



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**WELLERSON LEITE DE ANDRADE**

**APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO E INOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium*  
MITIGAM OS EFEITOS DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM CULTIVARES DE FEIJÃO-  
CAUPI**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2018**

**WELLERSON LEITE DE ANDRADE**

**APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO E INOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium*  
MITIGAM OS EFEITOS DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM CULTIVARES DE FEIJÃO-  
CAUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar e subsistência.

**Orientador: D.Sc. Alberto Soares De Melo**

**Co-orientador: D.Sc. Yuri Lima Melo**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2018**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A553a Andrade, Wellerson Leite de.  
Aplicação de ácido salicílico e inoculação com *Bradyrhizobium* mitigam os efeitos da restrição hídrica em cultivares de feijão-caupi. [manuscrito] : / Wellerson Leite de Andrade. - 2018.  
67 p. : il. colorido.

Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2018.  
"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, Departamento de Biologia - CCBS."  
"Coorientação: Prof. Dr. Yuri Lima Melo, Departamento de Biologia - CCBS."

1. *Vigna unguiculata*. 2. Deficit hídrico. 3. Ação antioxidante. 4. Cultivo do feijão. I. Título

21. ed. CDD 635.652

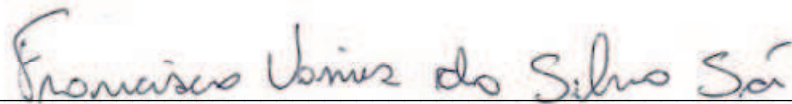
**ELLERSON LEITE DE ANDRADE**

**APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO E INOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium*  
MITIGAM OS EFEITOS DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM CULTIVARES DE FEIJÃO-  
CAUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Agricultura Familiar e subsistência.

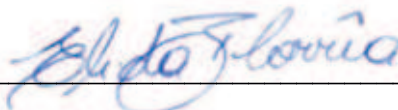
Apresentada em 14 de Junho de 2018

**BANCA EXAMINADORA**



---

**Prof.º Francisco Vaniés da Silva Sá (D. Sc., Engenharia Agrícola) – UFERSA / Mossoró-RN**



---

**Prof.ª Elida Barbosa Corrêa (D. Sc., Proteção de Plantas) – UEPB**



---

**Prof.º Yuri Lima Melo (D. Sc., Fitotecnia/Agronomia) – UEPB**

**Coorientador**



---

**Prof.º Alberto Soares de Melo (D. Sc., Recursos Naturais) – UEPB**

**Orientador**

*Ao grande senhor Deus.*

*Aos meus pais, José Alberto e Maria da Glória.*

*A todos os demais familiares e amigos.*

*Ofereço*

*Ao grande amor da minha vida, a mulher considerada mais importante pra mim, que proporcionou tudo que sou e onde estou até os dias atuais, com seu jeito atencioso e sempre prestativo de ser, regado a um carinho muito peculiar... À minha mãe Maria da Glória Leite...*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu bom Deus por me permitir chegar até aqui onde estou, por me conceder paciência e persistência para não desistir nos momentos mais difíceis, por me conceder também sabedoria necessária e chegar ao fim de mais uma etapa de minha carreira acadêmica.

Agradecer à minha família, meus pais José Alberto e Maria da Glória por me educarem, por acreditarem em mim e me incentivarem em todas as minhas escolhas. Agradeço muito a Deus por ter ótimos pais como vocês que sempre unidos cuidaram bem de mim e me permitiram um bom futuro. Agradeço a toda minha família que estiveram sempre torcendo por mim.

AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS (PPGCA) da UEPB/Embrapa Algodão, pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos e galgar novos desafios em minha vida.

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Alberto Melo por permitir que eu pudesse entrar na equipe do Ecolab e depositar confiança em mim como seu orientando, por ser um ótimo professor, orientador e amigo, fonte de conhecimento e de aprendizado.

Agradeço imensamente ao Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Yuri de Lima Melo pelo ótimo orientador que foi e sempre será, por ter depositado toda confiança em mim e por passar todo conhecimento que aprendi no laboratório com paciência e tranquilidade.

Agradeço a todos os meus amigos do Ecolab, Venancio, Duval, Renato, Ferraz, Igor, Anderson e Auta por estarem comigo no laboratório e pela ajuda nos experimentos, sempre em busca de conhecimento e pelo incentivo de vocês.

Aos meus amigos e familiares, que estiveram comigo de alguma forma me ajudando seja me botando pra cima com palavras amigas, acreditando sempre em mim, me apoiando e dando forças ou até mesmo ajudando a realizar algumas etapas do meu experimento.

A Olga Rodrigues pelo apoio emocional, pelas diversas vezes que me ajudou com meu experimento tanto incentivando como ajudando diretamente na condução do mesmo, por não ter me deixado desistir nunca, obrigado por participar ativamente nessa conquista.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Paulo Ivan Fernandes Júnior, por disponibilizar as rizobactérias para a realização do experimento.

À EMBRAPA Meio-Norte por disponibilizar as sementes para realização do presente estudo.

Ao CORPO DOCENTE do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, em especial os professores Alberto Soares de Melo, Paulo Ivan Fernandes Júnior, Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses, Diogo Gonçalves Neder e a Josemir Moura Maia, que tive o privilégio e a oportunidade de conviver em sala de aula.

Ao SECRETÁRIO DO PPGCA, e amigo, Danilo Cavalcante de Sousa Forte, pela atenção e prestatividade.

À COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

A todos que constituem a UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA, por disponibilizarem a estrutura e o apoio necessário durante o curso de graduação e mestrado.

Aos funcionários da Universidade Estadual da Paraíba e do Horto florestal do município de Campina Grande pelo apoio que foi concedido.

Aos membros da banca Prof. Dr. Francisco Vaniés da Silva Sá e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elida Barbosa Corrêa, pela atenção e as contribuições ao trabalho.

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”*

*- Chico Xavier*

*“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica: A vontade.”*

*- Albert Einstein*



## RESUMO

O déficit hídrico causa danos em diversos níveis fisiológicos nas plantas de feijão-caupi, principalmente em condições de clima semiárido, onde as secas são frequentes ao longo dos anos, assim como observado no Nordeste brasileiro. Entretanto o feijoeiro possui múltiplos mecanismos de defesa para contornar o déficit hídrico, que podem ser expressados por genótipos tolerantes ou com aplicação de atenuantes do déficit hídrico. Com tudo, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a interação da adubação foliar com ácido salicílico e a inoculação de *Bradyrhizobium* sobre parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos de feijão-caupi em condições de estresse hídrico. Quatro genótipos de feijão-caupi foram cultivados, no viveiro florestal do município de Campina Grande, sob duas lâminas de irrigação: W100 (sem estresse) e W50 (com estresse), com 100% e 50% da reposição hídrica da evapotranspiração, respectivamente, monitoradas com auxílio de um evaporímetro. Foram aplicadas duas doses de ácido salicílico, sem ácido salicílico e com ácido salicílico, na concentração de 1,0 mM e por fim duas formas de inoculação (uma com bactérias do tipo *Bradyrhizobium* nas sementes de feijão-caupi e outra sem inoculação). A combinação dos quatro fatores (4 GEN x 2 LAM x 2 AS x 2 RY) resultou em 32 tratamentos, arranjados no delineamento blocos casualizados, com quatro repetições e parcela experimental composta de quatro plantas. Durante os 25 dias de condução do experimento as plantas de feijão-caupi foram feitas as primeiras medidas de crescimento e em seguida a aplicação do ácido salicílico, após o período de 11 dias as plantas foram avaliadas quanto ao potencial hídrico foliar, e coletadas para análises bioquímicas, onde foram utilizadas para análises bioquímicas apenas a parte aérea da planta. A aplicação do *Bradyrhizobium* junto ao ácido salicílico promoveu a manutenção do status hídrico dos genótipos BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia em condições de déficit hídrico. Já a inoculação do *Bradyrhizobium* de forma isolada favoreceu a manutenção do status hídrico na cultivar BRS Aracê, enquanto que o ácido salicílico de forma isolada promoveu a manutenção do status hídrico nas cultivares BRS Marataoã e BRS Aracê. A inoculação do *Bradyrhizobium* com a aplicação de ácido salicílico, em condições de déficit hídrico, garantiu a manutenção principalmente da taxa de crescimento absoluto das cultivares BRS Marataoã e BR 17 Gurguéia, além da área foliar para o BR 17 Gurguéia e da massa seca para o BRS Marataoã, através dos aumentos na concentração de prolina para ambos e da atividade da Superóxido Dismutase apenas para BRS Marataoã. A inoculação do *Bradyrhizobium* favoreceu a manutenção principalmente da taxa de crescimento absoluto, área foliar e massa seca das cultivares BRS Marataoã e BRS Aracê, em condições de déficit hídrico, por meio do aumento de prolina e da atividade da ascorbato peroxidase em ambos, além do aumento da atividade da catalase na cultivar BRS Aracê. Ainda, a inoculação promoveu o aumento da maioria dos parâmetros de crescimento na cultivar BR 17 Gurguéia, pelo aumento nos níveis de prolina. A aplicação de ácido salicílico, em condições de déficit hídrico, garantiu a manutenção da maioria dos parâmetros agrônômicos em todas as cultivares avaliadas. Participaram do processo de mitigação dos efeitos do déficit hídrico, na cultivar BRS Rouxinol, a prolina e a superóxido dismutase; em BRS Marataoã, a prolina e a catalase; e em BRS Aracê, a prolina, a ascorbato peroxidase e a catalase.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Vigna unguiculata*; Rizóbio; antioxidante; déficit hídrico; fitormônio

## ABSTRACT

Water deficit causes damages at different physiological levels in cowpea plants, especially in semi-arid climate conditions, where droughts are frequent at the beginning of the years, as observed in the Brazilian Northeast. However, the bean plant has several defense mechanisms to overcome the water deficit, which can be expressed by tolerant genotypes or by the application of water deficit attenuators. However, the objective of this study was to evaluate the interaction of foliar fertilization with salicylic acid and the inoculation of *Bradyrhizobium* on growth, physiological and biochemical parameters of cowpea under conditions of water stress. Four genotypes of cowpea were cultivated in the forest nursery of the municipality of Campina Grande under two irrigation slides: W100 (without stress) and W50 (with stress), with 100% and 50% of the evapotranspiration water replenishment, respectively, monitored with the help of an evaporimeter. Were applied two doses of salicylic acid, without salicylic acid and with salicylic acid, at the concentration of 1.0 mM and finally two forms of inoculation (one with *Bradyrhizobium* type bacteria in cowpea and one without inoculation). The combination of the four factors (4 GEN x 2 LAM x 2 AS x 2 RY) resulted in 32 treatments, arranged in the randomized block design, with four replicates and experimental plot composed of four plants. During the 25 days of conduction of the experiments the cowpea plants were made the first growth measures and then the application of the salicylic acid, after the period of 11 days the plants were evaluated for the leaf water potential and collected for analysis biochemical analysis, where only the aerial part of the plant was used for biochemical analysis. The application of *Bradyrhizobium* together with salicylic acid promoted the maintenance of the water status of BRS Marataoã, BRS Aracê and BR 17 Gurguéia genotypes under conditions of water deficit. On the other hand, *Bradyrhizobium* inoculation favored the maintenance of water status in the cultivar BRS Aracê, while salicylic acid promoted the maintenance of water status in BRS Marataoã and BRS Aracê cultivars. The inoculation of *Bradyrhizobium* with the application of salicylic acid, under conditions of water deficit, ensured the main maintenance of the absolute growth rate of the cultivars BRS Marataoã and BR 17 Gurguéia, besides the leaf area for BR 17 Gurguéia and of the dry mass for the BRS Marataoã, through increases in proline concentration for both and Superoxide Dismutase activity only for BRS Marataoã. The inoculation of *Bradyrhizobium* favored the maintenance of the absolute growth rate, foliar area and dry mass of BRS Marataoã and BRS Aracê cultivars, under conditions of water deficit, by increasing proline and ascorbate peroxidase activity in both, besides increased catalase activity in BRS Aracê cultivar. In addition, inoculation promoted the increase of most of the growth parameters in the cultivar BR 17 Gurguéia, due to the increase in proline levels. The application of salicylic acid, under conditions of water deficit, ensured the maintenance of most of the agronomic parameters in all cultivars evaluated. Were part of the mitigation process of the effects of the water deficit on the cultivar BRS Rouxinol, proline and superoxide dismutase; in BRS Marataoã, proline and catalase; and in BRS Arace, proline, ascorbate peroxidase and catalase.

