



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MELHORAMENTO GENÉTICO DE
PLANTAS**

JAKELINE MOREIRA DA SILVA

**USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO
DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS DE *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE)**

RECIFE - PE

2021

JAKELINE MOREIRA DA SILVA

USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS DE *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas (PPGAMGP) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Cláudia Ulisses de C. Silva

Coorientadores:

Dr. Marcus Vinícius Loss Sperandio

Dra. Natália Maria Corte Real de Castro

RECIFE - PE

2021

JAKELINE MOREIRA DA SILVA

USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS DE *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE)

Aprovada em: 22/12/2020

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Cláudia Ulisses

(Orientadora - Universidade Federal Rural de Pernambuco)

Profa. Dra. Gheysa Coelho Silva

(Membro interno - Universidade Federal Rural de Pernambuco)

Dra. Lindomar Maria de Souza

(Membro externo – Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste)

Dra. Marciana Bizerra de Moraes

(Membro externo - Universidade do Estado do Rio Grande do Norte)

RECIFE – PE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586u Silva, Jakeline Moreira da
USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS
DE *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE) / Jakeline Moreira da Silva. - 2020.
62 f. : il.

Orientadora: Claudia Ulisses de Carvalho Silva.
Coorientador: Marcus Vinicius Loss .
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
Melhoramento Genético de Plantas, Recife, 2021.

1. Elicitação. 2. Trocas gasosas. 3. Enzimas antioxidantes. 4. Osmorregulação. 5. Regime hídrico. I. Silva, Claudia
Ulisses de Carvalho, orient. II. , Marcus Vinicius Loss, coorient. III. Título

CDD 581.15

*Dedico aos meus pais, pelo dom de me ensinar
bons valores e gratidão pelos incentivos diários.
Amo-os infinitamente.*

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)** por abrir as portas para a expansão do conhecimento, pelo apoio e disponibilidade do espaço para a realização desta pesquisa.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas**, pela oportunidade única e ao corpo docente, responsáveis pela minha formação acadêmica. A todos minha admiração e respeito.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos **Laboratórios de Anatomia e Bioquímica de Plantas (LAB-Planta) e Fisiologia e Cultivo *in vitro* de Plantas (LFC-Planta)**, pela permissão de realização das análises necessárias para a conclusão desta pesquisa.

À minha orientadora **Prof. Dra Cláudia Ulisses**, pelo acolhimento e pelos ensinamentos diários, serei eternamente grata. É um ser humano incrível, capaz de enxergar além do profissional, me sinto honrada em tê-la como orientadora. Experiência única e valiosa, grata por tudo.

Aos meus coorientadores **Prof. Dr. Marcus Sperandio** e a **Prof. Dra. Natália Maria**, pela paciência de sempre, pelas contribuições e conhecimentos repassados, minha admiração, carinho, respeito e gratidão sempre.

Ao professor e pesquisador do Instituto Agrônomo do Pernambuco (IPA), **Antônio Félix** e responsável pela coleção de germoplasma ao qual disponibilizou as sementes, utilizadas na realização desta pesquisa. Meus mais sinceros agradecimentos.

Ao quarteto fantástico, as amigas do meu grupo de estudo favorito, que estão desde o início dessa jornada/experiência acadêmica: **Jordana Antônia** pela cumplicidade, parceria e amizade que levarei comigo até o fim, minha dupla e amiga para todas as horas, não caberia aqui o quanto te agradeço por tudo; A **Roberta Paes**, tenho imensa admiração por você, muito orgulho de ser sua amiga, sempre receptiva e disposta a ajudar, dona de um coração gigante e **Alane Danielle**, a blogueirinha, ao qual tenho imenso carinho, uma amiga e tanto, só gratidão pela sua amizade. Amo vocês. Contem sempre.

Aos meus amigos que conheci nesses dois anos, jamais esquecerei das conversas e as risadas compartilhadas no Nempê com todo o grupo reunido: **Fabian Santana**, pela ajuda no experimento, nunca me deixou na mão; **Jackson Silva** pela alegria contagiante; **Robson** pelo

dom da palavra nos momentos que mais precisei; **Islan Diego** pela amizade, te admiro muito; **Suzane**, tem uma fé inabalável, coração e bondade te definem; **Jamile Érica**, tem o dom da calma, lembrarei sempre. Honrada em conhecer todos.

À todo o grupo de pesquisa do LAB.LFC-Planta, sempre dispostos a ajudar, muita gratidão, em especial a **Nany Oliveira**, **Larisse Pereira** e **Neto Palhares** pela disposição em contribuir para esta pesquisa, pelos esclarecimentos e dúvidas sanadas, tive sorte em conhecê-los, os admiro como profissionais, grata para todo o sempre.

Ao amigo que ganhei durante as análises laboratoriais, **Wellington Oliveira (Well)**, sempre muito divertido, alma leve e um ser humano maravilhoso. Saudades dos cafés das manhãs no LAB-Planta. Guardarei sempre na memória.

Aos meus pais, **José Nilson** e **Joana Maria**, por serem minha maior inspiração, não sou nada sem vocês. Bons valores e caráter os definem. Obrigada por tudo. Em resumo: sucesso sem vocês é fracasso. Amo-os com todas as minhas forças.

À minha irmã **Vanessa Moreira**, e além de tudo minha amiga. Deus soube me presentear, você é admirável, independente e guerreira. Estarei sempre aqui. Tudo por você.

Ao meu namorado, companheiro e amigo **Lucas Araújo**, que inicialmente foi meu colega de curso na graduação e hoje é meu colega também na pós-graduação. Seguimos firmes, na vida pessoal e profissional, crescendo juntos. Você foi essencial neste processo. Grata à Deus por você existir. Obrigada por tudo.

Aos meus familiares, em especial **meus avós** que são exemplo de humildade e simplicidade ao qual me inspiro; **Iranailson Daniel** meu tio-irmão, minha prima **Mayara Santos** e tias, donos de um coração cheios de bondade, nunca me deixaram na mão. Um dia retribuirei. Grata por tudo.

Aos meus amigos/irmãos que sei que posso contar sempre e sabem que é recíproco: **Fernanda Souza**, **Ruana Carolina**, **Jael Lima**, **Amanda Dias**, **Flávia Beatriz**, **Diogyns César**. Da graduação para a vida. Amo todos.

Aos casais que admiro e amigos maravilhosos que Deus me presenteou: **Atália Victor**, **Robson Assunção**, **Willianny Cristiny** e **Antônio Neto**. Melhores momentos compartilhados com vocês, são força quando tem de ser e incentivam sempre para o melhor. Contem sempre comigo.

Aos meus amigos desde sempre: **Mateus Alves** (*in memoriam*), você me ensinou que a amizade é tudo, que é sempre bom ter alguém para contar na escuridão; **Higor Alves**, **Rebeca Alves**, **Edilberto Oliveira** e **Francisca Pinheiro**. Essa família me inspira, exemplos de força. São presentes divinos na minha vida.

À minhas amigas que nunca me deixaram desistir, estão sempre comigo, independentemente da situação: **Amanda Samylli, Anne Beatriz, Paloma Guimarães e Mônica Barros**, obrigada por tudo.

A todos que contribuíram de forma direta e indiretamente, a minha eterna gratidão.

E por fim, de modo especial, gratidão à **Deus** por me dar forças para seguir sempre. ‘‘ Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.’’ [Isaías 41:10-14]

“Nossa passagem pela terra é única. Então, seja um semeador de coisas boas, cultive seus sonhos, cuide de quem você ama, perdoe seus erros e seja gentil com a sua jornada”.

Lucas Misunaga

RESUMO

O feijão-fava (*P. lunatus* L.) ocorre em todas as regiões com alta expressividade no Brasil, é a segunda leguminosa mais importante em termos agroeconômicos do gênero *Phaseolus*, devido à sua robustez com colheitas prolongadas durante períodos quentes e secos ao longo do ano, ficando atrás apenas do *P. vulgaris* (feijão-comum). As plantas respondem à seca com o intuito de se aclimatar a tais condições através de ajustes fisiológicos e bioquímicos para sobreviver à situações estressantes. Nessa perspectiva, este estudo tem como objetivo, avaliar o efeito do ácido salicílico (AS) na aclimação de três genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) em condições de déficit hídrico, quanto as respostas fisiológicas e bioquímicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), composto pelo esquema fatorial triplo: 3 (genótipos de feijão-fava) x 2 (níveis de AS, presença 1,0 mM e ausência) x 3 (condições de disponibilidade hídrica), totalizando 18 tratamentos com 8 repetições por tratamento. Verificou-se que os genótipos responderam de formas distintas aos tratamentos de disponibilidade hídrica e AS. O ácido salicílico atuou como elicitador, especialmente no genótipo Orelha de Vó, minimizando os efeitos do estresse hídrico, na maioria dos parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos avaliados. A análise de componentes principais (PCA) também demonstrou que as plantas que receberam AS, apresentaram maior aclimação ao déficit moderado. Portanto, a adoção da aplicação de 1,0mM de AS, pode contribuir no cultivo de *Phaseolus lunatus* em condições de restrição hídrica.

Palavras-chave: Elicitação. Trocas gasosas. Enzimas antioxidantes. Osmorregulação. Regime hídrico.

ABSTRACT

The fava bean (*P. lunatus* L.) occurs in all regions with high expressiveness in Brazil, it is the second most important leguminous in terms of agroeconomic terms of the *Phaseolus* genus, due to its robustness with prolonged harvests during hot and dry periods along the year, second only to *P. vulgaris* (common bean). Plants respond to drought in order to acclimate to such conditions through physiological and biochemical adjustments to survive stressful situations. In this perspective, this study aims to evaluate the effect of salicylic acid (AS) on the acclimatization of three genotypes of fava beans (*Phaseolus lunatus* L.) in conditions of water deficit, regarding physiological and biochemical responses. The experimental design was completely randomized (DIC), composed of the triple factorial scheme: 3 (genotypes of fava beans) x 2 (levels of AS, 1.0 mM presence and absence) x 3 (water availability conditions), totaling 18 treatments with 8 repetitions per treatment. It was found that the genotypes responded in different ways to the treatments of water availability and AS. Salicylic acid acted as an elicitor, especially in the ‘Orelha de Vó’ genotype, minimizing the effects of water stress in most of the biometric, physiological and biochemical parameters evaluated. Principal component analysis (PCA) also showed that plants that received AS showed greater acclimation to the moderate deficit. Therefore, the adoption of the application of 1.0mM of AS, can contribute to the cultivation of *Phaseolus lunatus* in conditions of water restriction.

Keywords: Elicitation. Gas exchange. Antioxidant enzymes. Osmoregulation. Water regime.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Visualização geral do experimento com plantas de 3 genótipos de *Phaseolus lunatus* L., (Cara larga, Cearense e Orelha de Vó) tratadas com o elicitor (ácido salicílico: 0 e 1,0mM), submetidas a diferentes níveis de disponibilidade hídrica (C:75%; DM:50% e DS:25%).39
- Figura 2.** Dados biométricos dos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de Vó de *Phaseolus lunatus* submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0 mM): (A) Altura; (B) Massa seca da parte aérea (MSPA); (C) Massa seca radicular e (D) Relação raiz parte aérea (R/PA). Médias com letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo teste Scott-Knott.44
- Figura 3.** Avaliações fisiológicas dos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de Vó de *Phaseolus lunatus* submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0mM): (A) fotossíntese líquida (A); (B) Condutância estomática (gs); (C) Transpiração (E) e (D) Eficiência do uso da água (A/E); (E) Temperatura foliar e (F) Teor relativo de água (TRA). Médias com letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo teste Scott-Knott.45
- Figura 4.** Avaliação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), Malondialdeído (MDA) e enzimas do estresse oxidativo: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX) nos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de Vó de *Phaseolus lunatus*, submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0mM): (A) Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂); (B) Malondialdeído (MDA); (C) Superóxido Dismutase (SOD) e (D) Catalase (CAT) e (E) Ascorbato Peroxidase (APX). Médias com letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo teste Scott-Knott.46
- Figura 5.** Avaliação de parâmetros bioquímicos: Prolina (PRO); Carboidratos solúveis totais (CST); Proteínas solúveis totais (PST); Clorofila total (Chl total) e Carotenoides (Car) nos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de vó de *Phaseolus lunatus*, submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0mM): (A) Prolina (PRO); (B) Carboidratos solúveis totais (CST); (C) Proteínas solúveis totais (PST); (D) Clorofila total (Chl total); (E) e Carotenoides (CAR). Os valores representam a média de 3 repetições. Médias com letras diferentes a indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo Scott-Knott.48
- Figura 6.** Análise dos componentes principais (PCA) do genótipo Cara Larga: A) e B) Correlação das variáveis relacionadas aos tratamentos hídricos (Com AS e Sem AS; C:

Controle; M: déficit moderado e S: déficit severo); C) Dendograma: Análise de Clusters do agrupamento de todos os tratamentos.....49

Figura 7. Análise dos componentes principais (PCA) do genótipo Cearense: **A)** e **B)** Correlação das variáveis relacionadas aos tratamentos hídricos (Com AS e Sem AS; C: Controle; M: déficit moderado e S: déficit severo); **C)** Dendograma: Análise de Cluster - agrupamento de todos os tratamentos.50

Figura 8. Análise dos componentes principais (PCA) do genótipo Orelha de Vó: **A)** e **B)** Correlação das variáveis relacionadas aos tratamentos hídricos (Com AS e Sem AS; C: Controle; M: déficit moderado e S: déficit severo); **C)** Dendograma: Análise de Cluster - agrupamento de todos os tratamentos.....51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Ácido Abscísico
ANOVA	Análise de variância
APX	Ascorbato peroxidase
AS	Ácido Salicílico
ASA	Ácido ascórbico
CAT	Catalase
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DM	Déficit moderado
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucleico)
EROs	Espécies reativas de oxigênio
A/E	Eficiência do uso da água
GSH	Glutathione
HCN	Ácido cianídrico
IPA	Instituto agrônomo de Pernambuco
LPO	Peroxidação lipídica
MDA	Malondialdeído
PCA	Análise de componentes principais
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ácido ribonucleico)
SOD	Superóxido dismutase

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA	15
1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Aspectos Botânicos e Econômicos do <i>Phaseolus lunatus</i> L.....	19
2.2 Estresse hídrico x Respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas.....	21
2.3 Estresse oxidativo	23
2.4 Ácido salicílico x tolerância a estresse	26
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO II	34
USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS DE <i>Phaseolus lunatus</i> L. (FABACEAE)	34
INTRODUÇÃO	36
MATERIAL E MÉTODOS	37
Análises biométricas	39
Medidas de trocas gasosas	39
Análises bioquímicas	40
Análise estatística.....	43
RESULTADOS	43
DISCUSSÃO	52
CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	58

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Phaseolus lunatus* L. conhecida comumente no Brasil como feijão, bongue, mangalô-amargo, fava-belém, fava-terra, feijão-espadinho, feijão-farinha, feijão fígado de galinha, feijão-fava ou simplesmente fava (CARMO *et al.*, 2013), tem o cultivo predominante na região Nordeste do Brasil, correspondendo cerca de 90% da produção nacional (IBGE, 2020). O feijão-fava (*P. lunatus* L.) é a segunda leguminosa mais importante em termos agronômicos e econômicos do gênero *Phaseolus*, devido à sua robustez com colheitas prolongadas durante períodos quentes e secos ao longo do ano, ficando atrás apenas do feijão comum (*P. vulgaris* L.) (BARREIRO NETO *et al.*, 2015).

Atrelada a importância socioeconômica do feijão-fava, está o alto teor nutritivo, sendo fonte de proteínas, carboidratos, ferro, cálcio, fibra da dieta básica humana e com baixo conteúdo de gorduras. Além disso, possui propriedades funcionais de grande interesse, reconhecida na área da saúde, com o potencial na prevenção de doenças cardiovasculares, e devido a isso, destaca-se como uma alternativa na produção de alimentos fisiologicamente funcionais, com propriedades anti-hipertensivas (CHEL-GUERRERO *et al.*, 2012; SEIDU *et al.*, 2015).

Apesar de ser considerada uma cultura ocorrente em ambientes áridos, pesquisas têm mostrado que a ocorrência de déficit hídrico, provoca efeitos fisiológicos adversos no feijão-fava, afetando o crescimento e conseqüentemente a produtividade das plantas, principalmente nas fases de florescimento e enchimento de grãos (ZLATEV; LIDON, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Os efeitos fisiológicos em decorrência da restrição hídrica, afeta inúmeras atividades biológicas, como o teor de água nas folhas, a absorção de nutrientes, fotossíntese, teor de clorofila, metabolismo celular e dano celular induzido pela oxidação (NADEEM *et al.*, 2019).

