.

A



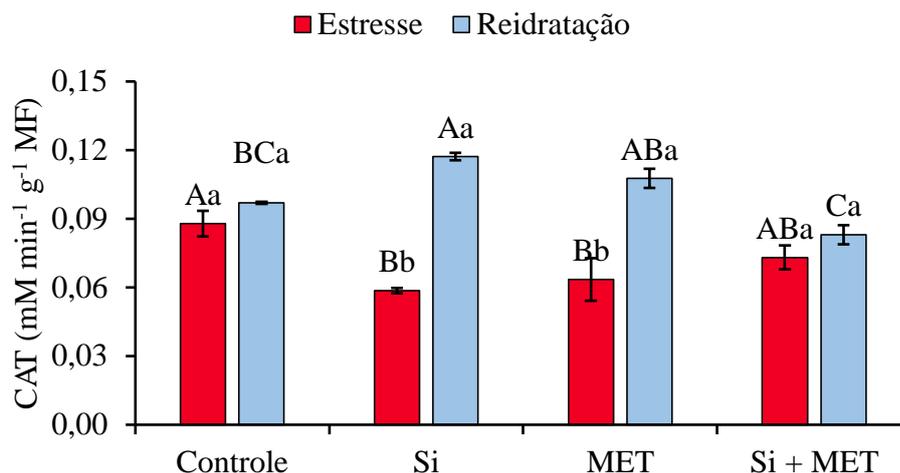
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

A produção desta enzima durante o período de estresse reflete atuação do metabolismo antioxidante ativo, responsável pela dismutação dos radicais aniônicos superóxidos, transformando-os em moléculas menos tóxicas para as plantas (TAIZ et al., 2017). Os aumentos observados se devem a ação do MET e do Si. A metionina por se tratar de um aminoácido, pode atuar favorecendo mudanças positivas nos aspectos fisiológicos e bioquímicos da cultura, reduzindo assim as espécies reativas de oxigênio protegendo as células vegetais dos danos ocasionados pelo déficit hídrico (MERWAD et al., 2018), já o silício pode atuar na expressão de genes relacionados a enzimas antioxidantes, potencializando assim a ação desta variável (RANJAN et al., 2021).

Para a CAT, houve decréscimos de 49,9; 38,4 e 20,3 % dos tratamentos sob déficit hídrico em relação a testemunha em mesma condição, no entanto, após reidratação foram observados aumentos significativos destas variáveis. Esse aumento foi de 17,3 % para o tratamento com silício e de 9,8 % para metionina (Figura 8 - gráfico B). A recuperação das plantas de feijão-caupi após reidratação está diretamente relacionada com as suas características intrínsecas e com os efeitos dos elicitores aplicados (MELO et al., 2022). A enzima CAT atua na dismutação de H₂O₂ em H₂O e O₂, utilizando ácido ascórbico como substrato no citoplasma e mitocôndrias (AN et al., 2024).

Figura 8 - Catalase (CAT) da cultivar de feijão-caupi: BRS Verdejante, estressado e reidratado, e aplicações de Silício (Si), metionina (MET) e a combinação Silício + Metionina (Si + MET). Letras maiúsculas diferenciam as os tratamentos (Tukey P < 0,05). E letras minúsculas diferenciam os períodos de déficit hídrico e reidratação (*t-student* P < 0,05). Campina Grande – PB, 2024.