**KEYWORDS:** *Vigna unguiculata*; rhizobium; antioxidant; drought; phytohormonium

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais características das cultivares utilizadas no experimento.....	<b>25</b>
<b>Tabela 2.</b> Análise de variância das variáveis estudadas.....	<b>67</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Cultivares de feijão caupi utilizadas no experimento. Campina Grande, PB, 2018. 25
- Figura 2.** Análise do solo, Fonte: laboratório de ciências do solo Universidade Federal de Campina Grande campus II. .... 26
- Figura 3.** Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo dos vasos em blocos casualizados. Campina Grande, PB, 2018..... 27
- Figura 4.** Etapas da instalação do experimento, disposição do solo no vaso e perfuração das sementes (A), covas perfuradas no vaso (B), distribuição das sementes nas covas (C), inoculação do rizóbio nas sementes (D), aplicação do ácido salicílico com auxílio do aspersor via costa (E) evaporímetro (F). Campina Grande, PB, 2018. .... 27
- Figura 5.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.. 33
- Figura 6.** Taxa de crescimento absoluto (TCA) em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação. .... 35
- Figura 7.** Área foliar em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação. .... 38
- Figura 8.** Massa fresca em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação. .... 40
- Figura 9.** Massa seca em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de

ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação. ....

42

**Figura 10.** Concentração de prolina em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.

46

**Figura 11.** Atividade da superóxido desmutase em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação. ....

47

**Figura 12.** Atividade da ascorbato peroxidase em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação. ....

51

**Figura 13.** Atividade da catalase em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.

52

## LISTA DE ABREVIATURAS

AF – Área foliar

APX – Ascorbato peroxidase

AS – Ácido salicílico

CAT – Catalase

CO<sub>2</sub> – Gás carbônico

Ctrl – grupo sem aplicação de atenuadores

DAE – Dias após emergência

EDTA - ácido etilenodiaminotetracético

EROS – Espécies reativas de oxigênio

FBN – Fixação biológica de nitrogênio

g – Giros por minuto

g - Gramas

GEN – Genótipos

H<sub>2</sub>O – Água

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Peróxido de hidrogênio

MS – Massa seca da parte aérea

NBT - Cloreto de nitrotetrazólio azul

Nm – Nanometros

O<sub>2</sub> – Gás oxigênio

O<sub>2</sub><sup>•-</sup> – Ânion superóxido

°C – Graus célsius

OH<sup>•</sup> - Radical hidroxil

PRO – Prolina livre

PVP – Polivinilpirrolidona

RY – Inoculada com *Bradyrhizobium*

SOD – Superóxido dismutase

TCA – Taxa de crescimento absoluto

Ψ<sub>f</sub> – Potencial hídrico foliar

W50 – Lâmina com déficit hídrico

W100 – Lâmina sem déficit hídrico

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1 Objetivo geral .....	17
1.2 Objetivos Específicos .....	17
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
2.1 Feijão-Caupi .....	19
2.2 Água no Semiárido .....	19
2.3 Estresse hídrico nas plantas .....	20
2.4 Efeitos do estresse hídrico em plantas de feijão-caupi .....	21
2.5 Mecanismos de tolerância ao estresse hídrico.....	21
2.5.1 O ajustamento osmótico das plantas .....	21
2.5.2 Metabolismo antioxidante .....	23
2.6 As bactérias e a Fixação Biológica de Nitrogênio .....	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
3.1 Localização da pesquisa, tratamentos e delineamento estatístico .....	25
3.2 Instalação e condução .....	26
3.3 Análise do potencial hídrico foliar .....	28
3.4 Análises de Crescimento .....	28
3.5 Análises bioquímicas .....	28
3.5.1 Quantificação de prolina livre .....	28
3.5.2 Atividade das enzimas antioxidantes .....	29
3.5.2.1 Atividade da catalase .....	29
3.5.2.2 Atividade da ascorbato peroxidase .....	30
3.5.2.3 Atividade da superóxido desmutase .....	30
3.6 Análise estatística .....	31
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>32</b>
4.1 Potencial Hídrico .....	32
4.2 Taxa de crescimento absoluto .....	34
4.3 Área foliar .....	37
4.4 Massa fresca da parte aérea .....	39



<b>4.5 Massa seca da parte aérea .....</b>	<b>42</b>
<b>4.6 Quantificação de prolina livre .....</b>	<b>43</b>
<b>4.7 Atividade da superóxido dismutase .....</b>	<b>46</b>
<b>4.8 Atividade da ascorbato peroxidase .....</b>	<b>49</b>
<b>4.9 Atividade da Catalase .....</b>	<b>52</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) possui atualmente uma área plantada de aproximadamente 1051 mil hectares com estimativa de rendimento para safra 2017/2018 de 1.268,9kg/ha (CONAB, 2018), e é uma fonte alimentar imprescindível para a região Norte e Nordeste do Brasil, principalmente na região semiárida do Nordeste (KOBLOITZ, 2011). Esta cultura desenvolve-se regularmente sob uma faixa de temperatura entre 21 a 30 °C e tem como necessidade pluviométrica 300 mm para que produza satisfatoriamente sem o uso de prática de irrigação (BARROS et al., 2012). Apesar da pequena demanda hídrica em comparação a outras culturas, no ambiente semiárido, o feijoeiro encontra uma condição adversa, devido as altas temperaturas e precipitação descontínua ao longo do seu ciclo, que na maioria das vezes é inviável para uma produção satisfatória (DIDONET e VITÓRIA, 2006; FREIRE FILHO et al., 2011).

O estresse hídrico promove uma limitação na produtividade da cultura do feijão-caupi à medida que proporciona alterações nas condições fisiológicas, tanto no aumento na temperatura da folha como na relação temperatura foliar/ambiente; redução do potencial hídrico foliar, condutância estomática e produtividade de grãos (NASCIMENTO et al., 2011).

A ausência de água no solo, muitas vezes, gera um estresse oxidativo nas plantas, impedindo o funcionamento normal da célula, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs), que em nível mais avançado, causa a morte vegetal (QU et al., 2013). Segundo Sharma et al. (2012) as espécies reativas de oxigênio mais comuns são: oxigênio singleto ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^\bullet$ ) e ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ). Dada essas condições, os vegetais sustentam o seu potencial hídrico por meio da acumulação de osmoprotetores e/ou solutos compatíveis no interior da célula, independente do volume resultante da perda de água (TAIZ et al., 2017), além de transformações estruturais para melhorar o funcionamento celular sob estresse hídrico (LISAR et al., 2012).

O acúmulo dessas EROs geram várias consequências, por exemplo, a oxidação de proteínas, a inibição enzimática, danos em nível de DNA e RNA, funcionamento inadequado da fotossíntese e a necrose das folhas (QU et al., 2013). Em resposta à produção das EROs, os vegetais desenvolveram um mecanismo denominado sistema antioxidante de sinalização e defesa contra o estresse hídrico (BARBOSA et al., 2014; DUTRA et al., 2017). Quanto mais eficiente a assimilação do nitrogênio inorgânico, melhor será também todas as reações bioquímicas da planta, pela produção suficiente de proteínas e enzimas. É possível que sejam afetadas positivamente as enzimas e proteínas responsáveis pela formação e manutenção das membranas

plasmáticas, permitindo assim melhores arranjos de suas estruturas, durante o período de armazenamento e também na germinação (POSSENTI e VILLELA, 2010).

A fixação biológica de N (FBN) representa a forma mais importante de fixar o nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) em amônio e o ponto chave do ingresso do N molecular no ciclo biogeoquímico desse elemento (TAIZ et al., 2017). Como os gases atmosféricos também se difundem para o espaço poroso do solo, o  $N_2$  consegue ser aproveitado pelos microrganismos que o habitam devido à ação da enzima denominada nitrogenase, que é capaz de romper a tripla ligação do  $N_2$  e reduzi-lo a amônia (a mesma forma obtida pelo processo industrial) (HUNGRIA, 2011). Essa reação de fixação biológica de nitrogênio atmosférico é realizada por microrganismos procarióticos conhecidos como diazotróficos, que podem ser de vida livre, estar associados a espécies vegetais ou estabelecer simbiose com leguminosas (MOREIRA et al., 2010).

Presente na maioria das plantas o ácido salicílico (AS) possui inúmeras funções reguladoras no metabolismo vegetal (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014). Além disso, o ácido salicílico desempenha papel importante na regulação de vários processos fisiológicos na planta (MAZZUCHELLI et al. 2014), contudo o acúmulo de AS é um formidável componente nos sinais de tradução das vias principais para a resistência sistêmica adquirida (SONG et al., 2004). No entanto, o mecanismo exato de ação do AS não é bem compreendido, principalmente, porque o mesmo pode diferir de espécie para espécie, bem como pode variar de acordo com as condições ambientais (PÁL et al., 2014).

A busca por genótipos com tolerância ao déficit hídrico é de extrema importância para a viabilidade e manutenção do plantio dessa cultura, bem como a seleção de mitigadores que possam ser utilizados no processo de indução de tolerância a estresses abióticos, sendo um elemento de fundamental importância associado à estratégia de adaptação às mudanças climáticas

## 1.1 Objetivo geral

Avaliar a aplicação foliar do ácido salicílico sobre parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos em feijão-caupi inoculado com *Bradyrhizobium* e sob diferentes condições hídricas.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial hídrico foliar em feijão-caupi submetido ao déficit hídrico associado ou não ao uso de ácido salicílico e inoculação com *Bradyrhizobium*.

- Quantificar o crescimento, massa seca e fresca da parte aérea e área foliar de genótipos de feijão-caupi em condições de deficiência hídrica, tratadas com ácido salicílico e inoculados com *Bradyrhizobium*;
- Determinar a atividade enzimática (catalase, ascorbato peroxidase e superóxido desmutase) e o conteúdo de prolina em cultivares de feijão-caupi submetidos à deficiência hídrica, aplicação de ácido salicílico via foliar e inoculadas com *Bradyrhizobium*;

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Feijão-Caupi

No cenário atual, o feijão-caupi atingiu produtores empresariais, com lavouras mecanizadas, grandes polos produtores e centros consumidores, surgindo assim novas demandas (FREIRE FILHO et al., 2011). Conforme o IBGE (2017), atualmente o Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial de feijão, com uma área cultivada em torno 3,1mil hectares, com produção média de 1.083 kg ha<sup>-1</sup>. A sua produção no Brasil corresponde aproximadamente a 15% do feijão total produzido no mundo cujo cultivo é concentrado nas regiões Norte e Nordeste (TEIXEIRA et al., 2010).

Sua produção ocorre principalmente na região semiárida, onde outras leguminosas não se desenvolvem devido à irregularidade das chuvas e das altas temperaturas. Pelo fato de possuir alta adaptabilidade às diversas condições de cultivo, o feijão-caupi é amplamente aceito pelos pequenos produtores da região Nordeste (FREIRE FILHO et al. 2011).

Devido ao alto cultivo, comércio e consumo, essa cultura tem grande importância para o Norte e o Nordeste brasileiro, principalmente para os estados do Piauí, Ceará e Bahia. Nessas regiões a produção é feita por empresários e agricultores familiares. (ROCHA et al., 2009). Desempenha função socioeconômica e nutricional, sobretudo sobre a população rural no auxílio das necessidades nutricionais, pois são superiores às do feijão comum. Além disso, mantém a mão-de-obra no campo e tem baixo custo de produção (TEÓFILO et al., 2008).

O feijão-caupi é também utilizado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal, adubo verde e proteção do solo por ser uma das leguminosas cultivadas mais adaptáveis e nutritivas (DUTRA e TEÓFILO, 2007). Além de representar principal alimento para as populações de baixa renda no Nordeste brasileiro, é importante fonte de proteínas (RIVAS et al., 2016), apresenta todos os aminoácidos essenciais, carboidratos, vitaminas, minerais, fibras dietéticas e baixa quantidade de gordura (FROTA et al., 2008).

### 2.2 Água no Semiárido

O desenvolvimento populacional e o uso e ocupação do solo de forma desordenada limita a disponibilidade hídrica para usos múltiplos (VIALLE et al., 2011). Esse fato é mais agravante em regiões secas onde a limitação da disponibilidade hídrica é um processo natural. No semiárido brasileiro a aridez e a distribuição irregular da precipitação pluviométrica no tempo e no espaço levaram à prática da construção de reservatórios de captação e de armazenamento das águas superficiais.

Águas represadas estão sujeitas à deterioração de sua qualidade devido à alta taxa de evaporação e aos aportes de nutrientes oriundos da agricultura e esgotos domésticos (LIU et al., 2011).