Algumas espécies de plantas desenvolvem respostas adaptativas ao déficit hídrico com o intuito de uma aclimação a essas condições, que resultam em ajustes fisiológicos e bioquímicos para sobreviver a certas condições ambientais adversas, alterando seu crescimento e produtividade (OSAKABE *et al.*, 2014). Frente ao aumento da demanda por espécies e/ou cultivares tolerantes a fatores abióticos ou bióticos, algumas substâncias vêm sendo avaliadas quanto a eficiência na indução de tolerância a determinado fator ambiental (KHAN *et al.*, 2015).

Pesquisas recentes têm dado ênfase em novas classes hormonais, como ácido salicílico (AS), explorado como potencial biorregulador para atenuação do estresse em plantas, ativando mecanismos de defesa em plantas submetidas a diferentes condições adversas, como é o caso

do estresse hídrico (ARIVALAGAN; SOMASUNDARAM, 2016). Nesse sentido, a utilização desse composto pode ser uma alternativa viável, uma vez que o ácido salicílico tem como vantagem o baixo custo, alto rendimento e fácil aplicação (ANDRADE *et al.*, 2016).

Entretanto, apesar de existirem estudos sobre a utilização do AS como indutor de tolerância de plantas ao déficit hídrico, pesquisas voltadas ao *P. lunatus* ainda são escassas. Diante disso, sentiu-se a necessidade de realizar pesquisas para avaliar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos como estratégias de mitigação dos efeitos do estresse hídrico em *P. lunatus* L., utilizando o AS para atenuar os sintomas intrínsecos à seca, avaliando genótipos que se aclimatasse às condições de déficit hídrico. Os resultados obtidos poderão colaborar com a agricultura em áreas improdutivas do semiárido nordestino brasileiro. Portanto, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos do AS como atenuador do déficit hídrico em genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), mediante as respostas fisiológicas e bioquímicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Botânicos e Econômicos do *Phaseolus lunatus* L.

A fava ou feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), pertence à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tem origem na Mesoamérica e nos Andes (MARTÍNEZ-CASTILLO *et al.*, 2014). Os Estados Unidos se destacam por sua capacidade produtiva de *P. lunatus* (LONG *et al.*, 2014; USDA-NASS, 2016) e no Brasil, os estados Ceará, Pernambuco, Paraíba, Maranhão, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe, Alagoas e Bahia seguindo em ordem decrescente, são os maiores produtores, e juntos fazem do Nordeste, a maior região produtora com 18.882,36 toneladas de grãos, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2018).

Phaseolus lunatus L. é a segunda leguminosa de maior importância socioeconômica do gênero *Phaseolus* (CHACÓN-SÁNCHEZ, 2017; CAMACHO-PÉRES, 2018), especialmente por seu papel na agricultura de subsistência nos ambientes tropicais úmidos da América e como fonte de nutrientes para populações rurais na América do Sul e África (SILVA *et al.*, 2015).

A família Fabaceae possui 727 gêneros e 19.325 espécies (FERNANDES; GARCIA, 2008) e no Brasil, essa família ocorre em todas as regiões com alta expressividade, estando presentes no território nacional 222 gêneros nativos, 2.807 espécies, 60 subespécies e 729 variedades (LIMA *et al.*, 2015). Dentre as leguminosas cultivadas no mundo, as espécies do gênero *Phaseolus* (*P. vulgaris*, *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. accutifolius*, *P. polianthus*) se destacam por sua importância econômica (SANTOS *et al.*, 2009). Dentre esses gêneros, o *P. lunatus* se configura como uma fonte alimentar, em grãos secos ou verdes, apresentando alto teor nutritivo, ficando atrás apenas do *P. vulgaris*, devido ao consumo e à terra cultivada (LÓPEZ-ALCOCER *et al.*, 2016).

O fato de a exploração do feijão-fava ser relativamente mais baixa quando comparada ao feijão-comum, atribui-se que seja devido ao tempo de cocção e/ou pelo sabor amargo causado pelo ácido cianídrico (HCN) presentes em alguns genótipos de *P. lunatus*, ou ainda por uma questão de tradição de consumo do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) (YELLAVILA *et al.*, 2015). Entretanto, esta característica do amargo pode ser revertida com a realização de práticas de eliminação do HCN, sendo possível mediante realização de um ou dois pré-cozimentos, com total substituição da água utilizada (FARINDE *et al.*, 2019).

Diante disso, vale reforçar sua valorosa utilização na alimentação humana e animal como uma importante fonte de proteínas, diminuindo inclusive a dependência quase exclusiva

do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Além do conteúdo proteico, possui paladar característico, sendo mundialmente utilizado em pratos, nas mais diferentes culinárias e recebendo várias denominações, em função da região cultivada ou forma de utilização na alimentação. Suas folhas podem ser utilizadas como adubo verde ou cultura de cobertura para proteção do solo (MORAES *et al.*, 2017).

A espécie *P. lunatus* é anual e predominantemente autógama, com aproximadamente 10% de taxa de cruzamento natural (OLIVEIRA *et al.*, 2014). É uma leguminosa que possui variedades do tipo determinado (arbustivo) e indeterminado (trepador), possuindo ciclo tardio e maturação desuniforme, devido a isso, existe a necessidade de realização de várias colheitas durante o ciclo. Como o desenvolvimento vegetativo prossegue durante o ciclo, com a emissão de novos nós e florações, as plantas de hábito indeterminado, caracterizado pelo desenvolvimento da gema terminal em um guia, possuem potencial produtivo maior que as plantas que apresentam hábito determinado, onde este último é caracterizado pelo desenvolvimento total da gema apical em uma inflorescência (ANDRADE, 2018). Os seus frutos são do tipo vagem, contendo de duas a quatro sementes, com ampla variabilidade em tamanho, cor e forma (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Em relação às condições edafoclimáticas, o feijão-fava possui grande adaptação ao semiárido, desenvolvendo-se satisfatoriamente principalmente na região Nordeste (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Essa cultura dispõe de algumas particularidades agrônomicas para se desenvolver em ambientes com baixos índices pluviométricos (NETO *et al.*, 2015). Diante disso, Soares (2010), ressalta que a temperatura deve variar entre 24 e 30°C para uma ótima germinação, temperaturas inferiores a 13°C retarda o crescimento e temperaturas noturnas elevadas, acelera a maturação da planta e limita o número e o tamanho das sementes. Nessa perspectiva, sob o ponto de vista de valor cultural e utilização, a fava alicerça a segurança alimentar, especialmente nas comunidades rurais do semiárido, pelo fato de ser uma cultura que apresenta aspectos favoráveis para a adequação nutricional, econômica, social, cultural, climática e ecológica (NOBRE; BRANDÃO JUNIOR, 2016). Esses aspectos consistem em potencial para fornecimento de proteína à população, diminuindo a dependência quase que exclusiva dos feijões dos grupos *Phaseolus* e *Vigna*, além da sua rusticidade, com colheitas prolongadas e realizadas no período seco (GOMES *et al.*, 2010).

Dessa forma, o cultivo do *P. lunatus* além de desempenhar importância econômica, caracteriza-se também como uma cultura que possibilita a fixação do homem no campo, uma vez que seu cultivo se dá basicamente em regime de sequeiro, sem adoção de tecnologias

(OLIVEIRA *et al.*, 2014), e conseqüentemente, apresenta baixo custo de produção, tornando-se uma alternativa em pequenas propriedades rurais, sendo cultivado sobretudo pela agricultura familiar (LOPES *et al.*, 2010).

Apesar da considerável produção dessa espécie entre alguns estados nordestinos, os órgãos de pesquisa têm voltado pouca atenção para esta cultura, o que acarreta um limitado conhecimento em detrimento ao seu manejo, principalmente relacionado às condições ambientais adversas, como o cultivo com limitação hídrica (FEITOSA *et al.*, 2018).

2.2 Estresse hídrico x Respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas

Apesar do *P. lunatus* ser classificado como uma cultura que suporta períodos de estiagem longos, estudos têm mostrado que os efeitos do déficit hídrico no feijão-fava especialmente na fase de florescimento e enchimento de grãos, pode causar grandes reduções em termos de produtividade (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

De maneira geral, a água é de extrema importância na produção vegetal, sua falta ou excesso podem afetar diretamente o desenvolvimento das plantas e por isso, a água é um fator primordial que pode limitar ou maximizar a produtividade agrícola dependendo da disponibilidade (BRITO *et al.*, 2015). Sendo assim, a resposta das plantas ao déficit hídrico é bastante complexa, uma vez que afeta praticamente todos os aspectos de crescimento e desenvolvimento, relacionados com modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (ANJUM *et al.*, 2011). As plantas quando acometidas por déficit hídrico, respondem por meio de ajustes fisiológicos, metabólicos e morfológicos para se adaptarem as condições impostas, onde o controle estomático, a eficiência do uso da água (A/E) e o ajustamento osmótico, são mecanismos de ajustes importantes na manutenção do turgor celular e crescimento das plantas (HAWORTH *et al.*, 2018).

As plantas são capazes de desenvolver algumas estratégias para auxiliar na tolerância contra o déficit hídrico, como perda das folhas e/ou diminuição da área foliar (CASTRO *et al.*, 2019), fechamento dos estômatos que reduz a transpiração, mas acarreta uma redução na disponibilidade de dióxido de carbono (CO_2) nas folhas, inibindo a fixação de carbono, com conseqüente redução das taxas fotossintéticas (OSAKABE *et al.*, 2014), perda das raízes superficiais e proliferação das raízes profundas, além de ajustamento osmótico para manutenção do turgor celular (AZMAT; MOIN, 2019). Segundo Huang *et al.* (2016), a redução da fotossíntese tem sido atribuída à redução da atividade da Rubisco e pelos danos gerados sob condições de estresse mais intenso nos cloroplastos.

Outra resposta das plantas em condições de limitação hídrica, são as alterações bioquímicas, como o acúmulo de solutos osmoticamente ativos, conhecido como ajuste osmótico. Esse mecanismo busca aumentar a concentração de solutos nas células, favorecendo a absorção de água, bem como sua retenção, preservando a turgescência celular e assim, maximizar o aproveitamento de água (MARIJUAN; BOSCH, 2013).

Como uma estratégia de ajustamento osmótico às condições de limitada disponibilidade hídrica, as plantas acumulam compostos orgânicos, tais como a prolina e compostos quaternários de amônio, entre eles a glicina-betaína e os poli-hidroxfílicos (carboidratos e poliálcoois), dentre outros, que se acumulam no vacúolo ou no citosol, preservando a integridade das proteínas, enzimas e membranas celulares por curto período de tempo (ASHRAF *et al.*, 2011). Pandey e Shukla (2015), afirmam que o acúmulo da prolina pode promover nas plantas a capacidade de reparo contra danos tóxicos, aumentando a atividade antioxidante durante o estresse hídrico. Acumula-se nas células com função osmoprotetora, o que previne a desnaturação de proteínas, preserva a estrutura de enzimas, protege as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs). Além de exercer importantes papéis como um quelante de metal e como molécula de sinalização em situações estressantes (FAHRAMAND *et al.*, 2014).

O metabolismo normal das plantas não é afetado negativamente pelo acúmulo desses solutos e as principais alterações serão a pressão osmótica das células, garantindo a continuidade dos processos fisiológicos, porém de forma mais lenta (MARIJUAN; BOSCH, 2013).

Frente ao aumento da demanda por espécies e/ou cultivares tolerantes a estresses ambientais, algumas substâncias vêm sendo estudadas a fim de comprovar a eficiência como indutores de aclimatação a determinado estresse na planta (KHAN *et al.*, 2015). A aclimatação ao déficit hídrico pode desencadear respostas envolvendo a expressão de genes e a modificações fisiológicas e bioquímicas das plantas, surgindo de dias até semanas, o que leva a uma compensação homeostática para os efeitos negativos iniciais do déficit hídrico na fotossíntese (OLIVEIRA; MARENCO, 2019). Resultante dessas alterações haverá um reequilíbrio celular, além da proteção funcional e estrutural das plantas, conferindo assim maior tolerância ou resistência aos estresses. Estes mecanismos, no entanto, irão depender da espécie, tempo de exposição às condições adversas, fatores edafoclimáticos, entre outros (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

O estresse é caracterizado como um desvio significativo das condições ótimas para o desenvolvimento, provocando alterações em todos os níveis funcionais do organismo, que em princípio, podem ser reversíveis, mas podem tornar-se irreversíveis (AJITHKUMAR; PANNEERSELVAM, 2014).

2.3 Estresse oxidativo

O estresse por déficit hídrico é originado pela reduzida disponibilidade de água no solo, reduzindo a absorção de água pelas raízes e pela perda de água através da transpiração. Esses processos são motivados por fatores ambientais e por características genéticas da própria planta (DOMINGHETTI *et al.*, 2016), podendo gerar estresse secundário, conhecido também por estresse oxidativo. Este é caracterizado pelo acúmulo excessivo de EROs nas células, podendo ocasionar danos significativos a nível celular das plantas (GIL; TUTEJA, 2010). Nesse sentido, as EROs dizem respeito ao átomo ou molécula que possui um ou mais elétrons não pareados na sua órbita externa (radical livre), o que lhe confere alta reatividade (CHOUDHURY *et al.*, 2017).

Uma das consequências relacionadas ao déficit hídrico é o desequilíbrio do estado redox intracelular, ocasionando a produção excessiva de EROs, como os radicais livres superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e hidroxila (HO^{\bullet}), e na forma molecular como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a excitação do oxigênio molecular (1O_2) (GIL; TUTEJA, 2010).

As EROs podem agir causando danos ou como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa (JÓŹWIAK; POLITYCKA, 2019). Nesse sentido, o estresse oxidativo induzidos pelas EROs pode causar os seguintes danos: aos lipídios pode provocar danos a cadeia e aumento da fluidez da membrana; em relação as proteínas, pode causar modificações dos sítios específicos dos aminoácidos, fragmentação da cadeia peptídica, agregação de produtos de reação, alterações nas cargas elétricas, inativação de enzimas, aumento da suscetibilidade à proteólise e ao DNA, pode acarretar oxidação, fragmentação de cadeia, remoção de nucleotídeos, modificações de bases, ligações cruzadas entre proteínas (SHARMA *et al.*, 2012).

As EROs são produzidas em vários compartimentos celulares, e são controladas por um sistema antioxidante que atua de forma coordenada e que pode ser classificado em sistema antioxidante não enzimático e enzimático. O ciclo ascorbato-glutationa que inclui um grande número de compostos antioxidantes hidrofílicos, como o ácido ascórbico (ASA) e a glutaciona

(GSH), e ainda enzimas antioxidantes compreende parte do sistema antioxidante não enzimático (MILLER *et al.*, 2010).

Nesse sentido, os processos metabólicos que dependem do oxigênio, como a respiração aeróbica, fotossíntese e fotorrespiração, contribuem para a produção de EROs, em mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, respectivamente (BARBOSA *et al.*, 2014), e sua taxa varia de acordo com estado fisiológico da planta, vale ressaltar que em baixas concentrações, as EROs atuam como sinalizador intercelular, participando da regulação de diversos processos fisiológicos em resposta aos estímulos ambientais (BAXTER *et al.*, 2014).

Porém, o excesso de EROs na célula pode resultar em danos nas estruturas celulares e biomoléculas, como a peroxidação lipídica, desnaturação de proteínas e mutações no ácido desoxirribonucleico (DNA) (REJEB *et al.*, 2014). Nos cloroplastos, a formação de EROs está relacionada com eventos da fotossíntese, enquanto que o fenômeno de fotorrespiração nos peroxissomos é outra forma de produção de H₂O₂, já em relação a produção de EROs em mitocôndrias de plantas, dados recentes sugerem que tais organelas podem ser fontes de EROs sob condições de estresse específicas (FOYER; NOCTOR, 2003).

Esse acúmulo de EROs leva a várias consequências, tais como: oxidação de proteínas, inibição enzimática, dano ao DNA e ao ácido ribonucleico (RNA), funcionamento inadequado da fotossíntese e necrose foliar (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA *et al.*, 2012; CAVATTE *et al.*, 2012). Diante disso, o processo de sinalização e defesa contra o estresse hídrico tem sido associado ao nível de EROs e a atividade de enzimas antioxidantes, o que indica ser um mecanismo regulador de mudanças fisiológicas na planta a partir da redução do potencial hídrico celular (BARBOSA *et al.*, 2014). Dessa forma, acrescenta-se que o equilíbrio da atividade dessas enzimas nas células é fundamental para a determinação do nível estacionário de EROs (HASANUZZAMAN *et al.*, 2012).

Para controlar e regular o teor de EROs resultante da exposição às condições de estresse (KIM *et al.*, 2010), as plantas desenvolveram um sofisticado sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático. Dentre as enzimas que compõe o sistema antioxidante enzimático estão: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato peroxidase (APX). A superóxido dismutase (SOD), faz parte de uma família de metaloenzimas, é considerado o antioxidante enzimático intracelular mais eficiente, como a primeira linha de defesa contra a EROs, transformando o radical superóxido (O₂⁻) em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio, está presente em todos os organismos aeróbicos e em todos os compartimentos subcelulares propícios a oxidação (GIL; TUTEJA, 2010; XU *et al.*, 2013).