B



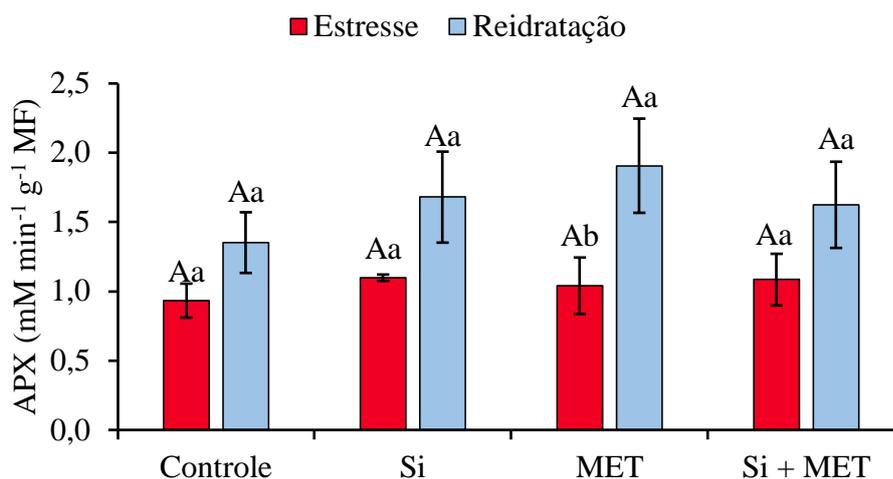
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Quando o sistema antioxidante não aumenta o suficiente para neutralizar grandes quantidades de espécies reativas geradas, o resultado se dá por danos ao nível celular (NXELE, KLEIN & NDIMBA, 2017). Por tanto, os acréscimos de CAT por intermédio do MET e Si notados após reidratação demonstram a ação dessas substâncias em auxiliar as plantas a suportar estresse por seca. Dentre os benéficos MET, se destacam as doações de grupos metil para formação de enzimas e proteínas, bem como, o metabolismo de carbono, o que pode contribuir para um melhor aporte energético do vegetal em condições de estresse oxidativo por meio de produção de açúcares solúveis (GIBAULT et al., 2020; SCHNEIDER et al., 2021).

Ao avaliar a enzima ascorbato peroxidase (APX), verificou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos, no entanto, cabe ressaltar que incrementos surgiram de 19,4; 28,9 e 16,7 % respectivamente para Si, MET e sua combinação após a reidratação (Figura 9 – gráfico C). A APX possui mesma a função da catalase, contudo, detém uma maior afinidade pelo ácido ascorbato como agente redutor agindo em local distinto, mais especificamente nos cloroplastos e no citosol (SANTOS & SILVA, 2015).

Figura 9 - Ascorbato peroxidase (APX) da cultivar de feijão-caupi: BRS Verdejante, estressado e reidratado, e aplicações de Silício (Si), metionina (MET) e a combinação Silício + Metionina (Si + MET). Letras maiúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey $P < 0,05$). E letras minúsculas diferenciam os períodos de déficit e reidratação (t -student $P < 0,05$). Campina Grande – PB, 2024.

C



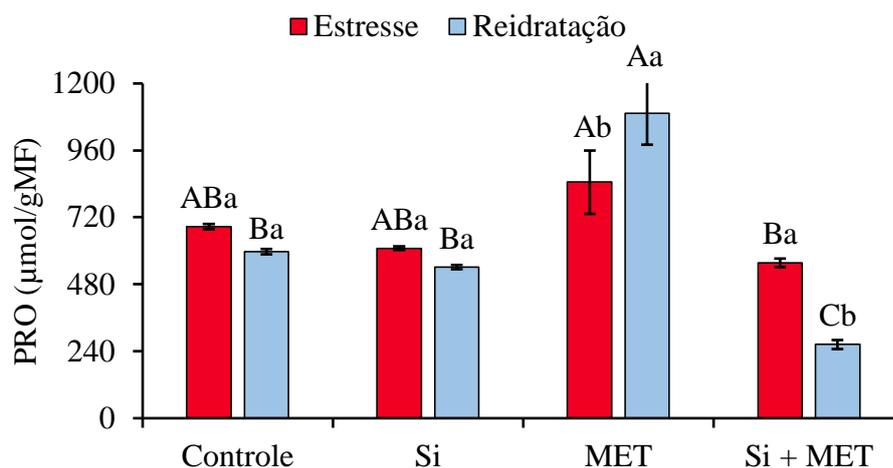
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Ao avaliar a variável prolina (PRO), foi notável que o tratamento com MET proporcionou aumentos significativos tanto no período de estresse, bem como após sua reidratação, sendo este incremento de 29,20 % quando comparado o antes e depois da recuperação dentro do tratamento com MET (Figura 10 – gráfico D).

A prolina é um dos solutos cumulativos que pode estar presente em diferentes órgãos da planta. Esse acúmulo pode ser maior com o aumento da intensidade do déficit hídrico. Uma de suas principais funções é o ajuste osmótico das células, favorecendo a manutenção das atividades metabólicas, principalmente sob esse déficit (MANSOUR & ALI, 2017). Ademais, favorece os processos fisiológicos, bioquímicos e enzimáticos durante déficits hídrico que são positivos para o crescimento da planta (EL-MOUKHTARI et al., 2020).