A qualidade da água reflete os efeitos agregados de vários processos ao longo do caminho percorrido pela mesma e é influenciada pelas características da bacia hidrográfica (MASSOUD, 2012).

As áreas de semiárido, devido a escassez hídrica, com a irrigação, muitas vezes apresentam acúmulo de sais no solo, que pode comprometer a formação de mudas e a capacidade produtiva das diversas culturas (FERREIRA et al., 2001; PEREIRA et al., 2006; CAVALCANTE et al., 2007).

### **2.3 Estresse hídrico nas plantas**

O termo “estresse” geralmente é definido como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta. Este conceito está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável (TAIZ et al., 2017). O estresse causa desvio significativo das condições ótimas para a vida e induz a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes (SCHITTENHELM, 2010; WU et al., 2011; FERREIRA et al., 2011).

Uma planta pode estar submetida a vários tipos de estresses ambientais. Tratando-se de disponibilidade hídrica, a planta pode sofrer injúrias tanto por excesso como por falta de água, mas como o estresse por deficiência é mais comum na natureza, esse termo tem sido abreviado para estresse hídrico ou déficit hídrico, gerando conflito no modo de utilização (ANGELOCCI, 2002).

A deficiência hídrica pode ser definida como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação (TAIZ et al., 2017).

Considerado um dos fatores mais limitantes ao crescimento e ao desenvolvimento das plantas, o déficit hídrico ocorre em grande extensão de área, especialmente em regiões áridas e semiáridas, as quais caracterizam-se pela baixa precipitação pluviométrica e pela irregularidade na distribuição das chuvas (MELO et al., 2010; SUASSUNA et al., 2012). Os efeitos da deficiência hídrica dependem de vários fatores, tais como: a sua intensidade, duração, fase fenológica de crescimento e capacidade de resistência genética das plantas (KABIRI et al., 2012).

Assim, a deficiência hídrica é um dos fatores de estresse que causa maiores danos aos processos fisiológicos e metabólicos das plantas, sobretudo acarretando em reduções na produtividade (PIMENTEL, 2004; TAIZ et al., 2017). A necessidade de amenizar estes efeitos negativos leva a planta a desenvolver mecanismos morfofisiológicos, que as conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores (TARDIN et al., 2013), como na fase de produção de sementes. Dessa forma, a tolerância à seca é um mecanismo que permite à planta manter o metabolismo, mesmo com a redução do potencial hídrico dos tecidos, devido principalmente ao acúmulo de solutos compatíveis ou osmólitos, proteínas osmoprotetoras e à capacidade antioxidante (TAIZ et al., 2017).

## **2.4 Efeitos do estresse hídrico em plantas de feijão-caupi**

O estresse hídrico tem efeito em diversos processos fisiológicos do feijão-caupi e já foi objeto de pesquisas realizadas por Gomes Filho e Tahin (2002), Oliveira et al. (2005), Mendes et al. (2007) e Endres et al. (2010). A avaliação do *status* hídrico das plantas, quando submetidas à deficiência hídrica nas fases vegetativa e reprodutiva, demonstra que cultivares de feijão-caupi sofrem reduções significativas no potencial hídrico foliar, fotossíntese, condutância estomática e transpiração foliar, com consequente aumento na temperatura da folha (MENDES et al., 2007; SILVA et al., 2016).

Em plantas de feijão-caupi, o déficit hídrico diminui a condutância estomática e aumenta a resistência difusiva ao vapor de água, mediante fechamento dos estômatos, reduzindo a transpiração e, em consequência, o suprimento de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese (OLIVEIRA et al., 2005; MOREIRA et al., 2016; DUTRA et al., 2017).

Em estudos realizados por Custódio et al. (2009), foi constatado uma alta sensibilidade do feijão à escassez d'água após a semeadura, onde os estresses mais leves induzem a plântula aos primeiros sintomas de deficiência na folha primária. O mesmo estudo indica que estresses mais severos podem reduzir drasticamente a germinação e a alongação de células, porém a germinação é mantida mesmo em altos níveis de estresse, indicando uma certa tolerância a essa injúria (Paiva et al., 2018).

## **2.5 Mecanismos de tolerância ao estresse hídrico.**

### **2.5.1 O ajustamento osmótico das plantas**

Sob deficiência hídrica a planta pode sofrer diversas alterações morfofisiológicas e bioquímicas. As alterações morfológicas mais evidentes são o fechamento estomático, redução na área foliar, redução do potencial hídrico, inibição fotossintética, abscisão foliar e produção de espécies reativas de oxigênio. Bioquimicamente, as plantas podem alterar o metabolismo de

várias maneiras, incluindo a produção de compostos osmorreguladores, tais como prolina e glicina betaína (TAIZ et al., 2017).

A ausência de água no solo, muitas vezes, gera um estresse oxidativo nas plantas, impedindo o funcionamento normal da célula e, em nível mais avançado, causa a morte vegetal (CARVALHO et al., 2017). Dada essas condições, os vegetais tentam sustentar o seu potencial hídrico por meio da acumulação de osmoprotetores e/ou solutos compatíveis no interior da célula, independente do volume resultante da perda de água (TAIZ et al., 2017), além da adoção de recursos estruturais para melhorar o funcionamento celular sob estresse hídrico (LISAR et al., 2012).

Em condições de estresse, ocorre nas plantas a produção de osmorreguladores celulares através do acúmulo de solutos compatíveis no citosol (SHARMA et al., 2012). Uma das fundamentais respostas das plantas ao estresse hídrico é o ajustamento osmótico, pois está relacionado ao grau de tolerância vegetal (FANG e XIONG, 2015). Através deste mecanismo, as plantas diminuem o potencial hídrico sem que haja diminuição da turgidez das células vegetais, permitindo a continuação dos processos fisiológicos essenciais para o seu crescimento e desenvolvimento (TAIZ et al., 2017).

Deste modo, a função primária dos solutos compatíveis é evitar a perda de água, mantendo a turgescência e também o gradiente para a absorção de água pela célula (LISAR et al., 2012). Assim, o ajuste osmótico das plantas é visto como uma das principais respostas ao estresse hídrico, estando relacionado ao grau de tolerância vegetal (RHEIN et al., 2011). Para Carlin e Santos (2009), diversas substâncias possuem função osmoprotetora, entre elas destacam-se o aminoácido prolina, a glicina betaína e o carboidrato não redutor trealose, que agem protegendo as membranas e suas enzimas dos danos provocados pela desidratação.

Dentre estes solutos, a prolina destaca-se na literatura como soluto chave para o ajuste osmótico, considerado o mais ocorrente nos vegetais em resposta a estresses ambientais, pois seu acúmulo é bastante reproduzido em plantas sob deficiência hídrica, o que é importante para a redução dos efeitos deletérios da seca (FAYEZ e BAZAID, 2014). Além do seu papel como um osmorregulador, a prolina atua no estabelecimento de membranas e proteínas, na eliminação de radicais livres e no ajuste do potencial redox da célula em condições de estresse, com diferentes concentrações nas mais variadas espécies sendo, geralmente, proporcional ao nível de tolerância do vegetal (ASHRAF e FOOLAD, 2007).

Existem ainda outros mecanismos regulatórios dos vegetais em resposta ao estresse hídrico, dentre eles, a manutenção do turgor com o ajuste osmótico, o aumento da elasticidade celular e a diminuição no tamanho da célula (MITRA, 2001). Além do aumento da atividade de



enzimas antioxidantes na célula (GRATÃO et al., 2005).

### 2.5.2 Metabolismo antioxidante

A seca provoca estresse oxidativo em várias espécies de plantas, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs). Segundo Sharma et al. (2012) as espécies reativas de oxigênio mais comuns são: oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e ânion superóxido. Essas espécies são produzidas principalmente nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos quando as plantas sofrem algum estresse, abiótico ou biótico, pois são organelas com alta atividade de oxidação metabólica ou com intenso fluxo de elétrons (GILL e TUTEJA, 2010).

O acúmulo dessas EROs geram várias consequências, por exemplo, a oxidação de proteínas, a inibição enzimática, danos em nível de DNA e RNA, funcionamento inadequado da fotossíntese e a necrose das folhas (SCANDALIOS, 2005).

Em resposta à produção das Eros, os vegetais desenvolveram um mecanismo denominado sistema antioxidante de sinalização e defesa contra o estresse hídrico (BARBOSA et al., 2014). Dentre as enzimas antioxidantes, destaca-se a superóxido dismutase, a ascorbato peroxidase e a catalase.

Presente em todos os organismos aeróbicos, a Superóxido dismutase (SOD) é uma das enzimas antioxidantes intracelulares mais eficazes, sendo a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis elevados das espécies reativas de oxigênio, removendo  $O_2^{\cdot-}$  e catalisando a sua dismutação, onde um  $O_2^{\cdot-}$  é reduzido a  $H_2O_2$  e outro oxidado a  $O_2$ . Classificam-se segundo os seus cofatores de metal em três tipos: o cobre/zinco (Cu/ZnSOD), o manganês (MnSOD) e o ferro (FeSOD), localizados em diferentes compartimentos celulares (BRITO et al., 2016).

A catalase (CAT) é imprescindível para desintoxicação das células das plantas sob condições de estresse, já que são responsáveis pela dismutação direta de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , retirando este peróxido gerado nos peroxissomos por oxidases envolvidos na oxidação de ácidos graxos, fotorespiração e catabolismo de purinas (SILVA, 2014). É a única que consegue catalisar a remoção de peróxido de hidrogênio sem a necessidade de um redutor (SHARMA et al., 2012).

A ascorbato peroxidase (APX) converte o  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , sendo responsável pela eliminação do peróxido de hidrogênio em plantas, indispensável na proteção dos cloroplastos e outros componentes da célula contra danos provocados pelo peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila produzidos, utilizando o ascorbato como redutor (BARBOSA et al., 2014).

## 2.6 As bactérias e a Fixação Biológica de Nitrogênio

Dado o papel chave do nitrogênio para a formação das proteínas e para a vida, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é considerada, após a fotossíntese, o mais importante processo biológico do planeta. A reação de fixação do nitrogênio (FBN) caracteriza-se pela redução do  $N_2$  (nitrogênio gasoso) em formas mais absorvíveis e assimiláveis pelas plantas como o  $NH_3$  (amônia solúvel em água) e  $NO_3^-$  (nitratos), que depois entram no processo de fotossíntese da planta para a produção da cadeia de proteínas necessárias, quer para a planta, quer para o rizóbio (TAIZ et al., 2017).

Os gases atmosféricos também invadem o espaço poroso do solo, por isso o  $N_2$  consegue ser aproveitado pelos microrganismos que ali habitam, para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons, mediado por moléculas aptas a realizá-lo onde a enzima nitrogenase presente no rizóbio que é formada por duas unidades proteicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons, rompe a tripla ligação do  $N_2$  e reduz a amônia (similar à obtida pelo processo industrial) (HUNGRIA, 2011).

As bactérias utilizam parte dos fotoassimilados da planta hospedeira para gerar a energia necessária para promover o processo de fixação biológica de nitrogênio. Por outro lado, a planta se beneficia do nitrogênio fixado pela bactéria para síntese das suas proteínas (CASSINI e FRANCO, 2006). Portanto a coinoculação de rizobacterias pode aumentar o rendimento de leguminosas como, por exemplo, a soja (SORDI et al., 2017).

Se a associação entre os rizóbios e as plantas for eficiente, o nitrogênio fixado pode suprir as necessidades do vegetal, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados e oferecendo, assim, vantagens econômicas e ecológicas, reduzindo assim os impactos do nitrogênio sobre o meio ambiente. O uso de bactérias eficientes na FBN melhora as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, aumenta a produtividade, especialmente em solos pobres, melhorando o fornecimento de nitrogênio para a cultura de feijão (YAGI et al., 2015).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é considerada eficiente no feijão-caupi, e quando bem nodulado, pode dispensar outras fontes de N e atingir altos níveis de produtividade (RUMJANEK et al., 2005). O uso de micro-organismos que possam melhorar o processo de nodulação, e conseqüentemente, a fixação de nitrogênio é de fundamental importância, pois contribuem para o aumento da produtividade da cultura (HUNGRIA, 2011).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Localização da pesquisa, tratamentos e delineamento estatístico

O referido trabalho foi realizado no Viveiro Florestal, situado a 07° 12' 42,99'' de latitude Sul, 35° 54' 36,27'' longitude Oeste a uma altitude de 521 metros, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, Campina Grande – PB com clima Aw tropical segundo Köppen-Geiger.