Outra enzima que participa em outra linha de defesa indispensável para desintoxicação da EROs durante condições estressantes é a Catalase (CAT), que possui enzimas capazes de desmutar por minuto milhões de moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 , por esta razão, possui uma das maiores taxas de rotatividade (YOU; CHAN, 2015). Maior atividade dessa enzima em condições de estresse indica maior tolerância a estresses (AKCAY *et al.*, 2010).

A Ascorbato peroxidase (APX) é uma heme-proteína, da Classe I da superfamília das peroxidases, com distintas formas isoenzimáticas, diversamente reguladas (BARBOSA *et al.*, 2014). Possui alta afinidade com o H_2O_2 , por esse motivo, é uma das principais enzimas que participam da eliminação rápida dessa molécula. A enzima utiliza o ascorbato como substrato para a metabolização do H_2O_2 , removendo-o mesmo em baixas concentrações (GILL; TUTEJA, 2010). Vale salientar que essas enzimas podem ser encontradas em diferentes localizações subcelulares: as isoformas solúveis são encontradas no citosol, mitocôndria e estroma do cloroplasto, enquanto aquelas ligadas à membrana são encontradas nos peroxissomos, glioxissomos e tilacoides do cloroplasto (SHARMA *et al.*, 2012).

Apesar do papel deletério que tem sido atribuído a grande parte das EROs, alguns autores defendem o papel de sinalizador molecular das condições ambientais, em particular ao H_2O_2 que tem papel essencial nos mecanismos de defesa do vegetal, além de atuar como sinalizador no processo de indução de resistência (LEHMANN *et al.*, 2015). Dessa forma, alguns autores defendem que o acúmulo de H_2O_2 em tecidos específicos e em quantidades apropriadas, beneficia as plantas mediando aclimatação e tolerância cruzada a estresses bióticos (CARVALHO *et al.*, 2011; BÁRZANA *et al.*, 2014). Contudo, cabe ressaltar que o acúmulo em excesso das EROs em geral, causam danos oxidativos nas estruturas celulares e prejuízos ao metabolismo da planta inteira (ZHANG *et al.*, 2019).

A mensuração de Malondialdeído (MDA), é utilizada para analisar o grau da peroxidação lipídica em plantas sob estresse (MAXWADA; EL-KADER, 2016), uma vez que seu aumento pode indicar uma condição de estresse oxidativo, podendo afetar ou não variáveis importantes na planta (ZENGIN, 2013). Segundo Anjum (2017), essa peroxidação lipídica (LPO) pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultante da ação dos radicais livres sobre os lipídeos insaturados das membranas celulares, gerando principalmente radical alquila (L^\bullet), alcoxila (LO^\bullet) e peroxila (LOO^\bullet), levando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, numa condição extrema, à morte celular, pois plantas com alta produção de MDA são mais sensíveis, e por isso, podem sofrer mais danos pelos efeitos da seca.

Embora exista um crescente interesse em compreender os processos envolvidos na resposta ao estresse oxidativo, ainda não é possível afirmar quais são os níveis críticos de EROs, principalmente do H₂O₂, que levam à sinalização ou dano oxidativo (MILLER *et al.*, 2010), pois a tolerância ao déficit hídrico nas plantas, pode variar em maior ou menor grau, dependendo do genótipo, da duração e da severidade do estresse, da idade e do estágio de desenvolvimento da planta (BANDURSKA *et al.*, 2013). Partindo desse pressuposto, Cortés *et al.* (2011), reforçam que a tolerância à restrição hídrica inclui traços fisiológicos complexos que devem ser analisados em termos da variação da capacidade da planta de detectar mudanças no ambiente e produzir respostas.

2.4 Ácido salicílico x tolerância a estresse

Os fitormônios ou hormônios vegetais são substâncias que atuam em diversas fases do desenvolvimento e crescimento das plantas. Em pequenas concentrações, podem causar mudanças sobre as características morfológicas, fisiológicas e moleculares, atuando também na tolerância das plantas contra estresses. No entanto, altas concentrações, pode intensificar o efeito dos estresses (AGOSTINI *et al.*, 2013). Nesse sentido, elicitores são compostos capazes de ativar mecanismos de defesas nas plantas que, quando utilizadas em pequenas concentrações induzem ou aumentam a biossíntese de enzimas que participam da formação de compostos de defesa vegetal, isto é, atuam como indutores de tolerância (BAENAS *et al.*, 2014).

Nesse sentido, reguladores de crescimento de plantas desempenham papéis importantes em processos de desenvolvimento de plantas e redes de sinalização envolvidos direta ou indiretamente em uma ampla gama de respostas aos estresses biótico e abiótico (ASGHER *et al.*, 2015). Alguns hormônios já foram documentados como fundamentais para processos relacionados com defesa em muitas espécies vegetais tais como o ácido abscísico (ABA), o ácido salicílico (AS) e o etileno, estes podem agir isoladamente ou associados e controlar os efeitos uns dos outros (SANTINO *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2019).

O ácido salicílico (AS) é um hormônio vegetal, que está relacionado a diversas funções regulatórias no metabolismo das plantas, atuando tanto na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal, quanto na amplificação e sinalização de protetores enzimáticos com a capacidade de promover respostas adaptativas na planta (ASGHER *et al.*, 2015). A biossíntese do AS pode ocorrer através de duas vias enzimáticas diferentes: pela via dos fenilpropanoides e pela via do isocorismato (CASTILHO FILHO *et al.*, 2017). Além disso, o AS pode agir de modo isolado, associado ou controlar os efeitos de outros hormônios (KHAN *et al.*, 2012).

O AS é capaz de reduzir os efeitos negativos de: *i*) estresses bióticos, como patógenos em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* Degener) (SILVA *et al.*, 2016), plantas parasitas em girassol (*Helianthus annuus* L.) (YANG *et al.*, 2016) e insetos em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) (RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2015); *ii*) abióticos, como metais pesados em feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) (WAEEL *et al.*, 2015), salinidade e déficit hídrico em milho (*Zea mays*) (GUNES *et al.*, 2007; LATIF *et al.*, 2016), temperatura e radiação UV-B em ervilha (*Pisum sativum*) (MARTEL; QADERI, 2016); e *iii*) xenobióticos, como a utilização de herbicidas na cultura do trigo (*Triticum spp.*) (DIAS *et al.*, 2017).

Esse fitormônio regula vários processos, dentre os quais destacam-se o fechamento estomático, absorção de nutrientes, síntese de clorofila e proteínas, desenvolvimento de frutos, abscisão foliar e inibição da síntese de etileno, da germinação de sementes e do crescimento de plantas (SHARAFIZAD *et al.*, 2013). Além disso, evidências indicam que o ácido salicílico é uma molécula natural sinalizadora para a ativação de defesas da planta, atuando na modificação do sistema antioxidante por estimular a ação e produção das enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidase (SHARMA; BHARDWAJ, 2014). Estudos têm demonstrado que a aplicação exógena de baixas concentrações de AS, em tecidos vegetais, promove alterações fisiológicas, como acréscimo na estatura de plantas, na área foliar e no diâmetro do caule (DIAS *et al.*, 2019), incremento no teor de pigmentos fotossintetizantes (VICENTE; PLASENCIA, 2011), aumento da germinação e do crescimento de plântulas (WANG *et al.*, 2013), a produção de frutos, a absorção e transporte de água e nutrientes (HAYAT *et al.*, 2010). Nesse sentido, a utilização desse composto é uma técnica viável, uma vez que o ácido salicílico tem como vantagem o baixo custo, o alto rendimento e fácil aplicação (ANDRADE *et al.*, 2016).

Apesar de existirem estudos sobre a utilização do ácido salicílico como indutor de tolerância de plantas ao déficit hídrico, pesquisas voltadas ao feijão-fava ainda são escassas. Portanto, torna-se necessário desenvolver pesquisas para avaliar os diferentes mecanismos fisiológicos e bioquímicos em genótipos de feijão-fava, como estratégias de mitigação dos efeitos do estresse hídrico. Favorecendo o entendimento da ação do ácido salicílico na atenuação dos sintomas do déficit hídrico, auxiliando na seleção de genótipos tolerantes às condições de déficit hídrico, onde os resultados obtidos poderão colaborar com a agricultura em áreas improdutivas do semiárido nordestino brasileiro.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, Edna Antônia Torquato de; MACHADO-NETO, Nelson Barbosa; CUSTÓDIO, Ceci Castilho. Induction of water deficit tolerance by cold shock and salicylic acid during germination in the common bean. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 209-219, 2013.
- AKCAY, U. C. et al. (*Arachis hygaeae* L.) seedling. **Plant Growth Regulation**, v. 61, p. 21-28, 2010.
- ANDRADE, T. E. G. **Caracterização citogenética e predição de cruzamentos intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L.** 2018. 73f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2018.
- ANJUM, Shakeel A. et al. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.
- ANJUM, Shakeel Ahmad et al. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African journal of agricultural research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.
- ARIVALAGAN, Maruthaiya; SOMASUNDARAM, Ramamurthy. Induction of drought stress tolerance by propiconazole and salicylic acid in *Sorghum bicolor* is mediated by enhanced osmoregulation, compatible solutes and biochemical accumulation. **J. Appl. Adv. Res**, v. 1, p. 41-52, 2016.
- ASGHER, Mohd et al. Minimising toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. **Protoplasma**, v. 252, n. 2, p. 399-413, 2015. ASHRAF, M. et al. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 29, n. 3, p. 162-190, 2010.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C.; Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v. 2, p. 163-190, 2013.
- AZMAT, Rafia; MOIN, Sumeira. The remediation of drought stress under VAM inoculation through proline chemical transformation action. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 193, p. 155-161, 2019.
- BAENAS, Nieves; GARCÍA-VIGUERA, Cristina; MORENO, Diego A. Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 13541-13563, 2014.
- BANDURSKA, Hanna; NIEDZIELA, Justyna; CHADZINIKOLAU, Tamara. Separate and combined responses to water deficit and UV-B radiation. **Plant Science**, v. 213, p. 98-105, 2013.
- BARBOSA, Marta Ribeiro et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BARREIRO NETO et al. Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciadas. **Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.9, n.3, p.23-27, 2015.

- BÁRZANA, Gloria et al. New insights into the regulation of aquaporins by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize plants under drought stress and possible implications for plant performance. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, n. 4, p. 349-363, 2014.
- BAXTER, Aaron; MITTLER, Ron; SUZUKI, Nobuhiro. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 5, p. 1229-1240, 2014.
- BRITO, Ramilos Rodrigues et al. Produtividade do Feijoeiro Sob Diferentes Potenciais Matriciais e Fatores de Depleção da Água no Solo. **Nativa**, v. 3, n. 2, p. 109-114, 2015.
- CAMACHO-PÉREZ, Luciana et al. Genetic structure of Lima bean (*Phaseolus lunatus L.*) landraces grown in the Mayan area. **Genetic resources and crop evolution**, v. 65, n. 1, p. 229-241, 2018.
- CARMO, Mara Danielle Silva do et al. Genetic variability in subsamples of determinate growth lima bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 158-164, 2013.
- CARVALHO, Fabricio E. et al. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 4, p. 416-423, 2011.
- CASTILHO FILHO et al. Ácido salicílico e potencial germinativo na germinação de sementes de pepino. **Revista Inova Ciência & Tecnologia/Innovative Science & Technology Journal**, v. 3, n. 2, p. 7-12, 2017.
- CASTRO, J. N. et al. Physiological tolerance to drought under high temperature in soybean cultivars. **Australian Journal of Crop Science**, 13, 976-987. 2019.
- CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Testing Domestication Scenarios of Lima Bean (*Phaseolus lunatus L.*) in Mesoamerica: Insights from Genome-Wide Genetic Markers. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1551, 2017.
- CHEL-GUERRERO, L. et al. D. Lima Bean (*Phaseolus lunatus L.*) Protein Hydrolysates with ACE-I Inhibitory Activity. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 511–521, 2012.
- CHOUDHURY S. et al. Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. **Plant Signaling e Behavior**, v. 8, p. 1-6, 2013.
- CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento de safra brasileira. Grãos. Safra 2017/2018. Monitoramento agrícola. Brasília, v.5, n.12, p. 1-148. 2018.
- CORTÉS, Andrés J.; CHAVARRO, Martha C.; BLAIR, Matthew W. SNP marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris L.*). **Theoretical and applied genetics**, v. 123, n. 5, p. 827, 2011.
- DIAS, R. D. C.; BIANCHI, L. et al. Ácido salicílico e acibenzolar-S-methyl como atenuadores de fitointoxicação causada pelo chlorimuron-ethyl na cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 141-150, 2019.
- DOMINGHETTI, A.W. et al. Tolerância ao déficit hídrico de Cafeeiros produzidos pos estaquia e embriogênese somática. **Coffee Science**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 117–126, 2016.

- FAHRAMAND, M. et al. Influence of abiotic stress on proline, photosynthetic enzymes and growth. **International Research Journal of Applied and Basic Sciences**, v. 8, n. 3, p. 257-265, 2014.
- FARINDE, Elizabeth Oluremi; ABIOSE, Sumbo Henrietta; ADENIRAN, Hezekiah Adekanmi. Diversity of bacteria during fermentation of limabean into daddawa. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 2019, p. 1228-1232, 2019.
- FEITOSA, S. S. et al. Fisiologia do *Sesamum indicum* L. sob estresse hídrico e aplicação de ácido salicílico. **Irriga**, v. 21, n. 4, p. 711, 2018. 10.3389/fpls.2014.00086. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00086/full>. Acesso em: 17 maio 2020.
- FOYER, Christine H.; NOCTOR, Graham. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia plantarum**, v. 119, n. 3, p. 355-364, 2003.
- GIL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, dec. 2010.
- HASANUZZAMAN, M. et al. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: BANDI, V. et al. (Ed.). Crop stress and its management: perspectives and strategies. **International Journal of Molecular Science**, p. 261-316, 2012.
- HAYAT, Q. et al. Salicylic acid mediated changes in growth, photosynthesis, nitrogen metabolism and antioxidant defense system in *Cicer arietinum* L. **Plant, Soil and Environment**, v. 58, n. 9, p. 417-423, 2010.
- HUANG, W., YANG, Y. J., HU, H., & ZHANG, S. B. Moderate photoinhibition of photosystem II protects photosystem I from photodamage at chilling stress in tobacco leaves. **Frontiers in plant science**, 7, 182. 2016.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - **IBGE**. **Bancos de Dados Agregados**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acesso em: 22 mai. 2020.
- JÓZWIAK, W.; POLITYCKA, B. Effect of Selenium on Alleviating Oxidative Stress Caused by a Water Deficit in Cucumber Roots. **Plants**, 8, 217. 2019.
- KHAN, M. Iqbal R. et al. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 462, 2015.
- KIM, M. D. et al. Enhanced tolerance to methyl viologen induced oxidative stress and high temperature in transgenic potato plants overexpressing the CuZnSOD, APX and NDPK2 genes. **Physiologia plantarum**, v. 140, n. 2, p. 153-162, 2010.
- LATIF, F. et al. Effects of salicylic acid on growth and accumulation of phenolics in *Zea mays* L. under drought stress. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Stockholm, v. 66, n. 4, p. 325-332, 2016.

LEHMANN, S. et al. Reactive oxygen species and plant resistance to fungal pathogens. **Phytochemistry**, v. 112, p. 54-62, 2015.

LIMA, H. C. de. ALVES-ARAÚJO, A.; CARRIJO, T. T. **Fabaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB115>. Acesso em: 30 maio 2020.

LIU, J. et al. Transcriptome profiling reveals the association of multiple genes and pathways contributing to hormonal control in celery leaves, **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, 51:524- 534, 2019.

LONG, R. et al. Lima Bean Production in California. **University of California, ANR**, n. 8505, p. 25, 2014.

LOPES, A.C.A et al. **Diversidade Genética. A cultura do feijão-fava na Região Meio-Norte do Brasil**. 1 ed. Teresina: UFPI, v.1, p.45-72. 2010.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, n. 12, p. 660-666, 2013.

MARTEL, Ashley B.; QADERI, Mirwais M. Does salicylic acid mitigate the adverse effects of temperature and ultraviolet-B radiation on pea (*Pisum sativum*) plants?. **Environmental and Experimental Botany**, v. 122, p. 39-48, 2016.

MARTÍNEZ-CASTILLO, Jaime et al. Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: implications for conservation and the domestication of the species. **American journal of botany**, v. 101, n. 5, p. 851-864, 2014.

MILLER, G. et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v.33, p.453-467, 2010.

MORAES, C. S. de. **Catálogo de fava (*Phaseolus lunatus* L.) conservada na Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. 46 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1074983>. Acesso em: 10 julho 2019.