Figura 10 - Prolina (PRO) da cultivar de feijão-caupi: BRS Verdejante, estressado e reidratado, e aplicações de Silício (Si), metionina (MET) e a combinação Silício + Metionina (Si + MET). Letras maiúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey $P < 0,05$). E letras minúsculas diferenciam os períodos de déficit hídrico e reidratação (*t-student* $P < 0,05$). Campina Grande – PB, 2024.

D



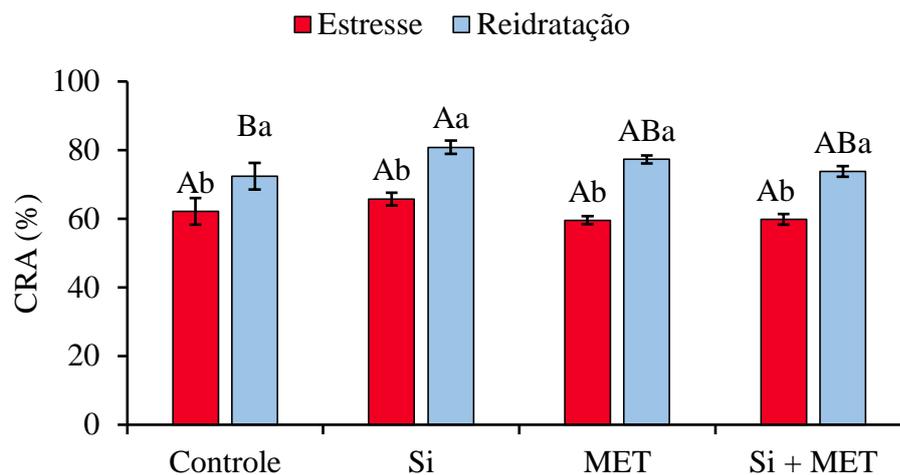
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

O acúmulo de prolina é uma resposta encontrada em muitas plantas em diferentes estresses abióticos. O incremento significativo de prolina em plantas de feijão-caupi em resposta ao estresse por déficit hídrico indica a ação osmorreguladora deste osmólito sob condições desfavoráveis, mantendo assim o bom funcionamento das relações hídricas. Isto ajudou as plantas a terem um melhor desempenho em termos da ação antioxidante, estabilizando os danos nas membranas e proteínas, destaca-se a ação da MET neste resultado, haja vista que o mesmo pode incorporar-se a proteínas contribuindo assim para estabelecimento das plantas sob condições de estresse (MEWARD et al., 2018).

Com relação ao conteúdo relativo de água (CRA), pode ser averiguado que não houve diferença estatística nos tratamentos quando imposto o déficit hídrico, no entanto, após reidratação se destaca uma melhor recuperação das plantas tratadas com Si, MET e sua respectiva combinação. Essa recuperação é atribuída a incrementos de 22,95; 29,74 e 23,35 % respectivamente nesses tratamentos citados anteriormente (Figura 11 – gráfico E).

Figura 11 – Conteúdo relativo de água (CRA) da cultivar de feijão-caupi: BRS Verdejante, estressado e reidratado, e aplicações de Silício (Si), metionina (MET) e a combinação Silício + Metionina (Si + MET). Letras maiúsculas diferenciam as os tratamentos (Tukey $P < 0,05$). E letras minúsculas diferenciam os períodos de déficit hídrico e reidratação (t -student $P < 0,05$). Campina Grande – PB, 2024.

E



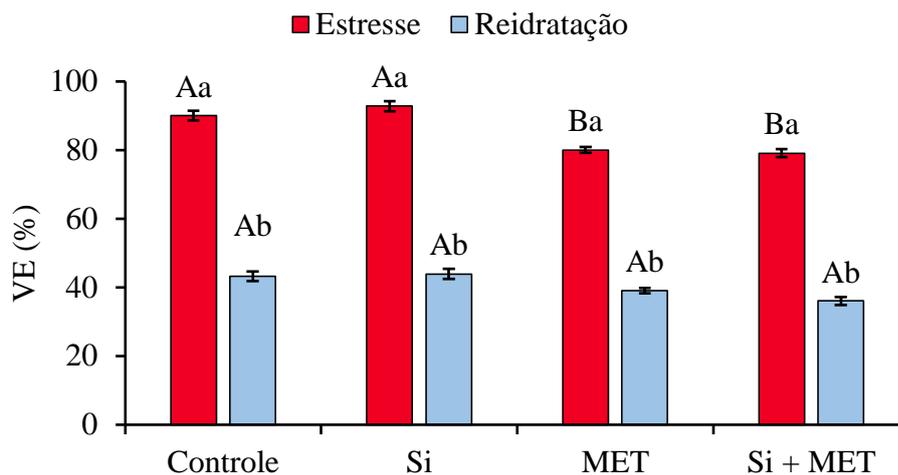
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