Quatro genótipos de feijão-caupi (BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurgéia) foram submetidos a duas lâminas de irrigação: W100 (sem estresse) e W50 (com estresse), com 100% e 50% da reposição hídrica da evapotranspiração, respectivamente, monitoradas com auxílio de um evaporímetro instalado na área experimental. Foram aplicadas duas doses de ácido salicílico (sem ácido - testemunha, e com aplicação de ácido salicílico a 1,0mM). E por fim duas formas de inoculação (uma com bactérias do tipo *Bradyrhizobium* nas sementes de feijão-caupi e outra sem inoculação) durante a semeadura, a combinação dos quatro fatores (4 GEN x 2 LAM x 2 AS x 2 RY) resultou em 32 tratamentos, arranjados no delineamento blocos casualizados, com quatro repetições e parcela experimental composta de quatro plantas

**Figura 1.** Cultivares de feijão-caupi utilizadas no experimento. Campina Grande, PB, 2018.



Foto: Andrade W.L. (2018)

**Tabela 1.** Principais características das cultivares utilizadas no experimento.

Cultivares	CARACTERES					
	Porte	Ciclo	NDF	FS	CS	CC
<b>BRS ROUXINOL</b>	Semiereto	65-75	46	Reniforme	Sempre-verde	Marrom sempre-verde
<b>BRS MARATAOÃ</b>	semiprostado	70-75	42	Arredondada	Esverdeada	Cores
<b>BRS ARACÊ</b>	smiprostado	70-75	41	Arredondada	Verde-oliva	Branca
<b>BR 17 GURGUÉIA</b>	enramador	75	52	Reniforme	Esverdeada	Cores

OBS: NDF- número médio de dias para a floração; FS- forma da semente; CS- cor da semente; CC- classe comercial

### 3.2 Instalação e condução

As plantas foram cultivadas em vasos de polietileno com capacidade volumétrica de 20 litros, preenchidos com material de solo de textura franco argilo-arenosa, devidamente corrigido com utilização de carbonato de cálcio P.A, no período de agosto a novembro de 2018, sendo distribuído em 8 linhas com 16 vasos cada, totalizando 128 parcelas experimentais. Foi utilizado um espaçamento de 75 cm entre linhas e vasos (Figura 2). Após se elevar a umidade do solo ao nível próximo ao da capacidade de campo, foram alocadas seis sementes por vaso a uma profundidade média de 2 cm.

Para a preparação do inóculo, as bactérias foram isoladas e cultivadas em meio líquido YM e ficaram sob agitação constante durante 5 dias, para isso foi utilizado o isolado bacteriano *Bradyrhizobium* SEC 17 da ESA (MARINHO et al. 2017). Dois mililitros do caldo bacteriano foi inoculado em cada semente a fim de tornar mais eficaz o estabelecimento das cepas, na tentativa de promover um solo com altas populações do *Bradyrhizobium* para melhor infecção das raízes (MARINHO et al., 2014).

As irrigações foram realizadas normalmente até a aplicação do ácido salicílico na fase V5 (25 dias após a emergência), sendo então iniciada a diferenciação das lâminas de irrigação por meio de um evaporímetro instalado no local do experimento. A aplicação do ácido salicílico via foliar foi feita aos 25 dias após a emergência, com uso de um pulverizador costal.

**Figura 2.** Análise do solo utilizado, Fonte: laboratório de ciências do solo Universidade Federal de Campina Grande campus II.

Resultados da Análise de Solo													
Amostra	pH	C.E. <small>98 m<sup>1</sup> a 25°C</small>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> <small>mg L<sup>-1</sup></small>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	RAS <small>mmol L<sup>-1</sup></small>	PST <small>%</small>	Classificação
34731	5,56	5,96	232,04	7,00	12,25	29,61	1,87	0,00	7,50	35,00	9,54	11,36	Salino Sódico
C.E.: Condutividade Elétrica a 25° C			RAS: Relação de Adsorção de Sódio				PST: Percentagem de Sódio Trocável						
Fertilidade													
pH <small>Água (1:2,5)</small>	P	S - SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> <small>mg/dm<sup>3</sup></small>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> + Al <sup>+3</sup>	Al <sup>+3</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	SB	CTC	M. O.		
4,3	6,89	-	112,03	1,70	5,48	0,20	0,87	0,77	3,63	9,11	25,03	- g/kg -	
P, K, Na: Extrator Mehlich 1						SB: Soma de Bases Trocáveis.							
H + Al: Extrator Acetato de Cálcio 0,5 M, pH 7,0						CTC: Capacidade de Troca Catiônica							
Al, Ca, Mg: Extrator KCl 1 M						M.O.: Matéria Orgânica - Walkley-Black							
Física													
Areia <small>2 - 0,05 mm</small>	Silte <small>0,05 - 0,002 mm</small>	Argila <small>&lt; 0,002 mm</small>	Argila dispersa	Grau de floculação	Densidade do solo	Densidade partícula	Porosidade total	Umidade <small>0,01 0,33 1,50 MPa</small>			CLASSE TEXTURAL		
659	101	240	0	1000	1,38	2,63	0,48	1,52			75	Franco Argilo Arenosa	

**Figura 3.** Disposição dos vasos e espaçamento utilizado para o arranjo dos vasos em blocos casualizados. Campina Grande, PB, 2018.



Foto: Andrade W.L. (2018)

**Figura 4.** Etapas da instalação do experimento, disposição do solo no vaso (A), covas perfuradas no vaso (B), distribuição das sementes nas covas (C), inoculação do rizóbio nas sementes (D), aplicação do ácido salicílico com auxílio do pulverizador via costal (E) e evaporímetro (F). Campina Grande, PB, 2018.



Fotos: Andrade W.L. (2018)

### 3.3 Análise do potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) foi determinado por meio de bomba de pressão tipo Scholander. Inicialmente, foram coletadas folhas (expandidas e com bom estado fitossanitário) e acondicionadas na câmara da bomba de pressão, onde, em seguida, aplicou-se uma pressão até a exsudação, nesse ponto foi efetuada a leitura da pressão aplicada (SCHOLANDER et al., 1965).

### 3.4 Análises de crescimento

Foram realizadas na fase V5 e V9 avaliações de altura da planta em uma planta útil por vaso durante os dois períodos, uma antes da aplicação do ácido salicílico (fase V5) e uma após aplicação do ácido salicílico (fase V9).

A altura da planta (cm) foi avaliada com auxílio de régua milimetrada medindo-a da base do caule até a mais alta ramificação de ramos/folha. A taxa de crescimento absoluto (TCA) da altura foi calculada a partir da equação:  $(TCA = AF - AI / \Delta t)$ , onde AF corresponde à altura final, AI corresponde à altura inicial; e  $\Delta t$  corresponde à variação no tempo (SILVA et al., 2000), expresso em centímetros por dia.

Também foram coletadas uma planta por tratamento de cada repetição, para mensurar a área foliar através de um medidor de área foliar modelo Li-Cor 3100. Foram determinados, também, a massa seca e massa fresca da parte aérea (folhas e caules) das mesmas plantas coletadas para medição da área foliar.

### 3.5 Análises bioquímicas

#### 3.5.1 Quantificação de prolina livre

Foram realizados procedimentos de coleta das plantas sendo utilizadas as folhas, conforme descrito para a atividade enzimática. A quantificação de prolina livre nos tecidos foi realizada pelo método colorimétrico proposto por Bates et al. (1973) e modificado por Bezerra Neto e Barreto (2011).

Para tanto 250 mg de material fresco foram triturados em ácido sulfossalicílico a 3% (5 mL) e centrifugado a 2000 g por 10 minutos, o sobrenadante foi aspirado e utilizado nas determinações. O desenvolvimento da cor foi obtido por meio do aquecimento, em banho-maria regulado a 100 °C, dos tubos de ensaio rosqueáveis contendo a mistura extrato + ninhidrina ácida + ácido acético glacial, na proporção 1:1:1 (volume total 3 mL), durante uma hora.

Após esse período os tubos foram resfriados em banho de gelo, sendo posteriormente adicionado 2 mL de tolueno aos mesmos, os quais foram agitados vigorosamente por 20 segundos e mantidos em repouso por 10 minutos, para que ocorresse a separação das fases. O sobrenadante foi aspirado, alocado em cubeta de vidro e transferido para espectrofotômetro onde se obteve a leitura da absorbância no comprimento de onda de 520 nm, utilizando o tolueno puro como branco.

Em seguida, a concentração de prolina livre foi quantificada com base na curva padrão de L-prolina (0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 mg L<sup>-1</sup>) e expressa em  $\mu\text{mol}$  por grama de matéria fresca. Para o cálculo de prolina foi utilizada a média da absorbância obtida na triplicata.

### 3.5.2 Atividade das enzimas antioxidantes

As atividades das enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) foram quantificadas com a finalidade de verificar o efeito do agente estressante sobre o metabolismo antioxidante nas plantas de feijão-caupi. Para a extração enzimática, 200 mg de material fresco foram triturados, separadamente, em 2 mL de tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH final 7) acrescido de ácido ascórbico (0,1 mM), EDTA (0,1 mM) e polivinilpirrolidona (5%). Em seguida os extratos foram centrifugados a 20000 g e temperatura de 4 °C durante 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado, alocados em tubos tipo eppendorf e mantidos em refrigerador até o momento das análises.

#### 3.5.2.1 Atividade da catalase

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada conforme Sudhakar et al. (2001), a qual é definida com base no consumo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pela enzima presente no extrato. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático (50  $\mu\text{L}$ ) a cubeta de quartzo contendo o meio de reação (2,95 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH 7) e acrescido de peróxido de hidrogênio (20 mM). Em seguida, após uma leve agitação, a mistura foi levada a espectrofotômetro onde foi monitorado o decréscimo da absorbância a 240 nm, durante o período de 1,5 minutos, com leituras realizadas a cada 15 segundos. Para a realização dos cálculos utilizou-se da lei de Lambert Beer (Equação 4). Ao final a atividade da catalase foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg de proteína<sup>-1</sup>.

$$\text{Equação 4. } A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

Em que: A = decréscimo da absorbância (média da triplicata);

$\varepsilon$  = coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio (39,4 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>);

b = caminho óptico;

c = concentração da enzima expressa em mol L<sup>-1</sup>.

### **3.5.2.2 Atividade da ascorbato peroxidase**

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada com base no consumo do ascorbato (NAKANO e ASADA, 1981) por meio do monitoramento do decréscimo da absorbância a 290 nm. Para tanto, 100 µL de extrato enzimático foram misturados ao meio de reação (2,7 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 50 mM e pH 6,0) acrescido de ácido ascórbico (0,8 mM). A reação foi iniciada pela adição de 200 µL de peróxido de hidrogênio (2 mM) a solução e com a concomitante transferência da cubeta de quartzo para o espectrofotômetro, onde foi monitorado o decréscimo da absorbância durante 1 minuto, com leituras realizadas a cada 10 segundos. Para a realização dos cálculos também se utilizou da equação de Lambert Beer (Equação 4), tendo como coeficiente de extinção molar o do ascorbato (2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). A atividade final de APX foi expressa em nmol de ascorbato min<sup>-1</sup> mg de proteína<sup>-1</sup>.

### **3.5.2.3 Atividade da superóxido desmutase**

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base na capacidade de inibição da fotorredução do cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) pela enzima presente no extrato (BEAUCHAMP e FRIDOVICH, 1971).

Para tanto, alíquotas de 40 µL do extrato enzimático foram adicionados a tubos de ensaio, protegidos da luz, contendo o meio de reação (1,5 mL) composto por tampão fosfato de potássio (concentração final 100 mM e pH 7,8) acrescido de EDTA (0,1 mM), metionina (13 mM) e cloreto de nitrotetrazólio azul (NBT) (750 mM). A reação foi iniciada pela adição de riboflavina (concentração final 7 µM) e a concomitante transferência dos tubos para a caixa de reação vedada, com iluminação interna (35W) e a) b) 17 temperatura ambiente, onde permaneceram durante 15 minutos.

Em seguida, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro regulado em 560 nm. Foram considerados como brancos da reação, os tubos com extrato mantidos no escuro (os quais representam 0% da redução de NBT) (branco do escuro) e os tubos sem o extrato mantidos sob iluminação (os quais representam 100% da redução do NBT) (branco do claro). Uma unidade de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária inibir em 50% a fotorredução do NBT em comparação com o branco do claro, sendo a atividade expressa em U min<sup>-1</sup> mg de proteína<sup>-1</sup>. Acrescente-se que as reações foram realizadas em triplicata.