NADEEM, M.; LI, J. et al. Research progress and perspective on drought stress in legumes: A review. **International Journal Molecular Science**, v. 20, n. 2541, p. 1-32, 2019.

NASCIMENTO, S. P. et al. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 853-860, ago. 2011.

NETO, M. B et al. Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciados. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 9, n. 3, p. 23-27, 2015.

NOBRE, D.A.C.; BRANDÃO JUNIOR, D. da S. **Feijão-fava (*Phaseolus lunatus L.*)**. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/feijao-fava-phaseolus-lunatus-l>. Acesso em: 20 ago. 2020.

OLIVEIRA, A. E. S. et al. Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus L.*) sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. **Holos**, Natal, v. 1, p. 143-151, 2014.

OLIVEIRA, C. F. et al. Deterioração de sementes de espécies brasileiras de Eugenia em função da incidência e do controle de fungos. **Revista Brasileira de sementes**, v. 33, n. 3, p. 520-532, 2011.

OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S. B.; BEBEDITO, C. P. Caracterização botânica e agrônômica de acessos de feijão-fava, em Mossoró, RN. **Revista Caatinga**, v.24, p.143-148, 2011.

OLIVEIRA, M. C. P.; MEIRELLES, A. C. S.; LOPES, A. C. A.; COSTA, M. F. Phenology, Vegetative Development and Pollen Viability. Accessions. In: FERREIRA, A. S.; LOPES, A. C. DE A.; GOMES, R. L. F. (Eds.). *Phaseolus lunatus*. Diversity, Growth and Production. 1. ed. New York: Nova **Science publishers**, Inc., p. 1-26, 2015.

OLIVEIRA, Marcilia Freitas; MARENCO, Ricardo Antonio. Gas exchange, biomass allocation and water-use efficiency in response to elevated CO₂ and drought in andiroba (*Carapa surinamensis*, *Meliaceae*). **iForest-Biogeosciences & Forestry**, v. 12, n. 1, 2019.

OSAKABE, Yuriko et al. Response of plants to water stress. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 86, 2014.

REJEB, K.B. et al. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.80, p.278-284, 2014.

SANTINO, A. et al. Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple abiotic stresses. **Plant Cell Report**, 32:1085-1098, 2013.

SEIDU, K. T. et al. Amino acid composition, mineral contents and protein solubility of some lima bean (*Phaseolus lunatus L. Walp*) seeds coat. **Food Research International**, v. 73, p. 130–134, 2015.

SHARAFIZAD, M. et al. Effect of salicylic acid pretreatment on germination of wheat under drought stress. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v.5, n.3, p.179-199, 2013.

SHARMA, A.; BHARDWAJ, R.D. Effect of seed pre-treatment with varying concentrations of salicylic acid on antioxidant response of wheat seedlings. **Indian Journal of Plant Physiology**, vol. 19, n. 3, p. 205-209. <https://doi.org/10.1007/s40502-014-0100-0>. 2014.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1–26, 2012.

SILVA, M. D. S et al. Aplicação exógena do ácido salicílico em maracujazeiro-amarelo para o controle do vírus do endurecimento dos frutos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, n. 1, p. 1-7, 2016.

SILVA, V et al. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 683-692, 2015.

SOARES, C. A. et al. Aspectos sócioeconômicos. In: LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. (Eds.) **A cultura do feijão-fava no Meio Norte do Brasil**. Teresina - PI: EDUFPI, 2010.

USDA-NASS (United States Department of Agriculture-National Agricultural Statistics Service Information). Principal processing vegetables, area planted, harvested, production and value by Crop - United States: 2013-2015 (Domestic Units). **Vegetables 2015 Summary**, p. 56-58, 2016.

VICENTE, R. S.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defence: Its role in plant growth and development. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 3321–3338, 2011.

WAEEL, M. S, et al. Alleviation of cadmium toxicity in common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) plants by the exogenous application of salicylic acid. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 90, n. 1, p. 83-91, nov. 2015.

WANG, Y. et al. Relationship between endogenous salicylic acid and antioxidant enzyme activities in maize seedlings under chilling stress. **Exp. Agric.**, v. 49, p. 295–308, 2013.

XU, J. et al. Enhanced Reactive Oxygen Species Scavenging by Overproduction of Superoxide Dismutase and Catalase Delays Postharvest Physiological Deterioration of Cassava Storage Roots. **Plant Physiology**, v. 161, p. 1517-1528, 2013.

YANG, C. et al. Seed treatment with salicylic acid invokes defence mechanism of *Helianthus annuus* against *Orobanche cumana*. **Annals of Applied Biology**, v. 169, n. 3, p. 408-422, 2016.

YELLAVILA, S. B. et al. Proximate Composition, Minerals Content and Functional Properties of Five Lima Bean Accessions. **Journal of Food Security**, 3(3): 69-94. 2015.

YOU, J.; CHAN, Z. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, n. 1092, p. 1-15, 2015. DOI: 10.3389/fpls.2015.01092. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.01092/full>. Acesso em: 25 maio 2020.

ZENGIN, F. Physiological behavior of bean (*Phaseolus vulgaris L.*) Seedlings under metal stress. **Biological research**, Santiago, v. 46, n. 1, p. 79-85, 2013. DOI: 10.4067/S0716-97602013000100012. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S07167602013000100012&script=sci_arttext&tlng=e Acesso em: 29 maio 2020.

ZHANG, C. et al. Drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa L.*) varieties is associated with enhanced antioxidative protection and declined lipid peroxidation. **Journal of plant physiology**, v. 232, p. 226-240, 2019.

ZLATEV, Z.; LIDON, F. C. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 24, n. 1, p. 57-72, 2012.

CAPÍTULO II

USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS DE *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE)

Artigo a ser submetido a Revista *Plant Physiology and Biochemistry*

USO DO ÁCIDO SALICÍLICO COMO INDUTOR DA ACLIMATAÇÃO AO DÉFICIT HÍDRICO EM GENÓTIPOS DE *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE)

Jakeline Moreira da Silva¹; José Lucas de Araújo¹; Henarmmany Cristina Alves de Oliveira² Marcus Vinícius Loss Sperandio¹; Natália Maria Corte-Real³; Cláudia Ulisses¹

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife-PE

² Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife-PE

³ Centro Universitário Brasileiro, UNIBRA, Recife-PE

RESUMO

O feijão-fava (*P. lunatus* L.) ocorre em todas as regiões com alta expressividade no Brasil, é a segunda leguminosa mais importante em termos agroeconômicos do gênero *Phaseolus*, devido à sua robustez com colheitas prolongadas durante períodos quentes e secos ao longo do ano, ficando atrás apenas do *P. vulgaris* (feijão-comum). As plantas respondem à seca com o intuito de se aclimatar a tais condições através de ajustes fisiológicos e bioquímicos para sobreviver à situações estressantes. Nessa perspectiva, este estudo tem como objetivo, avaliar o efeito do ácido salicílico (AS) na aclimação de três genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) em condições de déficit hídrico, quanto as respostas fisiológicas e bioquímicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), composto pelo esquema fatorial triplo: 3 (genótipos de feijão-fava) x 2 (níveis de AS, presença 1,0 mM e ausência) x 3 (condições de disponibilidade hídrica), totalizando 18 tratamentos com 8 repetições por tratamento. Verificou-se que os genótipos responderam de formas distintas aos tratamentos de disponibilidade hídrica e AS. O ácido salicílico atuou como elicitador, especialmente no genótipo Orelha de Vó, minimizando os efeitos do estresse hídrico, na maioria dos parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos avaliados. A análise de componentes principais (PCA) também demonstrou que as plantas que receberam AS, apresentaram maior aclimação ao déficit moderado. Portanto, a adoção da aplicação de 1,0mM de AS, pode contribuir no cultivo de *Phaseolus lunatus* em condições de restrição hídrica.

Palavras-chave: Elicitação; Trocas gasosas; Enzimas antioxidantes; Osmorregulação; Regime hídrico.

INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é uma das causas de perda extensiva na produção agrícola mundial, sendo uma grave ameaça à agricultura sustentável (COMAS *et al.*, 2013) e principalmente a pequenos produtores. A irregularidade de chuvas e o aumento da seca, são uns dos principais efeitos das mudanças climáticas, sendo necessário a busca de soluções que venham minimizar esse aumento de mortalidade vegetal e redução de produtividade, a fim de garantir a segurança alimentar nesse cenário (VAN LEEUWEN; DESTAC-IRVINE, 2017).

Por isso, compreender como as plantas utilizam a água para a produção de biomassa e fornecer estratégias que favoreçam a aclimatação de espécies agricultáveis, tornou-se uma questão fundamental (ROSALES *et al.*, 2012). É válido ressaltar que a suscetibilidade das plantas ao estresse hídrico varia em dependência das espécies e os seus estádios de desenvolvimento, do grau de estresse, bem como diferentes fatores de estresse associados e o tempo de resposta da planta a esses fatores (PEKSEN *et al.*, 2014)

Sabe-se que, a aclimatação das plantas ao déficit hídrico é o resultado de eventos mútuos na planta, como mudanças no crescimento, na taxa fotossintética, no potencial osmótico do tecido e no sistema de defesa antioxidativo, que levam a mudanças adaptativas no desenvolvimento das plantas, alterando os processos fisiológicos e bioquímicos (NAKASHIMA *et al.*, 2014), visando favorecer a tolerância da planta frente ao agente estressor.

Entender como espécies agricultáveis respondem ao déficit hídrico e buscar formas de induzir maior tolerância, se torna uma importante ferramenta que pode favorecer ações para a agricultura familiar sustentável, além de fornecer subsídios para pesquisas com outras espécies vegetais.

Por exemplo a espécie *Phaseolus lunatus* L. - Fabaceae (feijão-fava) que faz parte do grupo de leguminosas de grande importância econômica e social no Brasil, especialmente na Região Nordeste, é citada como uma espécie rústica, devido ao seu fácil cultivo, tolerância a ambientes mais secos e prolongadas colheitas durante a estação seca e com isso, tem se estabelecido como uma importante fonte alternativa de alimento e renda para a população (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Além disso, a maioria destes genótipos são caracterizados como sementes crioulas, que de acordo com a Legislação Brasileira (Lei 10.711), são espécies de variedades de origem local ou tradicional, comumente utilizadas e preservadas pela agricultura familiar, comunidades indígenas, quilombolas e outros povos tradicionais, sendo selecionadas e adaptadas ao longo dos anos para o tipo de região designado por tais produtores (PETERSEN *et al.*, 2013)

Por ser amplamente cultivada em áreas com clima semiárido, como na Região Nordeste do Brasil, *P. lunatus* está susceptível a diversos eventos que lhe expõem a situações de déficit hídrico, como solos rasos com baixa disponibilidade hídrica, altas temperaturas e alta evapotranspiração, além de ser uma região com chuvas irregulares (MORO *et al.*, 2016).

O uso de substâncias osmoprotetoras, reguladores de crescimento e moléculas de sinalização de estresse vêm sendo utilizadas com sucesso para induzir a tolerância a vários estresses bióticos e abióticos (FAROOQ *et al.*, 2010). Como por exemplo, o ácido salicílico (AS) - fitormônio eficaz em impulsionar respostas em situações adversas, capaz de ativar a expressão do gene de defesa no vegetal (LI *et al.*, 2019).

O AS possui inúmeras funções benéficas como reguladoras no metabolismo das plantas, atuando no crescimento, desenvolvimento, fotossíntese, transpiração, captação de íons e transporte no sistema da planta (KAWANO *et al.*, 2013). Apesar de já existir pesquisas importantes sobre a utilização do ácido salicílico como atenuador de estresse hídrico, estudos focados no feijão-fava ainda são pouco explorados. Diante disso, este trabalho tem como pressupostos que, (I) os genótipos de *P. lunatus* (feijão-fava) respondem de forma distinta quando submetidos à diferentes níveis de disponibilidade hídrica e (II) a aplicação do ácido salicílico tem efeitos positivos na aclimação de genótipos de feijão-fava quanto ao déficit hídrico.

Portanto, o presente trabalho avaliou o efeito do ácido salicílico nas respostas fisiológicas e bioquímicas em genótipos de *P. lunatus*, submetidos a diferentes condições de disponibilidade hídrica, com a finalidade de minimizar os sintomas do déficit hídrico.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Foram utilizados três genótipos de *P. lunatus* L. oriundos da coleção de germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), sendo estes: Cara Larga – Ciclo: menos de 90 dias; Cearense – Ciclo: menos de 90 dias; e Orelha de Vó: Ciclo: 111 a 120 dias. Esses genótipos apresentam hábito de crescimento indeterminado e possuem características agrônomicas e comerciais satisfatórias, escolhidas por serem as mais cultivadas na região Nordeste, possuindo maior resistência a pragas e doenças, além de produtivas na realidade local. Todos os genótipos foram advindos de agricultores familiares rurais, sendo caracterizados como sementes crioulas, repassadas geração após geração.

Foram utilizados vasos com capacidade para 5,5 L, onde foi adicionado substrato composto por areia lavada, terra vegetal e fibra de coco, na proporção de 3:2:1, respectivamente. Após a introdução do substrato supracitado nos vasos, as sementes dos 3 genótipos foram semeadas, onde cada vaso recebeu 3 sementes do mesmo genótipo. Após 15 dias da semeadura foi realizado o desbaste, deixando apenas uma planta por vaso (unidade experimental). O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pertencente ao Departamento de Fitotecnia, situado sob as coordenadas geográficas de 8°01'71"05" S, 34°94'48.09" W, no período de agosto a dezembro de 2019.

Germinação e pré-condicionamento com ácido salicílico x Disponibilidade hídrica

Aos 30º dias após a germinação (DAG), foi realizada a aplicação do 1,0 mM de ácido salicílico (AS) via aspersão foliar na parte adaxial e abaxial (até o ponto de gotejamento). Nove dias após a aplicação do AS, iniciou os tratamentos com diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica (Déficit Severo (DS)- 25%, Déficit Moderado (DM) - 50% e Controle (C) - 75% da capacidade de pote).

Aos 30º dias após a germinação (DAG), foi realizada a aplicação do 1,0 mM de ácido salicílico (AS) via aspersão foliar na parte adaxial e abaxial (até o ponto de gotejamento). Nove dias após a aplicação do AS, iniciou os tratamentos com diferentes tratamentos de disponibilidade hídrica (DS- 25%, DM- 50% e C- 75% da capacidade de pote). A capacidade de pote (CP) foi adotada como o conteúdo de água retida pelo solo após sofrer saturação e consequente ação da gravidade, até o cessamento da drenagem, de acordo com Souza et al. (2000). Após a obtenção do peso túrgido e seco dos potes, cálculos foram realizados mediante regra de três para precisar as quantidades de água fixa para cada tratamento. A rega foi realizada em dias alternados, onde foram coletados as médias da umidade do solo de seis plantas por tratamento com auxílio do aparelho de umidade do solo (Hydrosense II), sendo possível dessa forma, nos dias de rega, calcular quanto de água faltava para obtenção da quantidade exata que as plantas necessitavam de acordo com os níveis estabelecidos em cada tratamento.

Aos 60 dias com os tratamentos com diferentes níveis de disponibilidade hídrica, foram realizadas as análises biométricas e a coleta de material vegetal para a realização das análises bioquímicas a fim de avaliar a aclimação dos genótipos previamente tratados com ácido salicílico ao déficit hídrico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), composto pelo esquema fatorial triplo: 3 genótipos de feijão-fava x 2 pré-condicionamento com

elicitor (0,0 e 1,0 mM de AS) x 3 condições de disponibilidade hídrica (Déficit severo: 25%, Déficit moderado: 50% e Controle: 75% da capacidade de pote) totalizando 18 tratamentos com 8 repetições por tratamento, perfazendo 144 plantas no experimento.

Análises biométricas

A partir do estabelecimento dos tratamentos com diferentes percentuais de disponibilidade hídrica foram realizadas às avaliações biométricas a cada 15 dias durante 60 dias. Sendo mensuradas a altura da planta (cm) com auxílio de fita métrica, do colo ao ápice da planta (gema terminal), o diâmetro do caule foi medido a 1 cm do solo com o auxílio de paquímetro. Aos 60 dias foram coletados materiais para mensurar a massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSRA). As plantas foram tutoradas com varas de bambu medindo aproximadamente 2 m.



Figura 1. Visualização geral do experimento com plantas de 3 genótipos de *Phaseolus lunatus L.*, (Cara larga, Cearense e Orelha de Vó) tratadas com o elicitor (ácido salicílico: 0 e 1,0mM), submetidas a diferentes níveis de disponibilidade hídrica (C:75%; DM:50% e DS:25%).

Medidas de trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas foram realizados (10h-14h) em folhas completamente expandida no terço médio da planta, sem indício de ataque de fitopatógenos, a cada 30 dias, durante os 60 dias do experimento. Foram mensuradas a condutância estomática (*gs*), taxa de

transpiração (E) e taxa de fotossíntese líquida (A), temperatura foliar (TF), utilizando um analisador de gases a infravermelho (IRGA) LI 6400XT (LI-COR, USA). Mediante aos dados de E e A , foi possível calcular o uso eficiente da água (EUA) sendo calculada pela relação A/E . E as leituras foram feitas em concentração de CO_2 e luminosidade do ambiente.