O CRA é um importante indicador do estado hídrico da planta e a redução dessa variável reflete a perda da turgescência celular e o pode afetar diretamente os processos fisiológicos, haja vista que os mesmos estão diretamente ligados ao status hídrico da planta (QAYYUM et al., 2021). Esses resultados se devem aos efeitos do MET e Si, o MET pode proporcionar aumento no potencial hídrico da planta, devido à função do eliciador ao favorecer a produção de moléculas que atuam no ajustamento osmótico, estabilizando os status hídrico foliar (OLIVEIRA et al., 2023). Por sua vez o silício, atuar modificando o metabolismo da parede celular, incrementando no aumento celular. Ademais, o Si é capaz de aumentar a rigidez da folha, tornando-a mais áspera na textura para manter maior potencial hídrico foliar (MEWARD et al., 2018).

O vazamento de eletrólitos (VE) reflete os danos nas membranas de forma indireta, no presente estudo, não houve diferença nos tratamentos após reidratação, no entanto, sob condições de déficit hídrico, os tratamentos com MET isolada e sua combinação com silício obtiveram sutil diminuição dessa variável, sendo 11,11 e 12,16 % respectivamente (Figura 12 - gráfico F).

Figura 12 – Vazamento de eletrólitos (VE) da cultivar de feijão-caupi: BRS Verdejante, estressado e reidratado, e aplicações de Silício (Si), metionina (MET) e a combinação Silício + Metionina (Si + MET). Letras maiúsculas diferenciam os tratamentos (Tukey $P < 0,05$). E letras minúsculas diferenciam os períodos de déficit hídrico e reidratação (t -student $P < 0,05$). Campina Grande – PB, 2024.

F



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Com a interrupção na disponibilidade de água é comum haver a ocorrência de danos às membranas do feijão-caupi, uma vez que a liberação de eletrólitos ocorre mediante o aumento da ruptura e permeabilidade dessas estruturas. Por outra perspectiva, sob tais condições, ocorre a restrição do processo fotossintético levando a um acúmulo de elétrons livres no vegetal, promovendo uma maior produção de espécies reativas de oxigênio que, em altas concentrações, podem promover a degradação de estruturas celulares, proporcionando incremento nos vazamentos de eletrólitos (BORJAS VENTURA et al., 2019; CAMPOS et al., 2019).

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que o déficit hídrico ocasionou em danos a planta mediante avaliação do vazamento de eletrólitos, corroborando aos resultados de conteúdo relativo de água. No entanto, os tratamentos proporcionaram melhorias por meio de uma melhor defesa antioxidante, isto, embasado nos resultados das enzimas do presente estudo.

Dentre os tratamentos, a metionina se sobressai, proporcionando mais eficiência das defesas da planta contra as espécies reativas de oxigênio, mesmo assim, tem-se resultados promissores do silício bem como sua combinação com metionina.