### **3.6 Análise estatística**

Os dados obtidos foram avaliados por análise de variância (teste F até 5% de probabilidade). Foram procedidos teste de comparação de médias (Tukey,  $p < 0,05$ ) para os genótipos e o teste de pares independentes (t de Student) para o ácido salicílico, as laminas e para a inoculação do *Bradyrhizobium*, utilizando-se do software SISVAR 5.6.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Potencial Hídrico

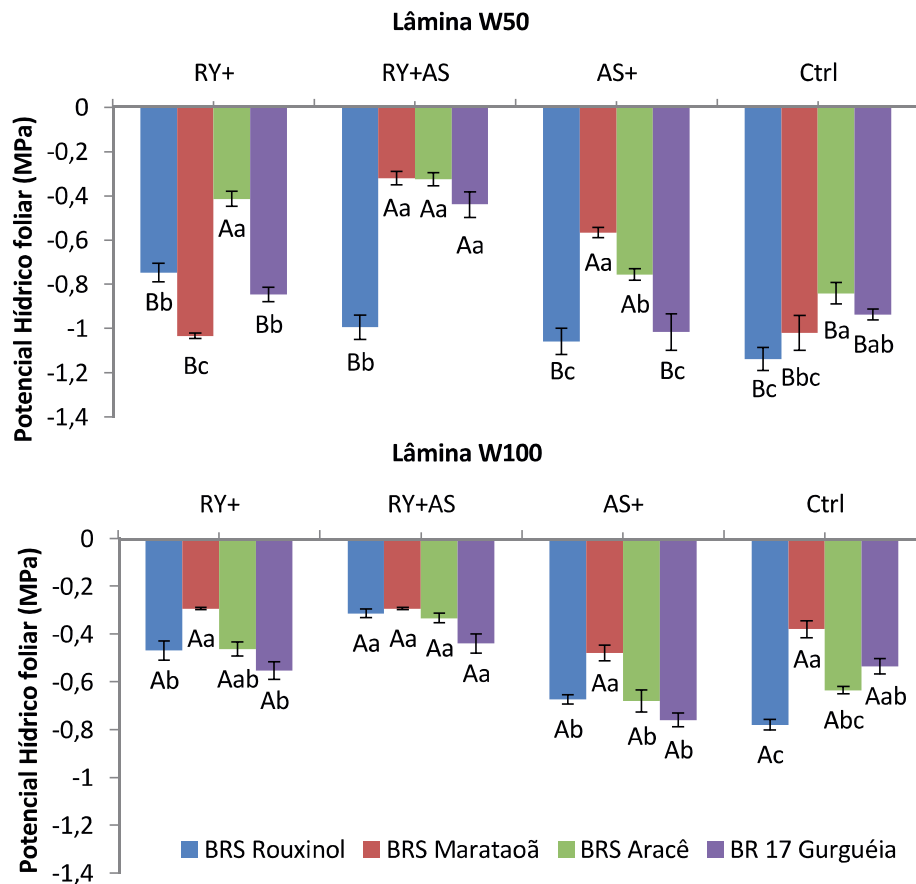
Em condições de déficit hídrico, observou-se redução do potencial hídrico em todos os genótipos. Na lâmina W50 na ausência de atenuadores de estresse, o potencial hídrico foi reduzido em 31%, 62%, 25% e 43% nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 5).

Com a aplicação do *Bradyrhizobium* de forma isolada, em condições de déficit hídrico, apenas o genótipo BRS Aracê não sofreu redução do potencial hídrico, comparado ao tratamento irrigado (Figura 5). Entretanto, a aplicação do *Bradyrhizobium* nas plantas submetidas à lâmina W50 reduziu o potencial hídrico dos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BR 17 Gurguéia em aproximadamente 37%, 71% e 34%, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 5). Já a aplicação do AS de forma isolada, em plantas de feijoeiro submetidas a condições de déficit hídrico, reduziu o potencial hídrico apenas dos genótipos BRS Rouxinol e BR 17 Gurguéia (40% e 42%, respectivamente) (Figura 5). A presença do AS nos demais genótipos garantiu a manutenção do status hídrico das plantas, mesmo em condições de déficit hídrico.

Já a associação do RY com o AS, em aplicação conjunta nas plantas sob déficit hídrico, garantiu a manutenção do potencial hídrico em todos os genótipos, com exceção do BRS Rouxinol, que reduziu 68%, comparado à lâmina W100 (Figura 5).

No genótipo BRS Rouxinol, em condições de déficit hídrico, tanto as aplicações de RY+AS, como a aplicação de AS e RY de forma isolada, aumentaram o potencial hídrico em 12%, 7% e 34%, respectivamente, comparado ao tratamento sem a aplicação de atenuadores. Já o genótipo BRS Marataoã aumentou em 68% o potencial hídrico com a aplicação de RY+AS e 45% com aplicação do AS separadamente, na lâmina W50, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. A aplicação de AS+RY bem como as aplicações de AS e RY de forma isolada, aumentaram o potencial hídrico em 61%, 10% e 51%, respectivamente, no genótipo BRS Aracê na condição de déficit hídrico, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. Já para o BR 17 Gurguéia, na condição de déficit hídrico, tanto a aplicação de RY+AS como a de RY, de forma isolada, aumentaram em 53% e 9%, respectivamente, o potencial hídrico das folhas de feijoeiro, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 5).

**Figura 5.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



A aplicação do RY, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento do potencial hídrico principalmente no BRS Aracê (-0,41 MPa), seguidos do BRS Rouxinol (-0,74 MPa), BR 17 Gurguéia (-0,84 MPa) e BRS Marataoã (-1,03 MPa). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento do potencial hídrico principalmente no BRS Marataoã (-0,56 MPa), seguido do BRS Aracê (-0,75 MPa), BR 17 Gurguéia (-1,01 MPa) e BRS Rouxinol (-1,05 MPa). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento do potencial hídrico principalmente em BRS Marataoã (-0,32 MPa), seguido do BRS Aracê (-0,34 MPa), BR 17 Gurguéia (-0,43 MPa) e BRS Rouxinol (-0,99 MPa) (Figura 5).

Sob condições de déficit hídrico o feijoeiro sofre diversos danos, dentre eles destaca-se alterações nas condições fisiológicas, principalmente relacionadas à redução do potencial hídrico foliar (FREITAS et al., 2017). Tal alteração no balanço hídrico do vegetal ocasiona aumento na

temperatura da folha, reduções na condutância estomática, área foliar, matéria seca total, transpiração, concentração interna de CO<sub>2</sub> e prejuízos nos processos fotossintéticos, limitando o enchimento de grãos e conseqüentemente a produtividade da cultura do feijão-caupi (NASCIMENTO et al., 2011).

Contudo, a manutenção do status hídrico do feijoeiro, observada apenas no genótipo BRS Aracê, após a inoculação do *Bradyrhizobium*, sugere que as plantas inoculadas, em condições de déficit hídrico, possuem um aporte nutricional que favorecem os reguladores osmóticos das plantas, o que induz a uma regulação do seu potencial hídrico e promove melhoria na turgescência das células vegetais, mesmo em condições de seca (KAUSHAL et al., 2016).

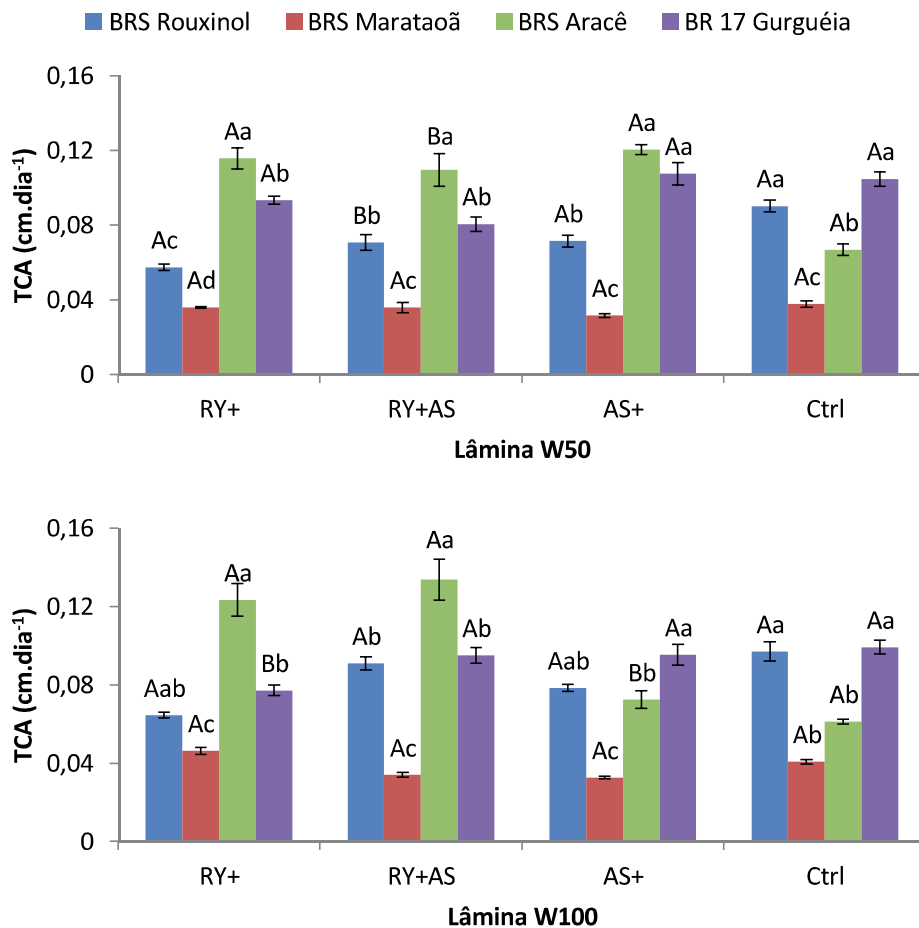
Por outro lado, a manutenção do potencial hídrico nos genótipos BRS Marataoã e BRS Aracê pode estar associada à aplicação de ácido salicílico, que apresenta efeitos benéficos no metabolismo osmorregulador das plantas. Dutra et al. (2017), estudando os efeitos do ácido salicílico na atividade antioxidante do feijão-caupi submetido ao déficit hídrico, observaram que o AS incrementa a produção de osmoprotetores, como por exemplo a prolina, o que induziu uma melhoria na regulação do potencial hídrico das folhas nas plantas estudadas, além de aumentar também a atividade de enzimas antioxidantes.

O aumento na produção de osmoprotetores e também na atividade das enzimas antioxidantes em plantas sob déficit hídrico, tratadas com ácido salicílico (DUTRA et al., 2017) e o aumento nos níveis de nutrientes e moléculas osmoprotetoras, promovido pela presença de rizobactérias no ambiente radicular (GUSAIN et al., 2015) sugerem uma boa ação conjunta desses dois fatores na mitigação dos efeitos do déficit hídrico sobre o status hídrico das plantas, elevando o grau de tolerância do feijoeiro à seca.

#### **4.2 Taxa de crescimento absoluto**

Ao avaliar a taxa de crescimento absoluta da altura, em plantas submetidas à lâmina com déficit hídrico (W50), verificou-se que não houve diferença significativa para nenhum dos genótipos avaliados, quando comparados ao tratamento irrigado (W100) (Figura 7).

**Figura 6.** Taxa de crescimento absoluto (TCA) em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as laminas de irrigação.



Com a aplicação do *Bradyrhizobium* nas plantas sob déficit hídrico, apenas o genótipo BR 17 Gurguéia sofreu aumento do TCA de altura, de aproximadamente 20%, comparado ao tratamento irrigado (Figura 7). Apesar de não aumentarem a TCA da altura, os demais genótipos inoculados com o *Bradyrhizobium* mantiveram o seu crescimento mesmo em condições de déficit hídrico, comparados ao tratamento irrigado. Ainda, com a aplicação isolada do AS, em condições de déficit hídrico, apenas o genótipo BRS Aracê apresentou aumento na TCA da altura (Figura 7). Os demais genótipos submetidos à lâmina W50, mas inoculados com o *Bradyrhizobium*, mantiveram as suas taxas de crescimento absoluto da altura, quando comparado à lâmina W100. Já na associação da inoculação do RY com a aplicação exógena do AS, apenas os genótipos BRS Rouxinol e BRS Aracê sofreram reduções de aproximadamente 30% e 22% na TCA de altura, quando submetidos à lâmina com deficiência hídrica (Figura 7). Em condições de

déficit hídrico, tanto o genótipo BRS Marataoã quanto o BR 17 Gurguéia, não apresentaram diferenças na TCA da altura quando comparados ao tratamento W100 (Figura 7).