Além disso, o teor relativo de água foliar (TRA) foi determinado de acordo com o método proposto por Fidalgo *et al.* (2004). Para isto, coletas foram feitas nos horários entre as 15h e 16h, no qual nove discos foliares de 10 mm de diâmetro de cinco plantas por tratamento para a determinação da massa fresca (Mf) utilizando uma balança analítica de precisão. Os discos foram colocados em placas de Petri e imersos em água destilada por 24 h, após isso, removeu-se superficialmente, dos discos foliares, o excesso de água com papel absorvente e foram novamente pesados para a obtenção da massa túrgida (Mt). Em seguida foram acondicionados em sacos de papel, levados à estufa de aeração forçada por 48 h a 65°C para determinar a massa seca (Ms). De posse dos dados da pesagem dos discos foliares frescos, túrgidos e secos, o TRA foi estimado conforme a fórmula:

$$TRA = \frac{Mf - Ms}{Mt - Ms} \times 100$$

Onde: Mf = Massa fresca; Ms = Massa seca e Mt = Massa túrgida

Análises bioquímicas

Folhas inteiras e saudáveis, foram coletadas e congeladas em nitrogênio líquido aos 60 dias (final do período experimental) para realização das seguintes análises bioquímicas:

Teores de proteínas solúveis totais (PST)

Foi macerado 0,2g de material vegetal em nitrogênio líquido (NL_2) com adição de 40mg de polivinilpirrolidona (PVPP). Esta mistura foi homogeneizada em 2 ml de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) acrescido com de, 3 mM de 1,4-ditiotreitol (DTT) e 1 mM de ácido etilenodiamina tetracético (EDTA). Posteriormente, o extrato resultante foi centrifugado a 10.000 rpm a 4°C por 20 minutos, e o sobrenadante foi coletado para posterior leitura, de acordo com a metodologia de Bradford, 1976. Este mesmo extrato foi utilizado para as análises das enzimas, no comprimento de onda de 595 nm em espectrofotômetro.

Carboidratos solúveis totais (CST)

Foi pesado 0,2 g de material vegetal, macerado, filtrado e transferido para um erlenmeyer de 125 ml, em seguida adicionou-se 20 ml de etanol (80%). Foi pipetado para os tubos de ensaio, separadamente, 0,2 ml dos extratos da amostra e soluções padrão de glucose,

mantendo-se os tubos em banho de gelo. Adicionou-se a cada tubo de ensaio, 0,2 ml do reagente antrona, fechando-os hermeticamente e agitando-o suavemente até homogeneizar. Cautelosamente, os tubos de ensaio foram transferidos para um banho-maria regulado a 100°C por 10 minutos, a fim de desenvolver coloração azul-esverdeada. Após este tempo, levou-se os tubos novamente para o banho de gelo e aguardou-se por 5 minutos. Depois de resfriados, transferiu-se o conteúdo dos tubos para cubetas de 1,0 ml para assim iniciar a leitura no comprimento de onda de 620 nm, de acordo com o protocolo de Bezerra Neto e Barreto (2011).

Prolina livre (PRO)

Foi pesado e macerado 0,1 g de massa fresca em N₂ líquido até homogeneização, seguido da adição de 5 ml de ácido sulfossalicílico à 3%, depois filtrado em papel filtro N° 02. A partir da obtenção do extrato após a filtração, foram retirados 1 ml da amostra e transferidos para tubo de ensaio, contendo 1,0 ml de ácido ninidrina, 1,0 ml de ácido acético glacial. Posteriormente, os tubos foram tampados e colocados em banho-maria por 1 hora a 100°C e transferidos, imediatamente, para banho de gelo durante 10 minutos. Após esse procedimento, foram acrescentados 2,0 ml de tolueno e os tubos foram agitados vigorosamente, por 20 segundos, para a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado da fase aquosa, do qual procederam as leituras em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 520 nm. A concentração da prolina foi determinada usando-se a curva padrão: 0, 5, 10, 20, 25 e 30 mg L⁻¹. Foi quantificado com base na metodologia descrita por Bates *et al.* (1973), modificada por Bezerra Neto e Barreto (2011).

Pigmentos Fotossintéticos

Macerou-se 0,1 g de folhas frescas em 12,5 ml de acetona a 80% (v/v) e o extrato obtido foi filtrado em tela de nylon de malha fina. As leituras para a determinação do teor de clorofila *a*, *b* e carotenoides foram realizadas em 645, 663 e 470 nm, respectivamente (LICHTENTHALER, 1987), essas foram realizadas com o auxílio do espectrofotômetro UV-VIS (220-2000UV, Biospectro, Curitiba, PR, Brasil). Foram determinados conforme adaptações feitas por Bezerra Neto e Barreto (2011).

Atividades das enzimas do sistema antioxidativo

Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

Utilizando o mesmo extrato feito para quantificação de PST e a reação foi composta por uma solução contendo 1390 µl do tampão fosfato de potássio monobásico 100 mM (pH 7,0), 50 µl do extrato enzimático e 60 µl de peróxido de hidrogênio (0,5 M). As leituras foram feitas a uma temperatura de 25°C em espectrofotômetro a 240 nm (no tempo zero e aos 60 segundos). A atividade enzimática foi determinada e calculada usando um coeficiente de absorvância do H₂O₂ durante 1 minuto e expressa em mmol H₂O₂ mg⁻¹ proteína min⁻¹. Esta análise seguiu a metodologia descrita por Berris e Sizer (1952).

Ascorbato Peroxidase (APX, EC 1.11.1.1)

A atividade da APX foi determinada conforme descrito por Nakano e Asada (1981). O meio de reação composto por 650 µl de tampão fosfato de potássio 80 mM, pH 7,5, 100 µl de ascorbato 5 mM, 100 µl de EDTA 1 M, 100 µL de H₂O₂ 1 mM e 50 µl do extrato protéico. A atividade da APX foi determinada pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a 30 °C, durante 60 segundos, em espectrofotômetro.

Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A reação foi composta pela adição de 50 µl de amostra bruta, a uma solução contendo 13mM de metionina, 75µM de NBT (tetrazólio nitroazul), 100mM de EDTA e 2µM de riboflavina em 3,0 ml de tampão fosfato de potássio 5mM, pH7,8. Em câmara fechada a reação iniciou-se por meio da iluminação dos tubos, composta por lâmpadas fluorescentes, a 25°C. Após 5 minutos de incubação, a catálise foi determinada pela interrupção da luz. O composto azul formado (formazan) pela fotorredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560nm. Os tubos considerados brancos receberam os mesmos reagentes, mas foram mantidos cobertos com papel alumínio, evitando exposição à luz. Para cálculo, adotou-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra (µg/µl). Foi determinada seguindo a metodologia de Giannopolitis e Ries (1977).

Malondialdeído (MDA)

Foram macerados 200 mg do material vegetal em 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) à 1% adicionando 20% de PVPP para preparação do extrato. Após a completa homogeneização o material foi centrifugado por 5 minutos a 10.000 rpm. A partir desse material foi coletado

250 µl de sobrenadante, sendo adicionado um 1 ml de solução composta por TCA (ácido tricloroacético à 20%) e TBA (ácido tiobarbitúrico à 0,5 %). A solução foi mantida em banho-maria a 95°C por 30 minutos, passando por um resfriamento rápido por 10 minutos, em seguida as amostras foram centrifugadas por mais 10 minutos a 10.000 rpm, a leitura deu-se em espectrofotômetro a 535 nm e o resíduo a 600nm, conforme metodologia descrita por Heath e Packer (1968).

Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Foi determinado a partir do extrato preparado para o MDA. 0,2 g de folhas frescas foi macerado e homogeneizado em 2 ml de tricloroacético ácido (TCA-1%) com PVPP. Em seguida o extrato foi transferido para microcubos e centrifugado a 10.000 rpm a 4°C por 5 minutos. Depois, transferiu-se o sobrenadante para outro microtubo (no gelo), sendo adicionado 800 µl de Iodeto de Potássio e 200 µl de tampão fosfato; passado este tempo, a solução permaneceu durante uma hora no gelo e no escuro. Posteriormente, e em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. (ALEXIEVA *et al.*, 2001).

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando o software SISVAR, as médias foram comparadas pelo Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade e as interações confirmadas através da Análise de Componentes Principais (PCA), utilizando o Software R.

RESULTADOS

Análises biométricas

Ao final do experimento, aos 60 dias, observou-se que o genótipo Orelha de Vó apresentou maior altura no tratamento controle na ausência de AS e no déficit moderado, o maior crescimento em altura foi observado tanto na presença, como na ausência do ácido salicílico (AS) e o genótipo Cearense também apresentou maiores alturas no tratamento de déficit moderado na presença do AS, quando comparados aos demais tratamentos (Figura 2). Enquanto que nos tratamentos de déficit severo, nas concentrações de 0 e 1,0mM, não houve diferenças estatísticas entre os genótipos, apresentando menores valores (Figura 2A).

Quanto a produção da massa seca, tanto da parte aérea (MSPA), quanto radicular (MSPR), foram observadas reduções significativas à medida que foi diminuída a disponibilidade hídrica (DS) demonstrando a sensibilidade nesse parâmetro em todos os genótipos, independente da presença ou não do AS (Figuras 2B e 2C). Com relação a parte aérea, o genótipo Orelha de Vó, quando submetido ao DM, apresentou valores semelhantes ao encontrados nas plantas do controle (Figura 2B). Em contrapartida, a massa seca radicular do genótipo Cara Larga apresentou maiores valores, quando submetidas a DM sem adição do AS, comparado aos demais tratamentos, exceto aos tratamentos controle (Figura 2C). Já a relação raiz/parte aérea (R/PA) não foram constatadas diferenças significativas (Figura 2D).

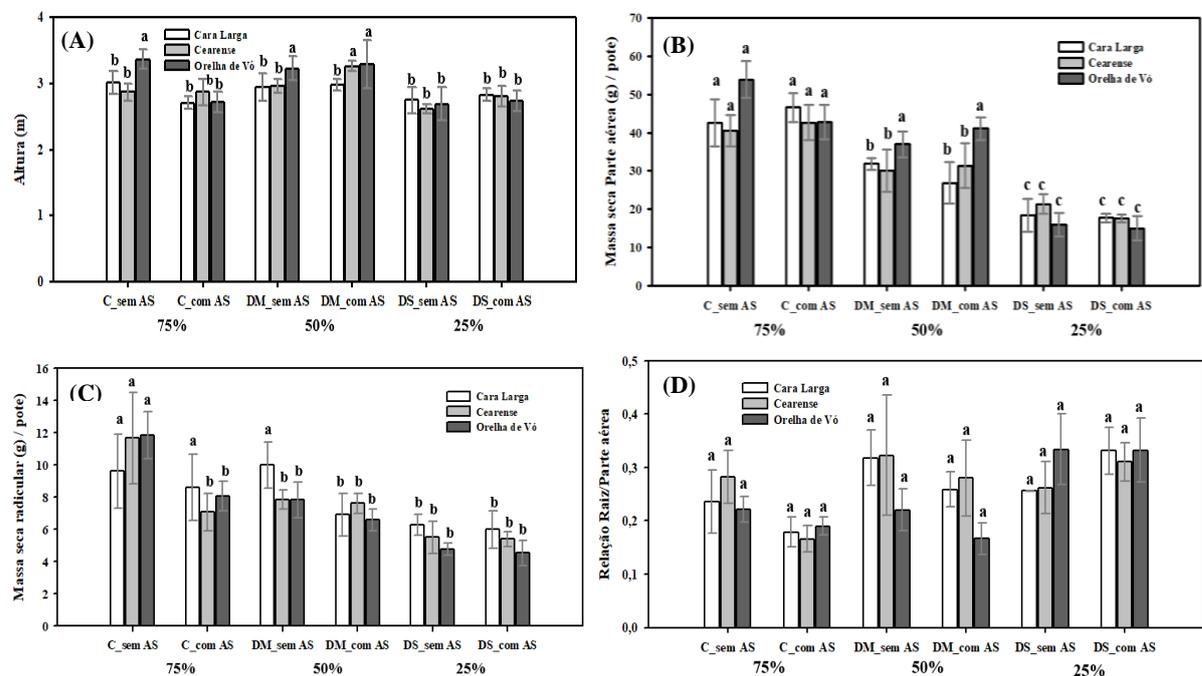


Figura 2. Dados biométricos dos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de Vó de *Phaseolus lunatus* submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0 mM): (A) Altura; (B) Massa seca da parte aérea (MSPA); (C) Massa seca radicular e (D) Relação raiz parte aérea (R/PA). Médias com letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo teste Scott-Knott.

Análises de trocas gasosas

Com relação as leituras e mensurações dos parâmetros fisiológicos, foram observados diferenças no comportamento dos genótipos ao final do experimento (Figura 3). Para a fotossíntese líquida (A), uso eficiente da água (A/E) e teor relativo de água (TRA), não foram constatadas diferenças estatísticas dos genótipos perante os tratamentos impostos (Figura 3A; 3D e 3F). Quanto a condutância estomática (g_s) e a transpiração (E), no tratamento controle, os genótipos Cara Larga e Cearense apresentaram maiores valores na ausência e presença do AS. Já nos tratamentos de DM, os genótipos Cara Larga e Orelha de Vó apresentaram um aumento

significativo, quando submetidas ao AS, comparando com a mesma disponibilidade hídrica na ausência do elicitor. No DM, o genótipo Orelha de Vó apresentou menor temperatura foliar na presença do AS, em comparação com os demais tratamentos (Figura 3E).

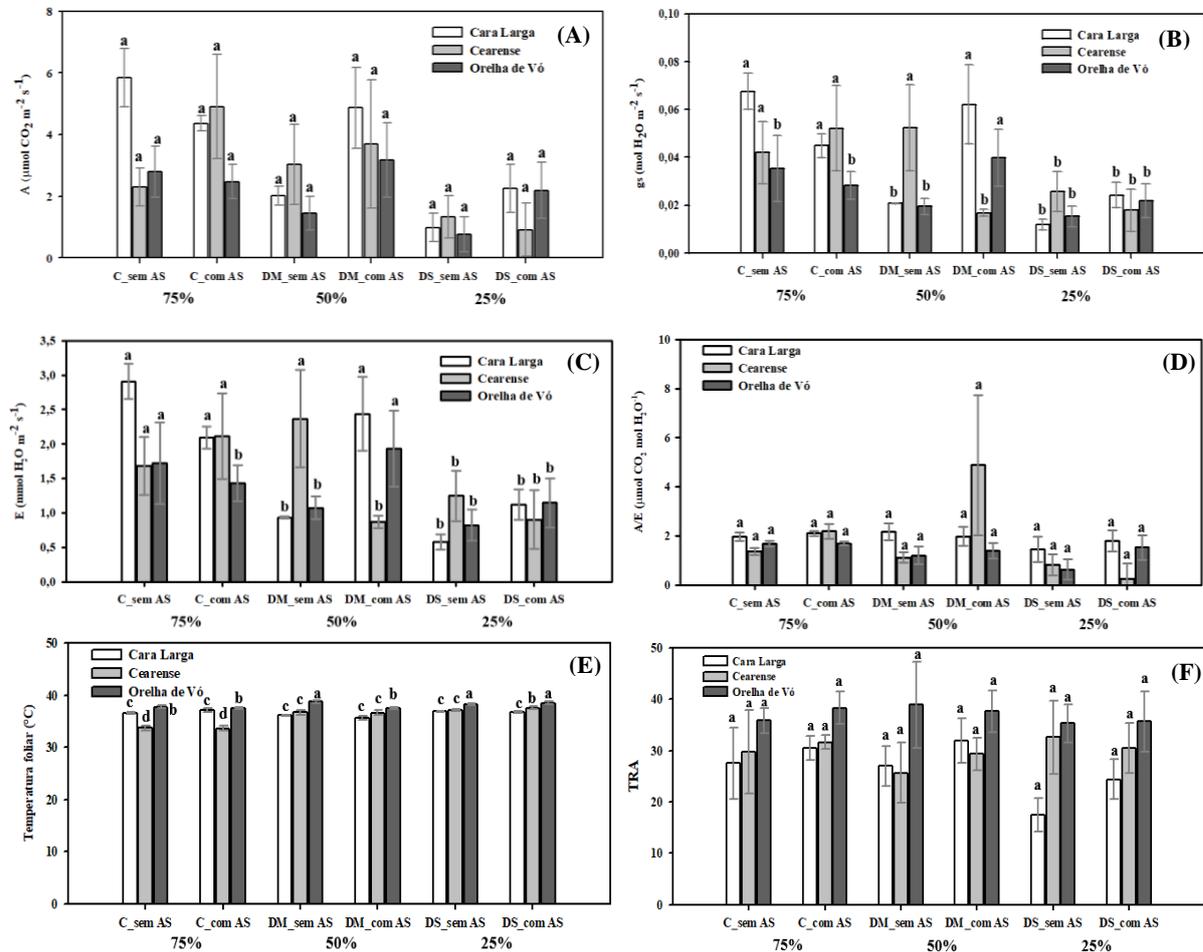


Figura 3. Avaliações fisiológicas dos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de Vó de *Phaseolus lunatus* submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0mM): (A) fotossíntese líquida (A); (B) Condutância estomática (gs); (C) Transpiração (E) e (D) Eficiência do uso da água (A/E); (E) Temperatura foliar e (F) Teor relativo de água (TRA). Médias com letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo teste Scott-Knott.