Assim, a suplementação com silício e metionina emerge como uma abordagem promissora para fortalecer a produção de feijão-caupi em regiões de seca, principalmente nos locais de chuvas irregulares, contribuindo para a eficácia, sustentabilidade agrícola e a segurança alimentar. Todavia, mais pesquisas são necessárias para compreender plenamente os benefícios e as interações desses agentes mitigadores.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, R. S.; DIAS, G. F.; ARAUJO, Y. M. L.; OLIVEIRA VIANA, P. M.; BORBOREMA, L. D. A.; BONOU, S. I.; MELO, A. S. Seed priming with residual silicon-glass microparticles mitigates water stress in cowpea. **Scientia Horticulturae**, v. 328, p. 112933, 2024.
- ALI, S.; KHAN, A. S.; MALIK, A. U.; SHAHEEN, T.; SHAHID, M.; Pre-storage methionine treatment inhibits postharvest enzymatic browning of cold stored 'Gola' litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 140, p. 100-106, 2018.
- AN, T., FAN, Y., TIAN, X., WANG, Q., WANG, Z., FAN, S., & HUANG, W. Green analytical assay for the viability assessment of single maize seeds using double-threshold strategy for catalase activity and malondialdehyde content. **Food Chemistry**, p. 139889, 2024.
- ANDRADE, W. L.; MELO, A. S.; MELO, Y. L.; SÁ, F. V.; S.; ROCHA, M. M.; OLIVEIRA, A. P. S.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. *Bradyrhizobium* inoculation plus foliar application of salicylic acid mitigates water deficit effects on cowpea. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.40, p.656-667, 2021.
- ARAÚJO, D. E.; MELO A. S.; ROCHA, M. S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. M.; Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. **Revista Caatinga**, v.31, p. 80-89, 2018.
- ARAÚJO, E. D., DE MELO, A. S., DO SOCORRO ROCHA, M., SILVA, P. C. C., DE SOUZA FERRAZ, R. L., MELO, Y. L., & DE LACERDA, C. F. Improvement of Silicon-Induced Tolerance to Water Stress Is Dependent on Genotype Sensitivity and Phenological Stage. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 23, p. 1648-1659, 2023.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for 4159 water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, v. 11, safra 2023/24, sexto levantamento, p. 1-124, março 2024.
- DUARTE, E. D. S.; MOREIRA-ARAÚJO, R. D. R.; FRANCO, L. J. D.; SILVA, K.; ROCHA, M. D. M. Qualidade nutricional e de cozimento dos grãos de diferentes classes comerciais de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Revista Observatorio de la Economía Latino Americana**, v.22, p. 01-27. 2024.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric 4194 Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v.28, p. 350-356, 1956.
- EL MOUKHTARI, A., CABASSA-HOURTON, C., FARISSI, M., & SAVOURÉ, A. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 553924, 2020.

- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, p. 529-535, 2019.
- FREIRE FILHO, FRANCISCO RODRIGUES et al. Feijão-Caupi na Embrapa Meio-Norte: **melhoramento, cultivares lançadas, genealogias e base genética**. Brasília, 2023.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.
- GIBault, S., et al. (2020). Role of Carbon Metabolism in Plant Stress Responses. **Journal of Plant Physiology**, v. 234, p.123-134.
- HOSSAIN, M. A.; LI, Z.G.; HOQUE, T. S.; BURRITT, J. D.; FUJITA, M.; BOSCH, S.M.; Heat or cold priming-induced cross-tolerance to abiotic stresses in plants: key regulators and possible mechanisms. **Protoplasma**, v. 255, p. 399–412, 2018.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.
- MANsour, M. M. F., & Ali, E. F. Evaluation of proline functions in saline conditions. **Phytochemistry**, v. 140, p. 52-68, 2017.
- MELO, A. S. D., MELO, Y. L., LACERDA, C. F. D., VIÉGAS, P. R., FERRAZ, R. L. D. S., & GHEYI, H. R. Water restriction in cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]: Metabolic changes and tolerance induction. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 26, p. 190-197, 2022.
- MELO, A. S.; MELO, Y. L.; LACERDA, C. F.; VIÉGAS, P. R. A.; FERRAZ, R. L. S.; GHEYI, H. R. Water restriction in cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]: metabolic changes and tolerance induction. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 26, p. 190- 197, 2022.
- MEWARD, A. R. M. A.; 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, p. 867-880, 1981.
- NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas. *Biotecnologia*. **Ciência e Desenvolvimento**, v. 23, p. 12-8, 2001.
- NEPOMUCENO, A. L.; OOSTERHUIS, D. M.; STEWART, J. M. Physiological responses of cotton leaves and roots to water deficit induced by polyethylene glycol. **Environmental and Experimental Botany**, v. 40, p. 29-41, 1998.
- NXELE, X., KLEIN, A., & NDIMBA, B. K. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. **South African Journal of Botany**, 108, 261-266, 2017.

OLIVEIRA, A. P. D. S., MELO, Y. L., DE ALENCAR, R. S., VIÉGAS, P. R. A., DIAS, G. F., FERRAZ, R. L. D. S., SÁ, F. V. S.; NETO, J. D.; MAGALHÃES, I. D.; GHEYI, H. RAJ.; LACERDA, C. F.; MELO, A. S. Osmoregulatory and antioxidants modulation by salicylic acid and methionine in cowpea plants under the water restriction. **Plants**, v. 12, p. 1341, 2023.

QAYYUM, A.; AL AYOUBI, S.; SHER, A.; BIBI, Y.; AHMAD, S.; SHEN, Z.; JENKS, M. A. Improvement in Drought Tolerance in Bread Wheat is Related to an Improvement in Osmolyte Production, Antioxidant Enzyme Activities, and Gaseous Exchange. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, p. 5238-5249, 2021.

Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Mandzhieva, S. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. **Biology**, v. 10, p. 267, 2021.

RANJAN, A. et al. Silicon-mediated abiotic and biotic stress mitigation in plants: Underlying mechanisms and potential for stress resilient agriculture. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 163, p. 15-25, 2021.

REICHARDT, K., TIMM, L. C. (2022). Solo, planta e atmosfera: Conceitos, processos e aplicações. Brasil: Editora Manole.

SAINT- MACARY, M. E.; BARBISAN, C.; GAGEY, M. J.; FRELIN, O.; BEFFA, R.; LEBRUN, M. H.; DROUX, M. Methionine Biosynthesis is Essential for Infection in the Rice Blast Fungus *Magnaporthe oryzae*. **Plosone**, v.10, p.1-22, 2015.

SAINT- MACARY, M. E.; BARBISAN, C.; GAGEY, M. J.; FRELIN, O.; BEFFA, R.; LEBRUN, M. H.; DROUX, M. Methionine Biosynthesis is Essential for Infection in the Rice Blast Fungus *Magnaporthe oryzae*. **Plosone**, v.10, p.1-22, 2015.

SANTOS, C. M.; SILVA, M. A. Physiological and biochemical responses of sugarcane to oxidative stress induced by water deficit and paraquat. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, p. 172-185, 2015.

SCOTTI CAMPOS, P.; THU PHAN THI, A. Effect of abscisic acid pretreatment on membrane leakage and lipid composition of *Vigna unguiculata* leaf discs subject to osmotic stress. **Plant Science**, v. 130, p. 11-18, 1997.

SCHNEIDER, R., et al. (2021). *Sugar Accumulation and Stress Tolerance in Plants*. **Plant Science Review**, v. 58, p. 45-60.

SHAMS, M., & KHADIVI, A. Mechanisms of salinity tolerance and their possible application in the breeding of vegetables. **BMC Plant Biology**, v. 23, p. 139, 2023.

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

SILVA, R. C.; SOARES, A. S. Melhoramento genético do feijão-caupi na Embrapa Amazônia Oriental: período de 2013 a 2022. Brasília, DF: Embrapa, 2023. 113 p.
SLAVÍK, B., & JARVIS, M. S. (1974). *Methods of studying plant water relations* (Vol. 9, pp. 449-pp). Prague, Czech Republic: **Academia Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences**.

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

SOUSA, G. A.; SIVIERO, A.; BRAGA, A. D. S.; BASSINELLO, P. Z.; SANTOS, R. C.; FELISBERTO, F. Qualidade nutricional e armazenamento de variedades de feijão-caupi cultivados no Juruá, Acre. **Desarrollo Local Sostenible**, v.16, p. 752-773, 2023.

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

ZHU, Y.; LUO, X., NAWAZ, G.; YIN, J.; YANG, J. Physiological and biochemical responses of four cassava cultivars to drought stress. **Scientific reports**, v. 10, p. 6968, 2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pela saúde, sabedoria e coragem que me concedeu para enfrentar todos os desafios. Aos meus pais, expressei minha profunda gratidão pelo amor incondicional, confiança, educação, carinho e apoio ao longo de toda minha jornada acadêmica.

Ao Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, meu orientador, devo imensamente pelos valiosos ensinamentos e dedicação incansável que foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico.

Aos amigos do Laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas (ECOLAB) – Ana Carla, Ana Caroline, Guilherme, Ibrahim, Igor, Leticia, Priscylla e Rayanne - agradeço sinceramente pelo companheirismo e pela ajuda essencial em todas as etapas das atividades realizadas.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro crucial através da concessão da bolsa de estudos – processo 167046/2022-5 – que possibilitou a realização da minha pesquisa e contribuiu significativamente para o meu desenvolvimento acadêmico ao longo dos estudos.

À Universidade Estadual da Paraíba e a todos os envolvidos, meu sincero agradecimento pela infraestrutura oferecida e pelo suporte contínuo ao longo da minha trajetória acadêmica.

A todos os professores que contribuíram para minha formação, agradeço profundamente pelo compromisso e dedicação em não apenas transmitir conhecimento, mas também em me inspirar a aprender e crescer como profissional e pessoa.

Por fim, expressei meu sincero agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.