Apenas para o genótipo BRS Aracê, em condições de déficit hídrico, tanto as aplicações de RY+AS, como a de AS e RY de forma isolada, aumentaram o TCA de altura em 65%, 81% e 74%, respectivamente, comparados ao tratamento sem a aplicação de atenuadores. Contrariamente, na condição de déficit hídrico, as aplicações isoladas do *Bradyrhizobium* e do tratamento RY+AS, reduziram a TCA da altura nos genótipos BRS Rouxinol (58% e 28%, respectivamente) e BR 17 Gurguéia (11% e 30%, respectivamente). A mesma tendência de redução também foi verificada após aplicação de AS de forma isolada em BRS Rouxinol (35%), comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 7).

A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento do TCA de altura principalmente no genótipo BRS Aracê (0,115 cm.dia<sup>-1</sup>), seguido de BR 17 Gurguéia (0,093 cm.dia<sup>-1</sup>), BRS Rouxinol (0,057 cm.dia<sup>-1</sup>) e BRS Marataoã (0,036 cm.dia<sup>-1</sup>). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento do TCA de altura principalmente no BRS Aracê (0,120 cm.dia<sup>-1</sup>), seguido do BR 17 Gurguéia (0,107 cm.dia<sup>-1</sup>), BRS Rouxinol (0,071 cm.dia<sup>-1</sup>) e BRS Marataoã (0,031 cm.dia<sup>-1</sup>). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento do TCA de altura principalmente no genótipo BRS Aracê (0,109 cm.dia<sup>-1</sup>), seguido de BR 17 Gurguéia (0,080 cm.dia<sup>-1</sup>), BRS Rouxinol (0,070 cm.dia<sup>-1</sup>) e BRS Marataoã (0,035 cm.dia<sup>-1</sup>).

Naturalmente o déficit hídrico causa uma série de mudanças morfológicas, anatômicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas, que afetam o crescimento e o desenvolvimento, promovendo danos pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), inibição de processos fotossintéticos e intensificação da desnaturação de proteínas (SHEN et al., 2017). Contudo, no presente estudo, a manutenção da taxa de crescimento, mesmo em condições de déficit hídrico, observada em todos os genótipos sugere a atuação de mecanismos que mantêm o processo de crescimento normal da planta, conferindo indicativos de tolerância à condição de estresse.

Quando as plantas foram inoculadas com *Bradyrhizobium* e expostas à condição de déficit hídrico, apresentam indução de tolerância por provavelmente promoverem a redução de danos osmóticos e oxidativos, o que melhora a absorção de nutrientes, os processos fotossintéticos e contribui para a manutenção do crescimento, mesmo em condições de seca (KAUSHAL et al., 2016).

Já a ação do AS sobre o aumento nas taxas de crescimento, como observada no presente estudo, foi comprovada também em pesquisas com alface tratado com ácido salicílico e submetido ao déficit hídrico. Nesse estudo, Bankole et al. (2018) observaram que a aplicação

exógena de AS contribuiu para a regulação do potencial hídrico de plantas de alface por meio da diminuição dos danos oxidativo, o que promoveu o aumento nas taxas de crescimento das plantas, conferindo tolerância às plantas em condições de seca.

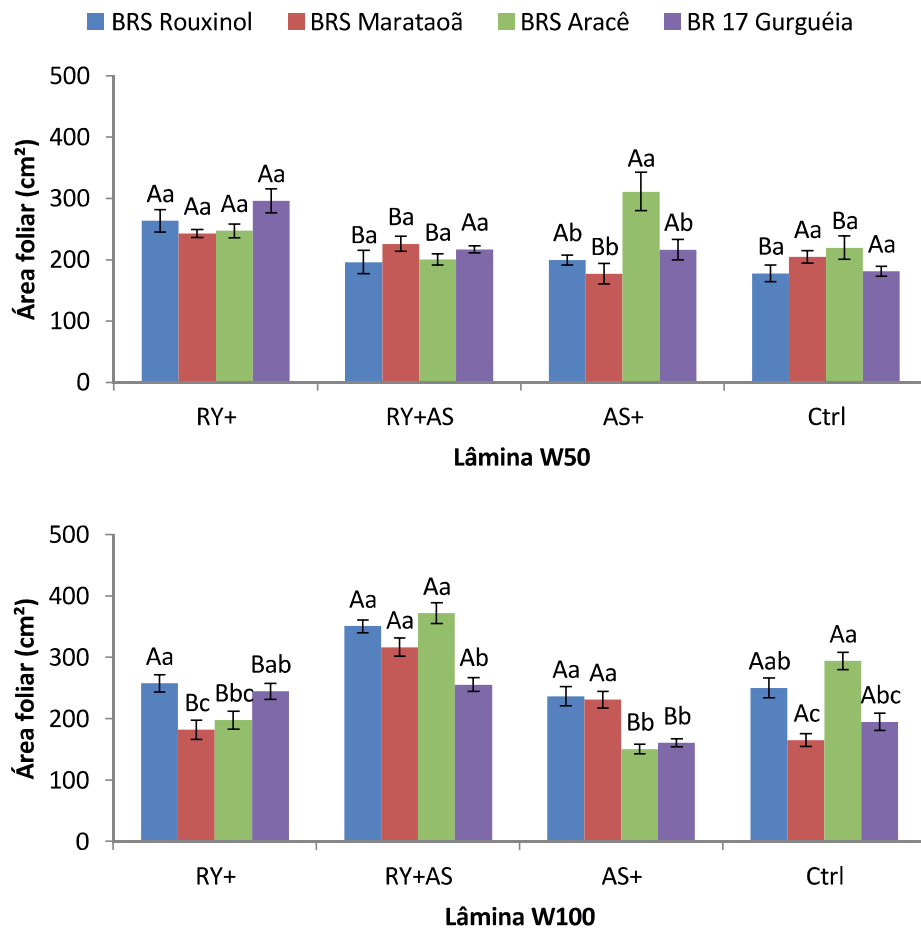
A ação do ácido salicílico no aumento da atividade antioxidante, além de melhorar a atuação de reguladores osmóticos (DUTRA et al., 2017), resulta em benefícios em outras variáveis das plantas, como por exemplo aumento na área foliar, número de folhas e altura das plantas. Tendo em vista também que as rizobactérias contribuem para um melhor aporte de nutrientes para as plantas, através da fixação biológica de nitrogênio fornece nitrito, é provável que a manutenção da TCA da altura em condições de déficit hídrico, observados nos diferentes genótipos do presente estudo, estejam relacionadas à ação conjunta do *Bradyrhizobium* no ambiente radicular coma aplicação foliar do AS, promovendo ganhos no crescimento das plantas.

### 4.3 Área foliar

Em condições de déficit hídrico (W50), observaram-se reduções de 40% e 33% da área foliar apenas dos genótipos BRS Rouxinol e BRS Aracê, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 7). Tanto o genótipo BRS Marataoã quanto o BR 17 Gurguéia não apresentaram diferenças significativas entre as lâminas de irrigação (Figura 7).

Com a inoculação do *Bradyrhizobium*, constatou-se um aumento na área foliar de todos os genótipos submetidos ao déficit hídrico, com exceção do BRS Rouxinol, comparados ao tratamento irrigado. A presença do RY no ambiente radicular, na lâmina W50, incrementou a área foliar em 60%, 25%, 21%, nos genótipos BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 7). Já a aplicação isolada do AS, em condições de déficit hídrico, aumentou a área foliar dos genótipos BRS Aracê e BR 17 Gurguéia em 106% e 34%, respectivamente, comparados ao tratamento irrigado (Figura 7). Em contrapartida, o genótipo BRS Marataoã submetido à lâmina W50 apresentou redução de 30% da área foliar, quando tratadas com AS e comparado ao tratamento W100 (Figura 7). Adicionalmente, após aplicação conjunta do RY com o AS, todos os genótipos sofreram reduções da área foliar, quando submetidos ao déficit hídrico (BRS Rouxinol – 78%; BRS Marataoã – 40%; BRS Aracê – 85%), com exceção do genótipo BR 17 Gurguéia que não obteve diferença significativa, quando comparados à lâmina irrigada (Figura 7).

**Figura 7.** Área foliar em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



Para o BRS Rouxinol, em condições de déficit hídrico, tanto as aplicações de RY+AS, como a de AS e RY de forma isolada, aumentaram a área foliar em 10,5%, 12% e 48%, respectivamente, comparado ao tratamento onde não houve aplicação de atenuadores (Figura 7). O genótipo BRS Marataoã aumentou em 10% a área foliar com a aplicação de RY+AS e 18% com aplicação do RY de forma isolada, na lâmina W50, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. As aplicações de AS e RY de forma isolada, aumentaram a área foliar em 41% e 12%, respectivamente, em BRS Aracê na condição de déficit hídrico, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. Já para o BR 17 Gurguéia, na condição de déficit hídrico, tanto a aplicação de RY+AS como a de RY e AS, isoladamente, aumentaram a área foliar em 19%, 63,5% e 19%, respectivamente, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 7).



A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento da área foliar principalmente no genótipo BR 17 Gurguéia (296,14 cm<sup>2</sup>), seguido de BRS Rouxinol (263,47 cm<sup>2</sup>), BRS Aracê (247,18 cm<sup>2</sup>) e BRS Marataoã (242,85 cm<sup>2</sup>). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento da área foliar principalmente em BRS Aracê (311,06 cm<sup>2</sup>), seguido de BR 17 Gurguéia (216,43 cm<sup>2</sup>), BRS Rouxinol (199,70 cm<sup>2</sup>) e BRS Marataoã (176,89 cm<sup>2</sup>). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da área foliar principalmente no genótipo BRS Marataoã (226 cm<sup>2</sup>), seguido do BR 17 Gurguéia (216,92 cm<sup>2</sup>), BRS Aracê (200,38 cm<sup>2</sup>) e BRS Rouxinol (196,28 cm<sup>2</sup>).

Naturalmente, em condições de seca, a planta sofre reduções da área foliar, o que repercute na biomassa vegetal, altura e diâmetro do caule (NAZAR et al., 2015), como observados nos genótipos BRS Rouxinol e BRS Aracê no presente estudo. Em estudo para identificar linhagens de feijoeiros tolerantes à seca, Gonçalves (2013) afirma que a redução da área foliar nas plantas sob déficit hídrico é uma estratégia para diminuir a transpiração e por consequência minimizar a perda de água. Contudo, este mecanismo não foi observado no presente estudo, pois as plantas de feijoeiro reduziram os seus potenciais hídricos em condições de estresse.

Em condições de déficit hídrico, a deficiência nutricional promovida pelo baixo fluxo de nutrientes, através dos vasos xilemáticos, causa prejuízos principalmente nos indicadores de crescimento de vegetais superiores. Com isso, a facilitação no aporte de nutrientes, além da melhor disponibilização de nitrogênio na forma de nitrito, mediados por rizobactérias que colonizam as raízes de plantas em condições de seca, contribuem para a manutenção e aumento também da área foliar, como observado no presente estudo (VURUKONDA et al., 2016).