Teores de H_2O_2 , MDA e atividade das enzimas antioxidativas

A concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi significativamente menor no tratamento controle com e sem AS em todos os genótipos (Figura 4A). O DM, na presença do AS, apresentou um aumento significativo no genótipo Cara Larga com relação aos demais tratamentos. Ainda nesse tratamento, vale frisar que o genótipo Cearense, teve diminuição significativa da concentração de H_2O_2 em relação ao tratamento sem o AS. Esse mesmo perfil

do genótipo Cearense também foi observado nos tratamentos de DS, o qual a presença do elicitor apresentou influência significativa, diminuindo o H_2O_2 , em comparação com as plantas não pulverizadas com o AS (Figura 4A). Já no genótipo Orelha de Vó, foi possível observar que quando tratadas com o AS e submetidas a 25% de disponibilidade hídrica, a concentração de H_2O_2 aumentou quando comparadas às plantas deste genótipo e no mesmo tratamento, na ausência do elicitor.

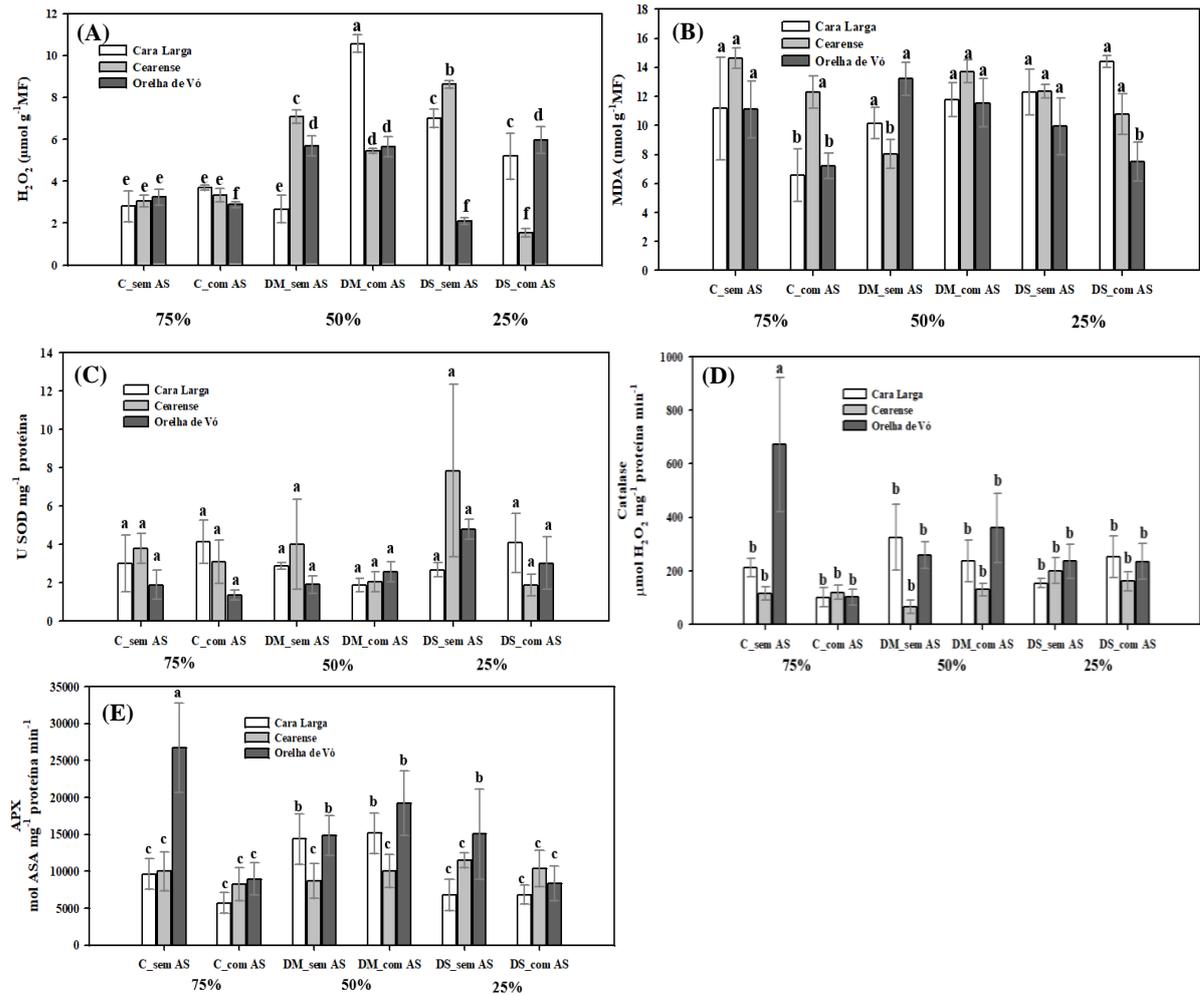


Figura 4. Avaliação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), Malondialdeído (MDA) e enzimas do estresse oxidativo: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX) nos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de Vó de *Phaseolus lunatus*, submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitor (ácido salicílico – 0 e 1,0mM): (A) Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2); (B) Malondialdeído (MDA); (C) Superóxido Dismutase (SOD) e (D) Catalase (CAT) e (E) Ascorbato Peroxidase (APX). Médias com letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo teste Scott-Knott.

No que diz respeito a concentração de malondialdeído (MDA), houve redução significativa nas plantas controle tratadas com 1,0mM de AS nos genótipos Cara Larga e Orelha de Vó. Sob déficit moderado sem o AS, o genótipo Cearense apresentou menor concentração deste composto em comparação com os demais genótipos. Por outro lado, a presença do AS

elevou a produção de MDA nesse genótipo, não diferindo dos demais, no tratamento DM. As plantas do Genótipo Orelha de Vó, submetidas a DS, tratadas com AS, apresentou diminuição do MDA quando comparadas com as plantas desse tratamento sem elicitor (Figura 4B).

Em relação as enzimas antioxidativas, a Superóxido Dismutase (SOD) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 4C). Quanto à Catalase (CAT), no genótipo Orelha de Vó, foi constatado maior atividade dessa enzima no tratamento controle sem o AS, em relação aos demais tratamentos. Além disso, não houve diferenças estatísticas nos tratamentos de DM e DS (Figura 4D). Com relação a Ascorbato Peroxidase (APX), o genótipo Orelha de Vó destacou-se significativamente dos demais, com elevados valores no tratamento controle sem o AS. Enquanto o genótipo Cearense, o DM apresentou diminuição significativa perante os demais tratamentos, independente da ausência ou presença do AS (Figura 4E). Já no DS o genótipo Orelha de Vó, apresentou diminuição da atividade de APX nas plantas tratadas com o AS, quando comparadas com as plantas submetidas a 25% de água sem elicitor (Figura 4E).

Prolina, carboidratos solúveis totais, proteínas solúveis totais e clorofila total

A produção de prolina nas plantas tratadas sem AS no tratamento controle, foi menor no genótipo Orelha de Vó, quando comparada com os outros genótipos no mesmo tratamento (Figura 5A). Quando submetidas ao AS, a concentração de prolina da Orelha de Vó apresentou um aumento, semelhantes ao genótipo Cearense. Em contrapartida, o genótipo Cara Larga apresentou diminuição no controle com AS, quando comparada as plantas controle sem elicitor. No DM sem o AS, maiores valores desta variável foram observados no genótipo Cara Larga, quando comparados aos demais genótipos. Já no que diz respeito aos tratamentos de DS, foi possível observar uma menor concentração do teor de prolina no genótipo Cearense (Figura 5A), quando não submetidas a AS. Quanto aos teores de carboidratos (CST), no tratamento controle sem o AS, o genótipo Cara Larga apresentou maiores concentrações nesta variável em comparação com os demais genótipos, igualando seus valores no tratamento controle com a presença do elicitor (Figura 5B). O genótipo Cara Larga ainda apresentou valores de carboidratos superiores quando submetidas a DM, na ausência e presença do AS, quando comparada aos demais genótipos. Já no DS, o genótipo Orelha de Vó, apresentou menores concentrações de CST, independente da aplicação ou não do AS (Figura 5B). Se tratando das proteínas solúveis totais (PST), no controle sem o AS, o genótipo Orelha de Vó se destacou dos demais tratamentos, apresentando maior teor de PST. No DM, as plantas

do genótipo Cara Larga apresentaram aumento, quando tratadas com o AS. Quanto aos tratamentos do DS, todos os genótipos demonstraram valores semelhantes, independente da ausência ou presença do AS (Figura 5C). No que diz respeito aos teores de clorofila total e carotenoides, não foi verificada diferenças estatísticas entre os genótipos e tratamentos (Figura 5D e E).

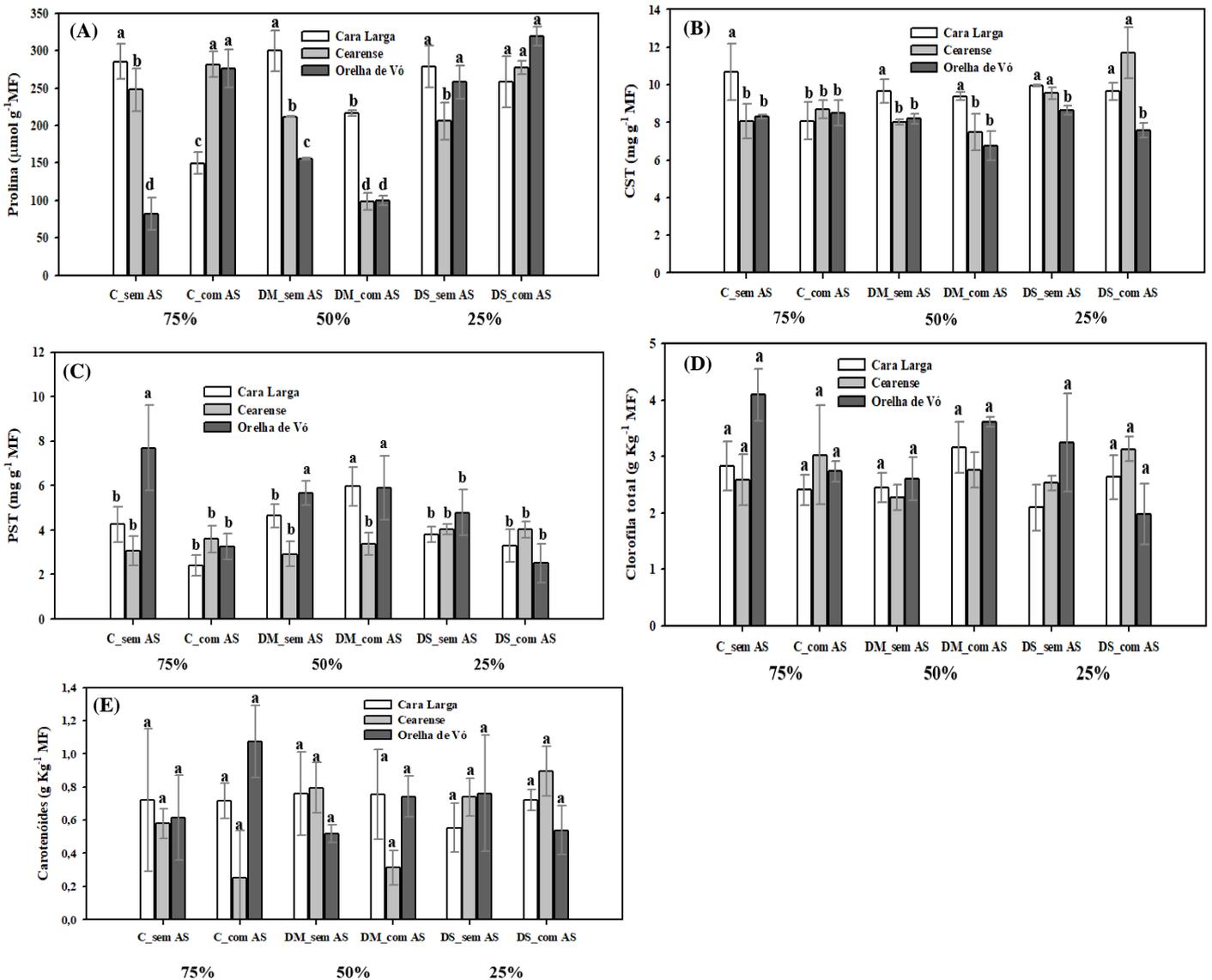


Figura 5. Avaliação de parâmetros bioquímicos: Prolina (PRO); Carboidratos solúveis totais (CST); Proteínas solúveis totais (PST); Clorofila total (Chl total) e Carotenoides (Car) nos genótipos Cara Larga, Cearense e Orelha de vó de *Phaseolus lunatus*, submetidos a diferentes condições hídricas durante 60 dias, após receber aplicação do elicitador (ácido salicílico – 0 e 1,0mM): **(A)** Prolina (PRO); **(B)** Carboidratos solúveis totais (CST); **(C)** Proteínas solúveis totais (PST); **(D)** Clorofila total (Chl total); **(E)** e Carotenoides (CAR). Os valores representam a média de 3 repetições. Médias com letras diferentes a indicam diferenças entre os tratamentos no nível de 0,05 pelo Scott-Knott.

Análise de Componentes Principais (PCA)

Mediante os resultados dos tratamentos hídricos impostos, no genótipo Cara Larga a ordenação envolvendo todas as variáveis representou 54,36% da variação total dos dados. Para a PC1 (Dim 1), as variáveis mais representativas foram PST, Prolina, Chl *a*, Chl *b*, APX, Altura, sendo correlacionados positivamente entre si no tratamento com AS e déficit moderado (DM), porém tais variáveis demonstraram correlação negativa com a MSR, TRA, *gs*, *E* e *A*, agrupadas no tratamento controle e sem o elicitor (Figura 6A e 6B). Os tratamentos do déficit severo apresentaram o mesmo agrupamento, contudo não apresentaram diferenças entre a adição ou não do ácido salicílico, não apresentando dessa forma, correlação com as variáveis de maior significância destacados na PCA (Figura 6A e 6B), tais resultados corroboram com o gráfico da Figura 6C, que mostra os respectivos agrupamentos, onde o grupo controle com AS, destaca-se dos demais tratamentos.

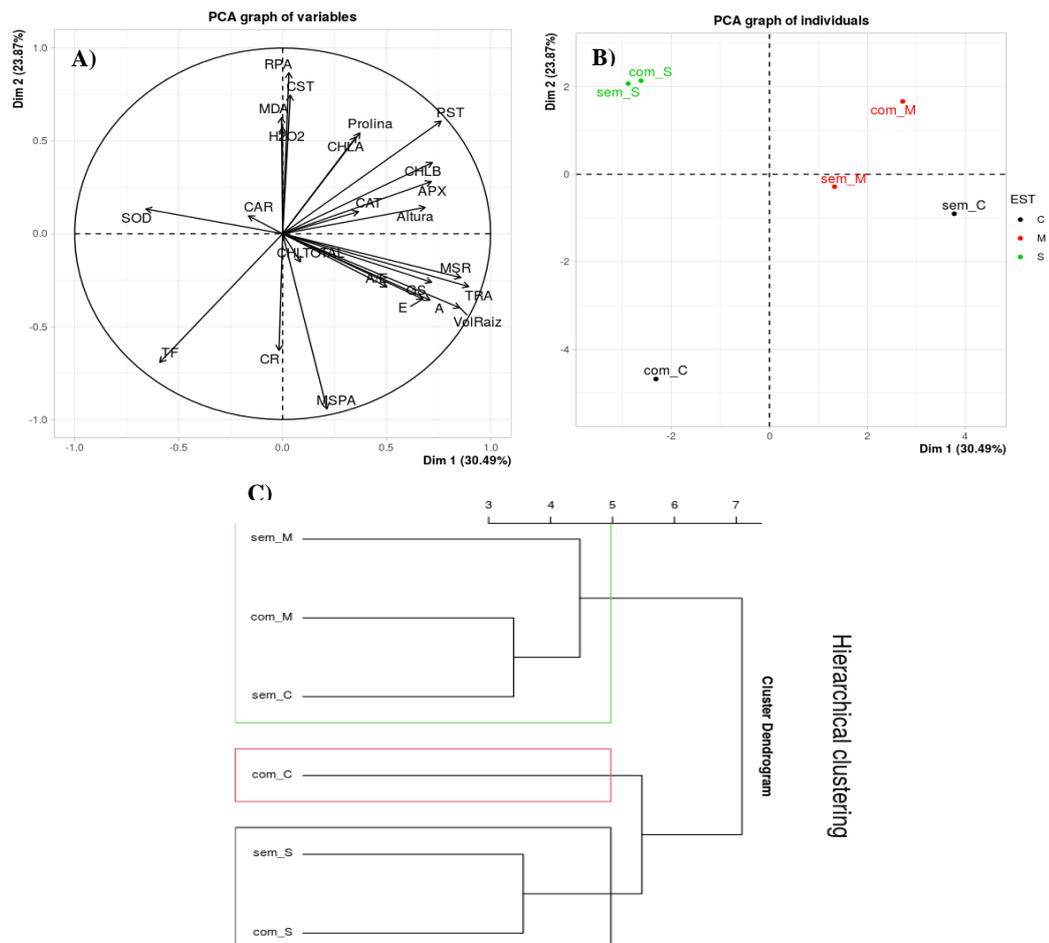


Figura 6. Análise dos componentes principais (PCA) do genótipo Cara Larga: A) e B) Correlação das variáveis relacionadas aos tratamentos hídricos (Com AS e Sem AS; C: Controle; M: déficit moderado e S: déficit severo); C) Dendrograma: Análise de Clusters do agrupamento de todos os tratamentos.

O genótipo Cearense com os principais componentes expressos nos tratamentos hídricos, com mais de 50% da variabilidade, demonstrando que as variáveis Chl *b*, CR, *A/E*, MDA e altura, possuem correlação positiva agrupando-se no tratamento moderado com o AS (Figura 7A e 7B), porém relacionaram-se negativamente com as variáveis MSRA, *A*, *gs* e *E*, agrupados nos tratamentos de déficit moderado sem o AS e controle com o AS (Figura 7A e 7B). Enquanto no Cluster, verifica-se que os tratamentos com déficit severo (DS) com e sem AS se agrupam entre si, enquanto que o tratamento moderado com AS, se destaca de forma isolada, quando comparado aos demais (Figura 7C).

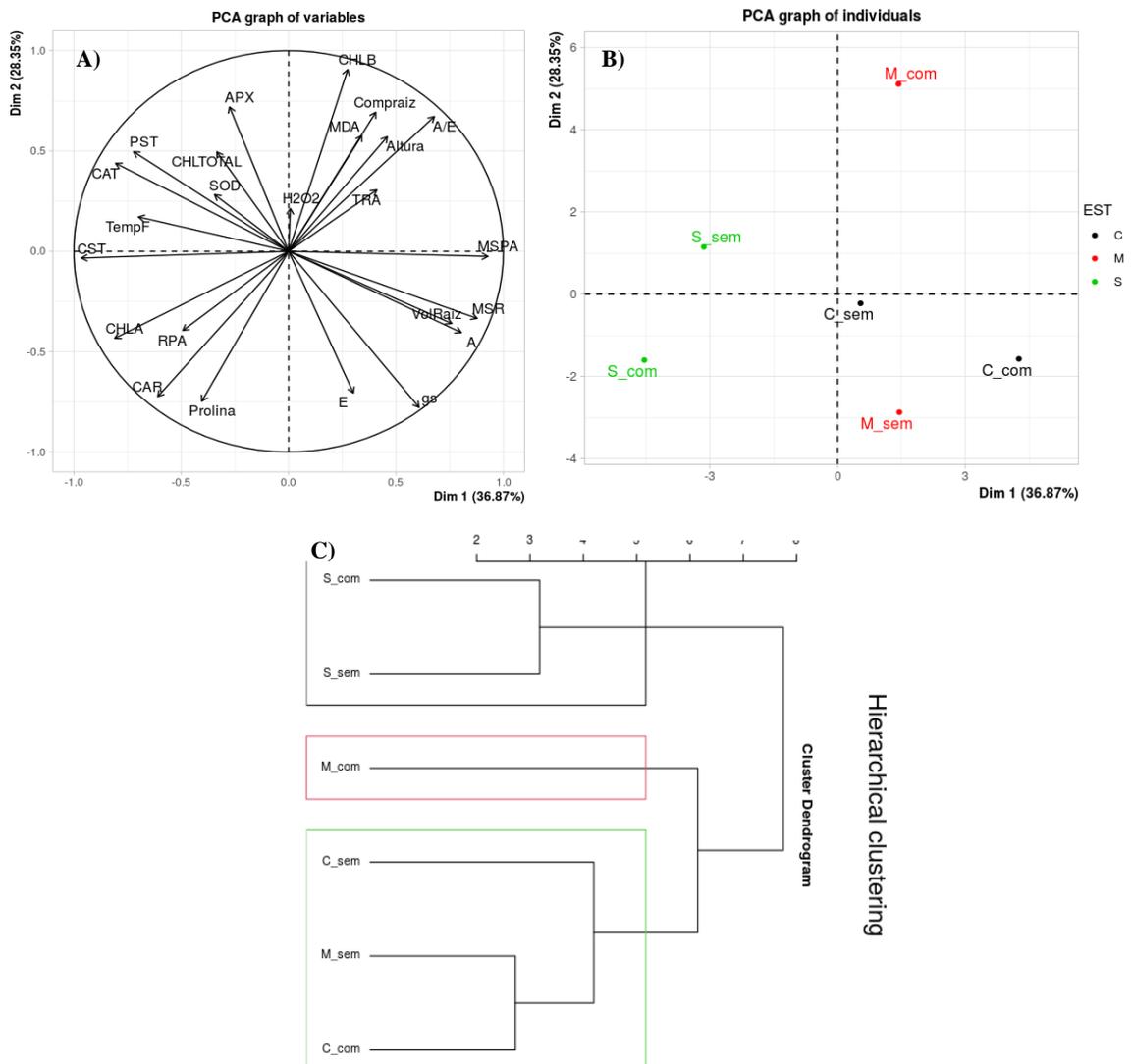


Figura 7. Análise dos componentes principais (PCA) do genótipo Cearense: **A)** e **B)** Correlação das variáveis relacionadas aos tratamentos hídricos (Com AS e Sem AS; C: Controle; M: déficit moderado e S: déficit severo); **C)** Dendrograma: Análise de Cluster - agrupamento de todos os tratamentos.

No genótipo Orelha de Vó, a porcentagem da variabilidade dos dados foi maior que 50%. Dessa forma, os resultados perante os tratamentos hídricos mostram que os componentes mais importantes na PC1 (Dim 1) foram MDA, *A*, *gs*, *E*, Altura, Chl *b*, APX e PST, demonstrando correlações positivas entre si, agrupando-se no tratamento com AS e déficit moderado, porém, tiveram correlações negativas com as variáveis MSPA, MSRA, Comprimento da raiz, Chl *a* e Carotenoides, agrupados no tratamento controle sem o AS (Figura 8A e 8B). No cluster o tratamento controle com AS, apresentou comportamento isolado perante os demais. Os tratamentos do déficit severo com AS e sem AS apresentaram proximidade quanto ao agrupamento.

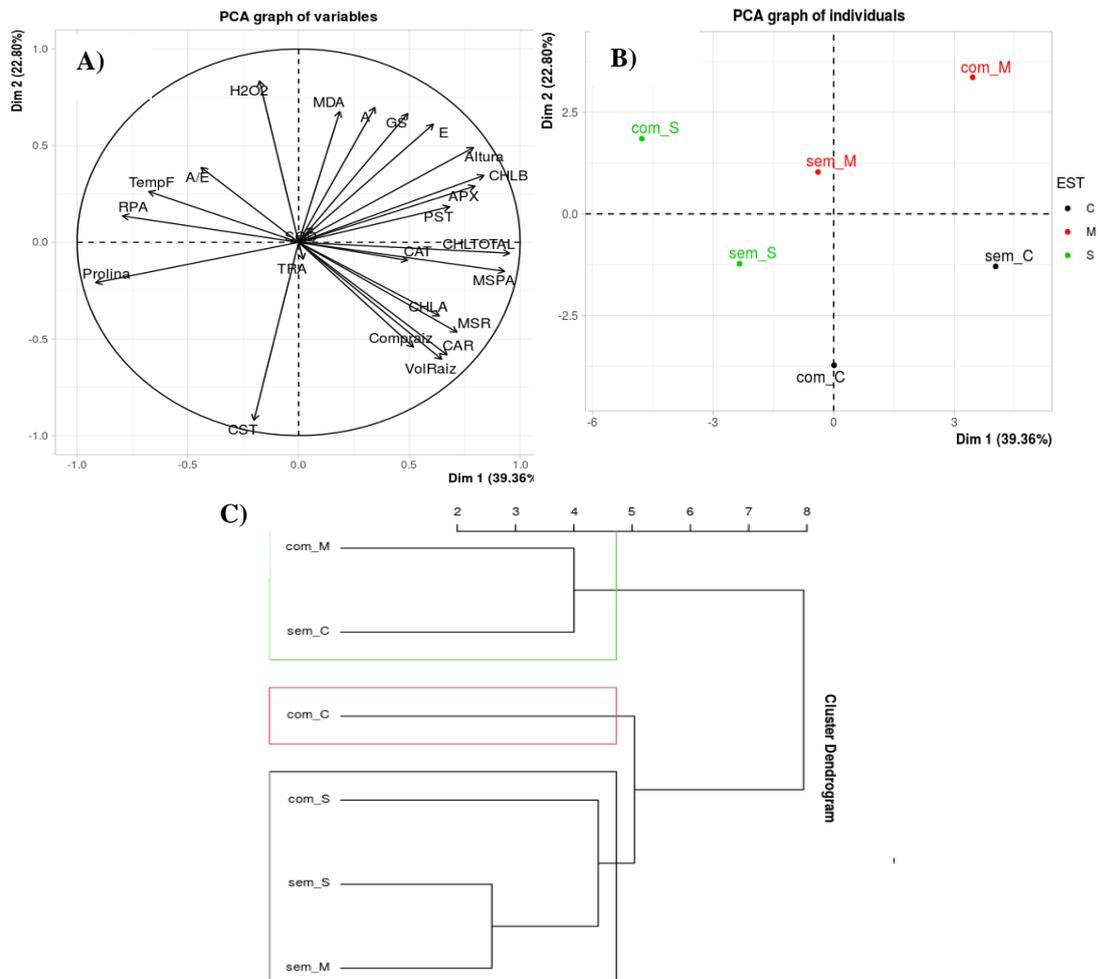


Figura 8. Análise dos componentes principais (PCA) do genótipo Orelha de Vó: **A)** e **B)** Correlação das variáveis relacionadas aos tratamentos hídricos (Com AS e Sem AS; C: Controle; M: déficit moderado e S: déficit severo); **C)** Dendrograma: Análise de Cluster - agrupamento de todos os tratamentos.

DISCUSSÃO

O cultivo do feijão-fava é realizado tradicionalmente por pequenos agricultores, no qual utilizam predominantemente variedades crioulas de crescimento indeterminado (CARMO et al., 2015), características estas intrínsecas aos três genótipos utilizados neste estudo. Vale frisar ainda, que o manejo de sementes crioulas retrata uma importante estratégia para os agricultores, especialmente para aqueles que suas áreas estão localizadas em região de clima instável, a exemplo da região semiárida do Nordeste (LONDRES, 2014).

Dessa forma geral, sabe-se da grande importância da água para a produção vegetal em nível mundial. Sendo assim, o déficit hídrico é um fator que limita o estabelecimento e o crescimento das plantas, causando danos bioquímicos, fisiológicos, anatômicos e morfológicos (LANG *et al.*, 2018). Mediante a isto, com base nos resultados, todos os genótipos sofreram influência à medida que a restrição hídrica foi intensificada, tendo o crescimento afetado, mais precisamente no déficit severo, demonstrando sensibilidade nestas condições. Contudo, nas plantas do genótipo Cearense a presença do ácido salicílico (1,0mM) teve atuação positiva no déficit moderado, apresentando incrementos significativos.

De posse de tais resultados, destaca-se que o ácido salicílico participa de inúmeras funções reguladoras no metabolismo das plantas, sendo capaz de ativar mecanismos de resposta e defesa a estresses ambientais, e de forma mais ampla, melhorias no crescimento e acúmulo de fitomassa seca na presença do AS, pode ser explicado pela ação conjunta do referido elicitor com demais reguladores de crescimento, como auxinas, ácido giberélico, citocininas, ácido jasmônico, dentre outros, o que induz uma maior tolerância ao estresse hídrico (KANG *et al.*, 2014). Diante do exposto, cabe ressaltar que a eficácia do AS no crescimento vegetal depende de alguns aspectos que devem ser levados em consideração, tais como a concentração adequada, a forma de aplicação e a espécie vegetal, além do tempo de exposição ao estresse (EL-ESAWI *et al.*, 2017).

Em complemento, Carvalho *et al.* (2016), reiteram que a disponibilidade hídrica é um fator determinante no crescimento e no acúmulo de fitomassa, como foi cientificado no presente estudo, em que todos os genótipos foram sensíveis ao déficit severo, sem qualquer interferência do AS. Não obstante, alguns trabalhos mostram a eficácia do AS (Lima *et al.* 2019), onde a aplicação do AS em feijoeiro (*P. vulgaris*), incrementou a massa seca, como também o comprimento de raiz e a germinação. O estudo de Agostini *et al.*, (2013), trabalhando com feijão, também retratam incremento na massa seca com a aplicação de AS. Estes resultados

puderam ser constatados nas plantas do genótipo Orelha de Vó, que quando tratadas com 1,0mM de AS no déficit moderado, apresentaram incrementos significantes na MSPA.

Frente a isso, Marcos *et al.* (2018), salientam que em condição de baixa disponibilidade hídrica, a redução de crescimento da parte aérea está associada ao aumento do sistema radicular como estratégia para melhorar a absorção de água, pois as plantas investem nesse processo alterando o padrão de alocação de carbono para permitir a formação de um sistema radicular mais profundo. O mais comum dentre as modificações frente a escassez hídrica, é o alongamento radicular em busca de obter mais água, visto que a taxa de secagem é maior na superfície do solo, além das inúmeras alterações que a planta sofre, principalmente no crescimento, que dependerá da divisão e expansão celular, condicionada pela pressão de turgescência, processo pelo qual é afetado pelo déficit hídrico no solo ou até mesmo pelo excesso de transpiração (ALSINA *et al.*, 2010).

À vista disso, cabe evidenciar que em condições de limitação hídrica, as plantas poderão reduzir a condutância estomática (g_s), que por consequência irá dificultar a fixação de carbono essencial para o metabolismo fotossintético, prejudicando dessa forma o crescimento e produção de massa seca, o que comprova uma relação direta entre tais variáveis. Diversos trabalhos comprovam reduções nas medidas de trocas gasosas relacionados ao déficit hídrico em várias culturas (PEREIRA FILHO *et al.*, 2019; YI *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2015; FERNANDES *et al.*, 2015; ROSALES *et al.*, 2012). Sendo assim, a redução da disponibilidade hídrica no solo, causa reduções na condutância estomática com implicações diretas na transpiração, fotossíntese e temperatura foliar, como observado em todos os genótipos desse estudo, podendo causar prejuízos e, na maioria das vezes, o colapso na produção agrícola em caso de secas severas (TATAGIBA *et al.*, 2015).

No estudo de Batista *et al.* (2019), utilizando AS, reiteram o fato de que em condições normais a A não possui dependência exclusiva da clorofila, mas depende também de outros fatores como a atividade da Rubisco e atividades PEP, g_s e absorção de carbono, no qual o AS contribuiu no aumento dessas variáveis. Apesar de que neste trabalho não foi cientificado essa constatação, a fotossíntese líquida não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. E segundo Tan *et al.* (2017), a fotossíntese líquida é altamente influenciada pelos efeitos indiretos da alta temperatura, bem como pelo elevado déficit de pressão de vapor e consequentes decréscimos na condutância estomática.

Vários estudos relacionam a diminuição da fotossíntese ao fechamento estomático e aumento da resistência à difusão de CO_2 (FLEXAS *et al.*, 2012; PEREZ-MARTIN *et al.*, 2014). Acerca disso, sobre os pigmentos fotossintéticos Ashraf e Harris (2013), afirmam que a

habilidade de manter níveis apropriados de clorofila sob condições desfavoráveis, possivelmente esteja correlacionada à tolerância e eficiência fotossintética, e tais *feedbacks* podem ter ligação com a atividade de enzimas que participam da biossíntese de clorofila, ou ainda, mecanismos que reduzem a degradação desses pigmentos, dificultando dessa forma, a redução dos níveis de clorofila em condições de estresse. Quanto aos carotenoides, que são caracterizados como pigmentos acessórios, atuam essencialmente na proteção do mecanismo fotossintético, no qual em maiores concentrações, indicam genótipos aclimatados em condições de déficit hídrico (SILVA *et al.*, 2014). Em complemento, nessas condições, em que o estresse oxidativo pode ocorrer, carotenoides também cooperam no sistema de defesa antioxidante não enzimático diminuindo a formação das EROs (LIU *et al.*, 2015).