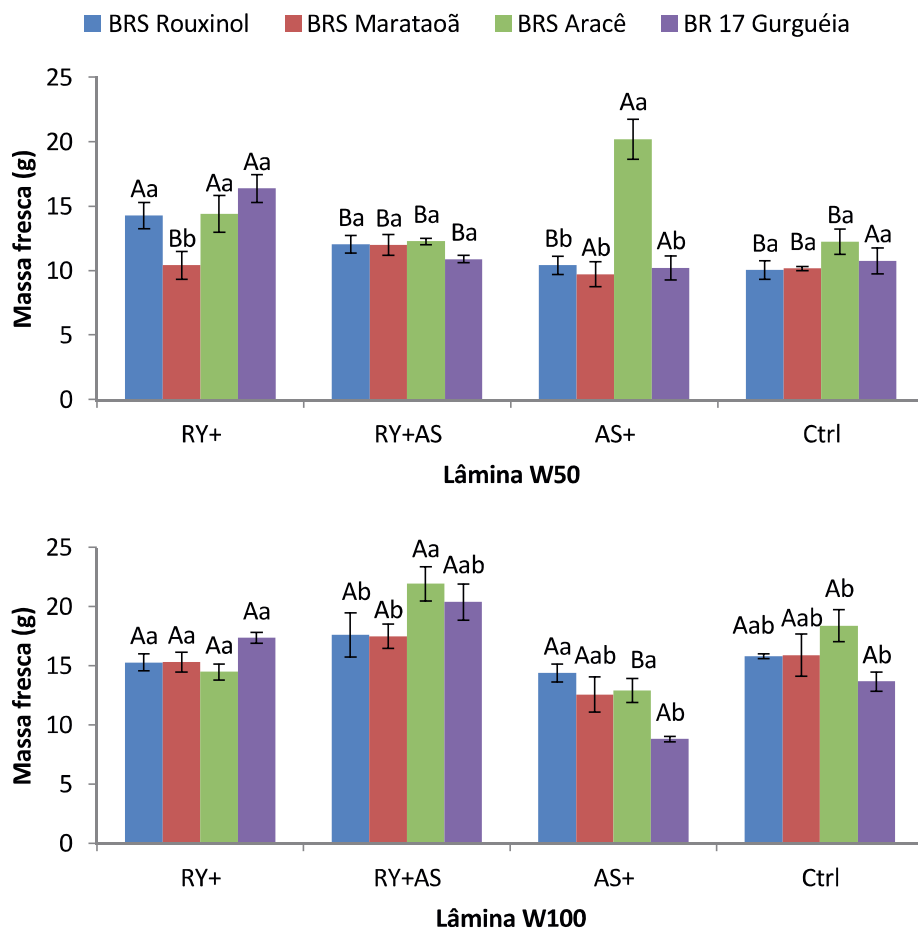
Nas plantas tratadas com AS, e que apresentaram aumentos na sua área foliar, é possível inferir que a ação benéfica deste hormônio aumenta a assimilação de carbono, sintetiza metabólitos e garante a manutenção do potencial hídrico dos tecidos, aumentando a capacidade fotossintética da planta, que resulta em expansão dos tecidos (KARLIDAG et al., 2009; FAROOQ et al., 2010). Em estudos com plantas de mostarda, sob condições de déficit hídrico, mas tratadas com ácido salicílico, observou-se que o AS alivia os efeitos adversos da seca, o que proporcionou aumento na área foliar dessas plantas e como consequência pode ter sido resultado do aumento da eficiência fotossintética (NAZAR et al., 2015).

#### **4.4 Massa fresca da parte aérea**

Em condições de déficit hídrico, verificaram-se reduções da massa fresca em todos os genótipos, com exceção do genótipo BR 17 Gurguéia, que não diferenciou-se estatisticamente

quando comparado à lâmina W100 (Figura 8). Na lâmina W50, a massa fresca foi reduzida em 57%, 56% e 50% nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BRS Aracê, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 8).

**Figura 8.** Massa fresca em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



Com a aplicação do *Bradyrhizobium*, apenas o genótipo BRS Marataoã apresentou reduções da massa fresca em 46%, comparado ao tratamento irrigado. Os demais genótipos mantiveram suas médias de massas frescas, mesmo após a submissão ao déficit hídrico (Figura 8). A aplicação isolada do AS, em condições de déficit hídrico, aumentou a massa fresca apenas do genótipo BRS Aracê em 56%, comparado ao tratamento irrigado (Figura 8). Em contrapartida, a aplicação do AS reduziu a massa fresca do genótipo BRS Rouxinol em 37%, comparado ao tratamento irrigado (Figura 8). A aplicação do AS garantiu que as massas frescas dos demais genótipos não fossem afetadas pelo déficit hídrico. Após a aplicação conjunta do RY

com o AS, observou-se que todos os genótipos sofreram reduções das massas frescas, quando submetidos ao déficit hídrico, a exemplo, os genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, os quais as reduções foram de aproximadamente 46%, 45%, 78% e 87%, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 8).

Em condições de déficit hídrico, tanto as aplicações de RY+AS como as aplicações de AS e RY de forma separada, aumentaram as massas frescas dos genótipos BRS Rouxinol (20%, 4% e 42%, respectivamente) e BRS Aracê (0,3%, 5% e 18%, respectivamente), comparados ao tratamento sem a aplicação de atenuadores (Figura 8). O genótipo BRS Marataoã aumentou em 18% a sua massa fresca com a aplicação de RY+AS e 2,5% com aplicação apenas do RY, na lâmina W50, comparados ao tratamento na ausência de atenuadores. Já para o BR 17 Gurguéia, na condição de déficit hídrico, apenas a aplicação do RY aumentou em 52% a massa fresca, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 8).

A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento da concentração de massa fresca principalmente no BR 17 Gurguéia (16,37 g), seguido de BRS Aracê (14,40 g), BRS Rouxinol (14,22 g) e BRS Marataoã (10,41 g). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento da massa fresca principalmente em BRS Aracê (20,20 g), seguido do BRS Rouxinol (10,40 g), BR 17 Gurguéia (10,22 g) e BRS Marataoã (9,71 g). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da massa fresca principalmente no genótipo BRS Aracê (12,27 g), seguido de BRS Rouxinol (12,02g), BRS Marataoã (11,98g) e BR 17 Gurguéia (10,22g) (Figura 8).

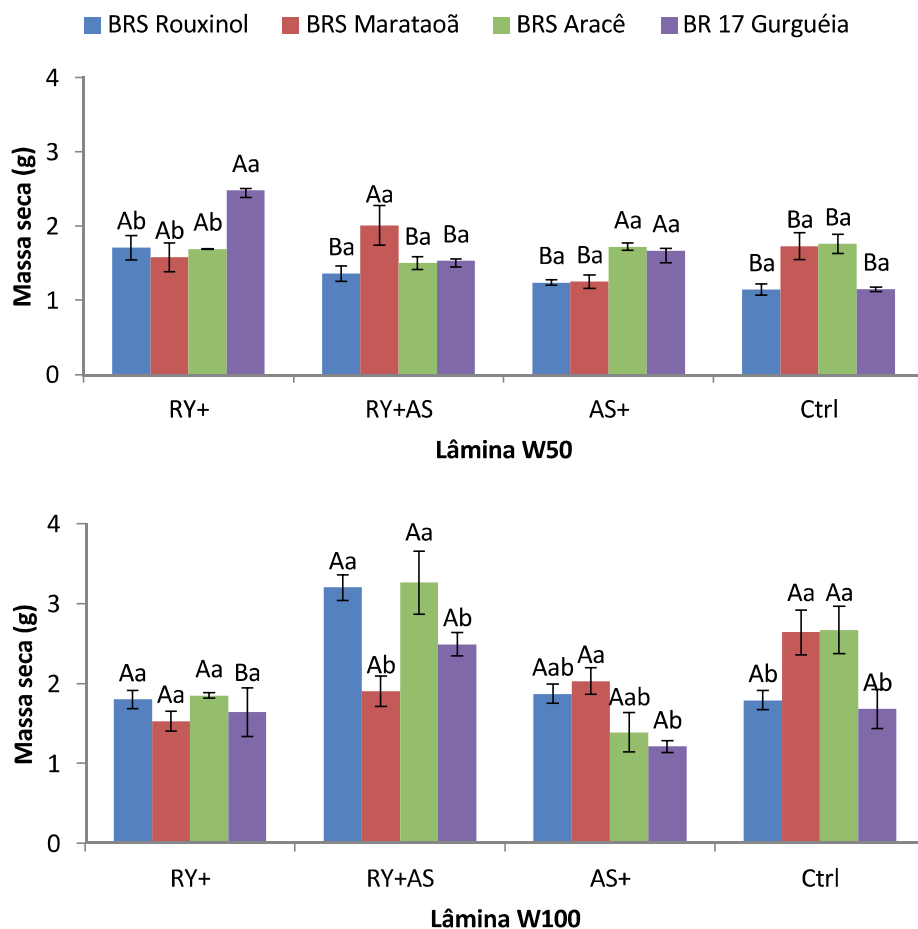
A perda do potencial hídrico celular, observada na maior parte dos genótipos submetidos ao déficit hídrico, no presente estudo, gerou nas células uma menor turgescência impedindo a divisão celular, o que retardou ou impediu o seu crescimento normal (CARVALHO et al., 2017). Contudo, a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio, em plantas submetidas ao déficit hídrico, favorece os processos fotossintéticos e reduz os efeitos negativos do estresse, principalmente devido ao fornecimento de nitrito à planta, o que intensifica o ganho de massa fresca (OLIVEIRA et al., 2017).

Plantas submetidas ao déficit hídrico normalmente apresentam redução no seu crescimento, contudo a presença de ácido salicílico tem efeito benéfico sobre as características de crescimento da planta, pois regula diversos processos fisiológicos como a fotossíntese, a condutância estomática, regula as funções das clorofilas (LIU et al., 2011) e melhoram a assimilação de carbono, o que garante a manutenção do potencial hídrico dos tecidos (FAROOQ et al., 2010).

#### 4.5 Massa seca da parte aérea

Quando avaliada a massa seca, em condições de déficit hídrico, observou-se redução desta variável em todos os genótipos. Na lâmina W50, a massa seca foi reduzida em 57%, 52%, 51% e 46% nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 9).

**Figura 9.** Massa seca em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



De forma contrária, a aplicação do *Bradyrhizobium* aumentou a massa seca apenas do genótipo BR 17 Gurguéia em 51%, comparado ao tratamento irrigado. Os demais genótipos mantiveram a sua massa seca, mesmo em condições de déficit hídrico (Figura 9). Após a aplicação do AS, em condições de déficit hídrico, apenas os genótipos BRS Rouxinol e BRS Marataoã tiveram suas massas secas reduzidas em 50% e 62%, respectivamente, comparados ao tratamento W100. Já na aplicação conjunta do RY com o AS, na lâmina W50, observou-se que

apenas o genótipo BRS Marataoã manteve sua produção de biomassa (Figura 9). Contrariamente, os genótipos BRS Rouxinol, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, apresentaram reduções da massa seca em 135%, 62% e 63%, respectivamente, comparados à lâmina W100.

Tanto a aplicação do tratamento RY+AS quanto do AS e RY de forma separada, em condições de déficit hídrico, aumentaram as massas secas dos genótipos BRS Rouxinol (19%, 9% e 50%, respectivamente) e BR 17 Gurguéia (33%, 45% e 115%, respectivamente), comparados ao tratamento sem a aplicação de atenuadores (Figura 9). O genótipo BRS Marataoã aumentou em 16% a sua massa seca com a aplicação de RY+AS, na lâmina W50, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 9).

A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento da massa seca principalmente no genótipo BR 17 Gurguéia (2,48 g), seguido de BRS Rouxinol (1,71 g), BRS Aracê (1,69 g) e BRS Marataoã (1,58 g). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento da massa seca principalmente em BRS Aracê (1,72 g), seguido do BR 17 Gurguéia (1,67 g), BRS Marataoã (1,25 g) e BRS Rouxinol (1,24 g). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da massa seca principalmente no BRS Marataoã (2,01 g), seguido de BR 17 Gurguéia (1,53 g), BRS Aracê (1,5 g) e BRS Rouxinol (1,36 g).

Em condições de deficiência hídrica, limitações e reduções no tamanho e no número das folhas, redução da expansão foliar, da altura das plantas e do diâmetro caulinar, levam à perda de biomassa vegetal (NAZAR et al., 2015). Contudo, para mitigar os efeitos da restrição hídrica sob a produção de biomassa vegetal, a inoculação com *Bradyrhizobium* no ambiente radicular favorece a interação mutualística entre as bactérias e a planta, onde a bactéria fornece nutrientes para planta e as plantas favorecem os produtos das suas reações bioquímicas, o que influencia em seu crescimento (VURUKONDA et al., 2016).

Em condições de déficit hídrico a aplicação de ácido salicílico pode aumentar significativamente o acúmulo de massa seca das plantas (NAZAR et al., 2015). Yao et al. (2016) observaram que sob restrições hídricas a aplicação exógena de ácido salicílico promove aumento significativo na massa seca de *Gardenia jasminoides*.