E quanto a transpiração (E) e a condutância estomática (g_s), conforme foi observado, os genótipos Cara Larga e Orelha de Vó apresentaram um aumento significativo, quando tratadas no DM, com direta influência do AS. Diante disso, a compreensão sobre como plantas em diferentes ambientes regulam a transpiração, pode auxiliar em informações sobre a tolerância dessas espécies no que diz respeito a instabilidade climática (BOURNE; HAIGH; ELLSWORTH, 2015). Além disso, a fim de garantir o fornecimento de água por mais tempo aos seus tecidos, as plantas reduzem a sua área de transpiração, diminuindo a sua expansão celular e conseqüentemente sua área foliar, perdendo biomassa e reduzindo o crescimento da parte aérea (ANJUM *et al.*, 2011).

É cabível enfatizar ainda, que o fechamento estomático reduz as taxas transpiratórias, causando aumento da temperatura foliar, se a temperatura estiver acima do ideal para a planta, afetará diretamente os fotossistemas, bem como a assimilação de carbono (SHUKLA *et al.*, 2018), conforme observado no genótipo Orelha de Vó, que apresentou aumento significativo da TF no DS, independentemente da ausência ou presença do AS.

Posto isto, vale destacar que o uso de AS em concentrações apropriadas pode elevar a capacidade fotossintética e, todavia, a resposta da planta a este hormônio depende das condições ambientais, da espécie, variedade, época de aplicação, concentração e forma de uso (NIVEDITHADEVI *et al.*, 2012).

Uma das conseqüências do déficit hídrico é o desequilíbrio do estado redox intracelular, que ocasiona a produção em excesso de EROs, dentre as quais destaca-se o H_2O_2 (MONTEIRO *et al.* 2011). Vale enfatizar, que as EROs são capazes de atravessar membranas e se difundirem entre os compartimentos, e quando em excesso, provocam danos às membranas através da peroxidação lipídica (TIAN *et al.*, 2016). Estudos como o de Silva *et al.* (2017), têm atribuído

o uso do AS como mitigador do estresse hídrico, por ser capaz de minimizar os efeitos deletérios nas plantas em condições estressantes.

Neste enfoque, Batista *et al.* (2019), constatou que o AS foi responsável por diminuir a superprodução de H_2O_2 em plantas com estresse, no presente trabalho este resultado foi observado no genótipo Cearense tratadas com AS no DM. Por outro lado, sabendo que o H_2O_2 atua na sinalização do estresse, a presença do AS auxiliou também nesta resposta, constatando-se aumento do H_2O_2 nos genótipos Cara Larga e Orelha de Vó, no DM e no DS, respectivamente. Sendo assim, apesar disso, o genótipo Orelha de Vó demonstrou maior aclimação no DS na presença do AS, diminuindo significativamente a produção do malondialdeído (MDA), impedindo danos às membranas celulares. E segundo Torun (2019), o AS aplicado de forma exógena é capaz de regular as enzimas de defesa antioxidantes para desintoxicar as espécies reativas de oxigênio. Nessa vertente, é importante frisar que os danos oxidativos aos lipídeos das membranas são caracterizados pela produção de MDA, um composto que é um produto da peroxidação lipídica, que atua como indicador de estresse (DONG *et al.*, 2019).

Nesta acepção, para enfrentar a superprodução das EROs, como meio de escape contra os danos oxidativos, as plantas possuem um sofisticado mecanismo enzimático e não enzimático de defesa antioxidante, e dentre os sistemas enzimáticos, destacam-se: a SOD, a CAT e APX (ACOSTA *et al.*, 2017). A SOD é classificada como sendo a primeira linha de defesa no combate às formas reativas de oxigênio (GILL *et al.*, 2015). Sendo assim, a SOD catalisa a dismutação de O_2^* para H_2O_2 e O_2 em todos os compartimentos subcelulares como cloroplastos, mitocôndrias, núcleos, peroxissomos, citoplasma e apoplastos (GILL; TUTEJA, 2010).

Ainda se tratando de enzimas antioxidantes, Pereira *et al.* (2012), reforçam que a partir do momento que o nível de H_2O_2 é elevado, inicia-se a ação de enzimas secundárias de detoxificação, tais como, CAT e APX. Nesse sentido, Carneiro *et al.* (2011), ressaltam que a maior atividade da CAT e APX em condições de estresse pode ser justificada pela necessidade de eliminação do H_2O_2 produzido pela atividade da SOD e também pela possível taxa de fotorrespiração. A alta atividade da CAT é atribuída às plantas que estão sob condições adversas de forma geral, uma vez que se caracteriza como meio alternativo para a conversão de EROs, como o H_2O_2 , em água e oxigênio molecular, evitando assim, danos às estruturas celulares que estão sob restrição hídrica (DUBEY, 2010).

Por conseguinte, os carboidratos são outro grupo importante de moléculas em resposta ao déficit hídrico, contribuindo para o ajuste osmótico e tolerância das plantas à dessecação

(VELÁZQUEZ-MÁRQUEZ *et al.*, 2015). Desse modo, os carboidratos quando acumulados, além de atuarem como osmorreguladores, participam da diminuição do potencial hídrico (Ψ_w), acarretando no aumento da capacidade de absorção de água das plantas, e como consequência, os efeitos deletérios do déficit hídrico no teor relativo de água do vegetal são atenuados, podendo atuar também na geração e eliminação de EROs (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013).

Outro osmorregulador de grande relevância é a prolina, que possui funções protetoras de caráter específicos na adaptação do vegetal perante o déficit hídrico (YANG *et al.*, 2015). Além do mais, possui influência direta no processo de ajuste osmótico, contribuindo também para a estabilização das EROs (BHASKARA *et al.*, 2015). Portanto, a prolina é um dos osmoprotetores mais relevantes, possuindo importância indispensável para o ajuste e tolerância de plantas a estresses abióticos (SHARMA *et al.*, 2011). Nesse contexto, Ullah *et al.* (2017), reiteram que o acréscimo no teor de prolina em condições de déficit hídrico, pode estar diretamente associada ao mecanismo de regulação osmótica, que irá atribuir à planta, a capacidade de retirar água do solo, afim de proteger principalmente a integridade celular.

Nesse caso, estudos apontam que o AS aumenta o teor de prolina, favorece o aumento do sistema de defesa antioxidante em algumas culturas, revelando o possível papel regulador deste elicitor em níveis transcricionais e/ou traducionais (GHASEMZADEH; JAAFAR, 2013). Foi cientificado na presente pesquisa, que o AS contribuiu para o aumento de prolina em todos os genótipos, essencialmente no DS na presença do AS. Os resultados indicam ainda, que a aplicação de AS pode atuar no acúmulo de carboidratos solúveis e prolina, o que pode indicar que o ajuste osmótico causado pelo AS pode atenuar/evitar o estresse oxidativo e melhorar os parâmetros fotossintéticos conforme foi observado.

CONCLUSÕES

Verificou-se que os genótipos responderam de formas distintas aos tratamentos de disponibilidade hídrica e ao tratamento de AS. Constatou-se a eficácia do AS no genótipo Orelha de Vó em parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos.

O ácido salicílico atuou como elicitador, minimizando os efeitos do estresse hídrico especialmente no genótipo Orelha de Vó, que sobressaiu na maioria das variáveis analisadas. E a análise de PCA mostrou que o AS teve maior influência no déficit moderado.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R. et al. Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. **Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 18, 2017.
- 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 Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 209–219, 2013.
- ALBUQUERQUE, M. P. F. DE et al. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. Brasília, v. 48, n. 1, p. 9–16, 2013.
- ANDRADE, WELLERSON Leite et al. Bradyrhizobium inoculation plus foliar application of salicylic acid mitigates water deficit effects on cowpea. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-12, 2020.
- BATISTA. et al. Salicylic acid modulates primary and volatile metabolites to alleviate salt stress-induced photosynthesis impairment on medicinal plant *Egletes viscosa*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 167, p. 103870, 2019.
- BHASKARA, G.B.; YANG, T.H.; VERSLUES, P.E. Dynamic proline metabolism: importance and regulation in water limited environments. **Frontiers in Plant Science**, vol. 6, pp. 484, 2015.
- BOURNE, A.E.; HAIGH, A.M.; ELLSWORTH, D.S. Stomatal sensitivity to vapour pressure deficit relates to climate of origin in Eucalyptus species. **Tree Physiology**. v.35, p. 266-278, 2015.
- BUCCI, S.J. et al. Functional relationships between hydraulic traits and the timing of diurnal depression of photosynthesis. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 5, 2019.
- CARMO, M. D. S.; CARVALHO, E. M. S.; GOMES, R. L. S.; LOPES, A. C. A.; CAVALCANTE, G. R. S. et al. Avaliação de acessos de feijão-fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. **Summa Phytopathol**, v. 41, n. 4, p. 292-297, 2015.
- CARNEIRO, M. M. L. C. et al. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 755-764, 2011.
- CARVALHO, J. J et al. Grow thand production of common bean in direct seeding under irrigated deficit condition. **African Journal of Agricultural Research**. Lagos, v. 11, n. 31, p. 2841-2848, 2016.
- CARVALHO, J. J. et al. Grow thand production of common bean in direct seeding under irrigated deficit condition. **African Journal of Agricultural Research**. Lagos, v. 11, n. 31, p. 2841-2848, 2016.
- CONCEIÇÃO, C. G. et al. Desenvolvimento vegetativo do feijoeiro irrigado com diferentes lâminas. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**. Fortaleza, v. 12, n. 2, p. 2406 - 2417, 2018.

COSTA, A. S. et al. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga**, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.

DONG, S. et al. Antioxidant and proteomic analysis of soybean response to drought during soybean flowering. **Ekoloji**, v.28, p.2041-2052, 2019.

DUBEY, R. S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**, v. 15, p. 177-203, 2010.

EISENHUT, Marion et al. Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO₂ availability. **Molecular plant**, v. 10, n. 1, p. 47-61, 2017.

EL-ESAWI, M. A. et al. Salicylic acid-regulated antioxidante mechanisms and gene expression enhance rosemary performance under saline conditions. **Frontiers in Physiology**, v. 8 n.716, p.1-14, 2017.

FERNANDES, F. B. P. et al. Efeito de manejos do solo no déficit hídrico, trocas gasosas e rendimento do feijão-de-corda no semiárido. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 506-515, 2015.

LEXAS, J et al. The response of photosynthesis to soil water stress. In: **Plant Responses to Drought Stress**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 129-144, 2012.

GHASEMZADEH, Ali; JAAFAR, Hawa ZE. Interactive effect of salicylic acid on some physiological features and antioxidant enzymes activity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Molecules**, v. 18, n. 5, p. 5965-5979, 2013.

GILL, S. S. et al. Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 14, p. 10375–10394, 2015.

GOMES, Carolina Alves et al. Aplicação de ácido salicílico como atenuador dos efeitos de déficit hídrico no milho. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 3, p. 0359-0363, 2018.

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

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

LANG, Y.; WANG, M.; XIA, J.; ZHAO, Q. Effects of soil drought tress on photosynthetic gas exchange traits and chlorophyll fluorescence in Forsythia suspense. **Journal of Forestry Research**, vol. 29, p.45-53, 2018.

LIMA NETO, M. C. et al. Cyclic electron flow, NPQ and photorespiration are crucial for the establishment of young plants of *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* exposed to drought. **Plant Biology**, v. 19, n. 4, p. 650-659, 2017.

- LIMA, J.D. et al. Salicylic acid at beans germination against salt stress. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 18, n. 1, p. 88-92, 2019.
- LIU, K. et al. Effects of irradiance on the photosynthetic traits, antioxidative enzymes, and growth of *Cryptotaenia japonica*. **Biologia plantarum**, v. 59, n. 3, p. 521-528, 2015.
- LONDRES, F. As sementes da paixão e as políticas de distribuição de sementes na Paraíba. **AS-PTA**. 83 p. 2014.
- MARCOS, F.C.C. et al. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water deficit. **Journal Plant Physiology**, vol. 223, p. 9-18, 2018.
- MELO, Alberto Soares et al. Crescimento e pigmentos cloroplastídicos de genótipos de feijão vigna sob déficit hídrico. **Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2018.
- MONTEIRO, C. C. et al. Biochemical responses of ethyleneinsensitive Neve ripe tomato mutant subjected to cadmium and sodium stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 306-320, 2011.
- NETO, L. P. et al. Morphophysiological and biochemical responses of *Lippia grata* Schauer (Verbenaceae) to water deficit. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 1, p. 26-40, 2020.
- NIVEDITHADEVI, D.; SOMASUNDARAM, R.; PANNERSELVAM, R. Effect of abscisic acid, paclobutrazol and salicylic acid on the growth and pigment variation in *Solanum trilobatum*. **International Journal of Drug Development e Research**, v. 4, n. 3, p. 236- 246, 2012.
- PÁL, M. Et al. Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.200, n.1, p.1-11, 2014.
- PEKSEN, Erkut et al. Leaf and stomata characteristics and tolerance of cowpea cultivars to drought stress based on drought tolerance indices under rainfed and irrigated conditions. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 2, p. 626-34, 2014.
- PEREIRA FILHO, J. V. et al. Physiological responses of lima bean subjected to salt and water stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 12, p. 959-965, 2019.
- PEREIRA, J. W. L. et al. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 766-773, 2012.
- PEREZ-MARTIN, Alfonso et al. Regulation of photosynthesis and stomatal and mesophyll conductance under water stress and recovery in olive trees: correlation with gene expression of carbonic anhydrase and aquaporins. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 12, p. 3143-3156, 2014.

RODRIGUES, Olivier et al. Aquaporins facilitate hydrogen peroxide entry into guard cells to mediate ABA-and pathogen-triggered stomatal closure. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 34, p. 9200-9205, 2017.

ROSA, T. D et al. Alagamento do solo: efeito no crescimento inicial da aveia branca (*Avena sativa L.*). **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 2, p. 2- 5, 2016.

ROSALES, Miguel A. et al. Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance. **Plant physiology and biochemistry**, v. 56, p. 24-34, 2012.

SHARMA, Anupam; BHARDWAJ, Rachana D. Effect of seed pre-treatment with varying concentrations of salicylic acid on antioxidant response of wheat seedlings. **Indian journal of plant physiology**, v. 19, n. 3, p. 205-209, 2014.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species; oxidative damage; and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, 2012.

SHARMA, S.; VILLAMOR, J.G; VERSLUES, P.E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. **Plant Physiology**, vol. 157, no. 1, pp. 292-304, 2011.

SHUKLA, Pushp S. et al. Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. **AoB Plants**, v. 10, n. 1, p. plx051, 2018.

SILVA, A. C. D et al. Salicylic acid as attenuator of drought stress on germination and initial development of sesame. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 3, p. 156-162, 2017.

SILVA, M. A et al. Pigmentos fotossintéticos e índice spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181. 2014.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F. & AMORI NETO, M. S. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 4(3): 338-342, 2000.

TAN, Z.-H. et al. Optimum air temperature for tropical forest photosynthesis: mechanisms involved and implications for climate warming. **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 5, 2017.

TATAGIBA, S. D., PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Fotossíntese em Eucalyptus sob diferentes condições edafoclimáticas. **Eng. Agri.** 23, 336-345. 2015.

TIAN, S. et al. Plant aquaporin AtPIP1 apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways. **Plant Physiology**, v.171, p.1635-1650, 2016.

TORUN, H. Time-course analysis of salicylic acid effects on ROS regulation and antioxidant defense in roots of hulled and hulless barley under combined stress of drought, heat and salinity. **Physiologia plantarum**, v. 165, n. 2, p. 169-182, 2019.

ULLAH, Abid et al. Drought coping strategies in cotton: increased crop per drop. **Plant biotechnology journal**, v. 15, n. 3, p. 271-284, 2017.

VAN LEEUWEN, C; DESTRAC-IRVINE, A. Modified grape composition under climate change conditions requires adaptations in the vineyard. **Oeno One**, v. 51, n. 2, p. 147-154, 2017.

VELÁZQUEZ-MÁRQUEZ, S. et al. Effects of water deficit on radicle apex elongation and solute accumulation in *Zea mays* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 96, p. 29-37, 2015.

YANG, S.L. et al. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, vol. 59, no. 3, pp. 529-536, 2015.

YI, X. P. et al. Rapid recovery of photosynthetic rate following soil water deficit and re-watering in cotton plants (*Gossypium herbaceum* L.) is related to the stability of the photosystems. **Journal of Plant Physiology**, v. 194, p. 23-34, 2016.