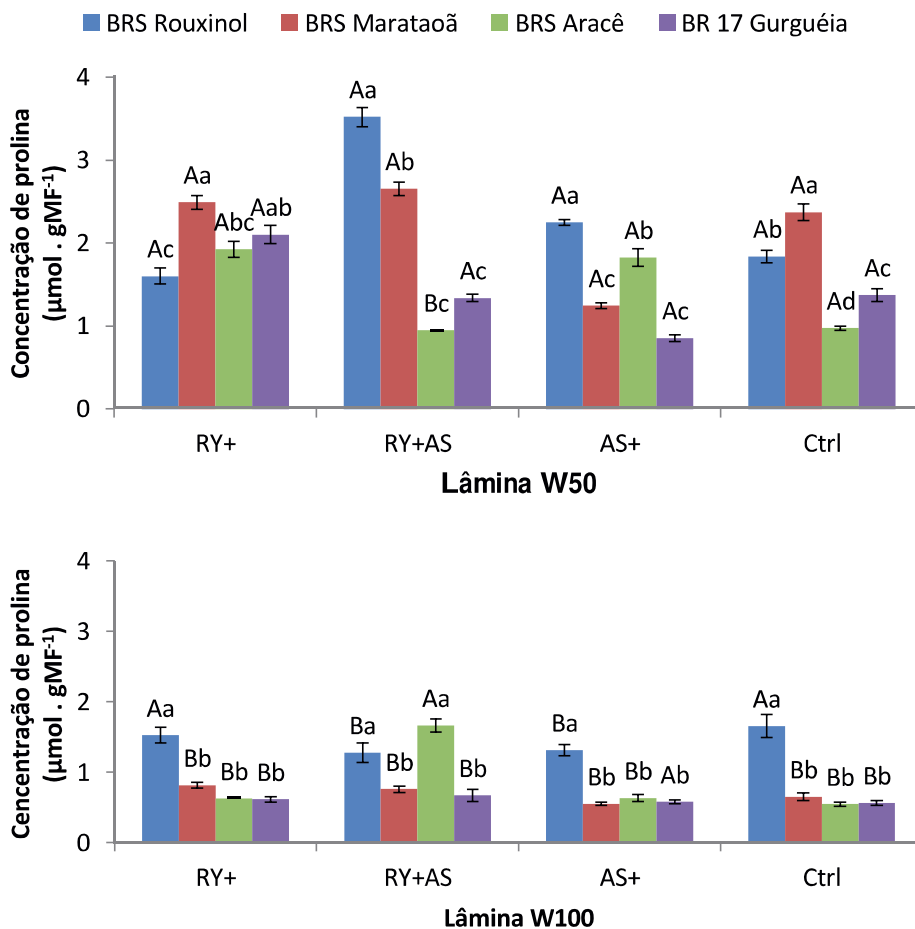
#### 4.6 Quantificação de prolina livre

Em condições de restrição hídrica no solo, as plantas apresentam um processo denominado ajustamento osmótico, promovido pelo acúmulo de osmólitos compatíveis a nível de citoplasma (OLIVEIRA NETO et al., 2016). O ajuste osmótico diminui o potencial hídrico da planta e, conseqüentemente, há manutenção da turgescência por meio da absorção de água do

solo; além disso estes osmólitos, a exemplo da prolina, podem atuar na proteção de estruturas celulares e estímulo do crescimento radicular (GONZALEZ et al., 2010).

Em condições de déficit hídrico, observou-se aumento nos níveis de prolina em todos os genótipos, com exceção do BRS Rouxinol. Na lâmina W50, as concentrações de prolina aumentaram em 264%, 80% e 144% nos genótipos BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 10).

**Figura 10.** Concentração de prolina em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



De forma semelhante, a inoculação do *Bradyrhizobium*, aumentou a concentração de prolina em todos os genótipos submetidos ao déficit hídrico, com exceção do BRS Rouxinol, comparado ao tratamento irrigado. A presença do *Bradyrhizobium* no ambiente radicular, na lâmina W50, incrementou as concentrações de prolina em 204%, 209%, 244%, nos genótipos BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100

(Figura 10). Já com a aplicação do AS, em condições de déficit hídrico, identificou-se aumentos nos níveis de prolina em todos os genótipos, com exceção do BR 17 Gurguéia, comparados ao tratamento irrigado. A aplicação do AS aumentou os níveis de prolina em 71%, 125% e 188%, nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BRS Aracê, respectivamente, comparados ao tratamento irrigado (Figura 10).

Adicionalmente, a associação da inoculação do RY com a aplicação foliar do AS, na lâmina W50, promoveu um incremento de 177%, 248% e 98% nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BR 17 Gurguéia, comparados à lâmina W100. De forma contrária, o tratamento RY+AS reduziu em 75% a concentração de prolina em BRS Aracê (Figura 10).

Para o BRS Rouxinol, em condições de déficit hídrico, as aplicações de RY+AS e do AS separadamente, aumentaram os níveis de PRO em 92% e 22%, respectivamente, comparado ao mesmo genótipo, na lâmina W50, sem a aplicação de atenuadores. O genótipo BRS Marataoã aumentou em 11% o nível de PRO com a aplicação de RY+AS, na lâmina W50, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. A aplicação de RY e de AS, de forma separada, aumentaram os níveis de PRO em 98% e 87%, respectivamente, em BRS Aracê na condição de déficit hídrico, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. Já para o BR 17 Gurguéia, na condição de déficit hídrico, apenas a aplicação do RY aumentou em 53% os níveis de PRO, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 10).

A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento da concentração de prolina principalmente no BRS Marataoã ( $2,4 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ), seguidos do BR 17 Gurguéia ( $2,1 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ), BRS Aracê ( $1,92 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ) e BRS Rouxinol ( $1,60 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento na concentração de prolina principalmente em BRS Rouxinol ( $2,24 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ), seguido do BRS Aracê ( $1,82 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ), BRS Marataoã ( $1,24 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ) e BR 17 Gurguéia ( $0,85 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento de prolina principalmente no BRS Rouxinol ( $3,52 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ), seguido do BRS Marataoã ( $2,65 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ), BR 17 Gurguéia ( $1,33 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ) e BRS Aracê ( $0,94 \mu\text{mol.gMF}^{-1}$ ) (Figura 10).

O aumento de prolina, em condições de déficit hídrico, pode estar relacionado a uma tentativa de regulação osmótica, aumentando a capacidade da planta de extrair água do solo, de proteger a integridade celular, ou ainda, a sua participação na constituição de estoque de nitrogênio e carbono, utilizados no período de estresse (ULLAH et al., 2017).

Assim como no presente estudo, o favorecimento do aumento nos níveis de prolina, promovido pela ação da inoculação do *Bradyrhizobium*, também foi identificado por Hungria (2011) em plantas inoculadas com o gênero *Rhizobium* e submetidas ao déficit hídrico. No

referido estudo, foram identificadas melhorias no potencial hídrico, no crescimento da parte aérea, na produção de biomassa e no maior aporte de água no apoplasto. Pozzi Tay (2017) observou que as plantas inoculadas com rizobactérias apresentaram maiores níveis de prolina quando submetidas ao déficit hídrico, e que esse acréscimo pode estar relacionado à disponibilidade de nutrientes para planta, através de uma melhoria no processo de fixação biológica do nitrogênio. Além do processo de fixação biológica de nitrogênio, rizobactérias podem auxiliar o desenvolvimento de plantas por outros mecanismos, como a solubilização de fosfatos pela liberação de ácidos orgânicos (MOREIRA et al., 2010).

Já a aplicação exógena de AS aumenta o teor de prolina, o que também contribui para o aumento da atividade antioxidante em algumas espécies, revelando o possível papel regulador do referido ácido em níveis transcricionais e/ou traducionais (GHASEMZADEH e JAAFAR, 2013). Adicionalmente, Hussain et al. (2008), em estudos com plantas de girassol, observaram que plantas submetidas ao déficit hídrico aumentam os níveis de prolina em suas folhas e que a aplicação de ácido salicílico aumentam os níveis de prolina como mecanismo de defesa ao estresse, além de aumentar a eficiência fotossintética em condições de déficit hídrico.

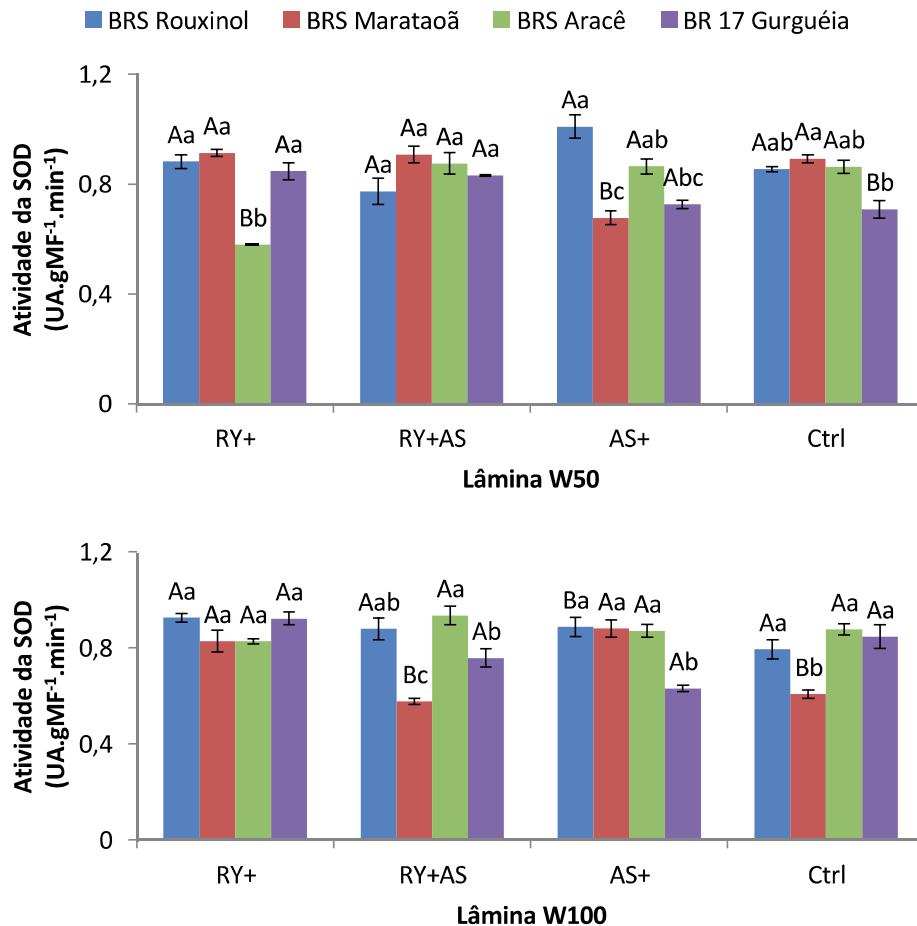
A atuação do ácido salicílico na parte aérea, induzindo um incremento do aminoácido prolina (FAROOQ, 2009), bem como a atividade do *Bradyrhizobium* nas raízes das plantas, disponibilizando nitrogênio para a síntese de aminoácidos na planta (TAIRO, 2017), sugerem a ação conjunta dos atenuadores na mitigação dos efeitos dos danos causados pelo déficit hídrico.

#### **4.7 Atividade da superóxido dismutase**

Em condições de déficit hídrico, observou-se aumento na atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) apenas para o genótipo BRS Marataoã (47%), comparado ao tratamento irrigado (Figura 11). Contrariamente, o genótipo BR 17 Gurguéia apresentou redução de 19% na atividade da SOD em condições de déficit hídrico, comparado ao tratamento irrigado (Figura 11). Os demais genótipos não apresentaram diferenças representativas nos tratamentos avaliados.



**Figura 11.** Atividade da superóxido desmutase em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



Com a inoculação do *Bradyrhizobium*, verificou-se redução na atividade da enzima SOD apenas para o genótipo BRS Aracê (43%), comparado ao tratamento irrigado. Nos demais genótipos, a aplicação do RY não causou alterações na atividade da SOD das plantas submetidas à lâmina W50, comparado à lâmina W100 (figura 11). Já a aplicação do AS, em condições de déficit hídrico, aumentou a atividade da enzima SOD do genótipo BRS Rouxinol em 13% e reduziu a atividade da SOD em 31% no genótipo BRS Marataoã, comparados aos seus respectivos tratamentos irrigados (Figura 11). Os demais genótipos não apresentaram diferenças significativas com a aplicação do AS em condições de déficit hídrico. Quando realizada a aplicação conjunta do RY com o AS, na lâmina W50, observou-se um incremento de 57%, apenas no genótipo BRS Marataoã, comparado à lâmina W100 (Figura 11). Os demais genótipos não apresentaram diferenças significativas na atividade da SOD em condições de déficit hídrico.

Para o genótipo BRS Rouxinol, em condições de déficit hídrico, as aplicações de RY e do AS de forma isolada, aumentaram a atividade da SOD em 3% e 18%, respectivamente, comparado ao tratamento sem a aplicação de atenuadores (Figura 11). O genótipo BRS Marataoã aumentou em 2% a atividade de SOD com a aplicação de RY+AS e 2,5% com aplicação apenas de RY, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. A aplicação de RY+AS e de AS de forma separada, aumentaram a atividade da SOD em 17% e 2,6%, respectivamente, no genótipo BR 17 Gurguéia, na condição de déficit hídrico, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 11).

A aplicação do RY, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da atividade de SOD principalmente no genótipo BRS Marataoã ( $0,914 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido do BRS Rouxinol ( $0,882 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BR 17 Gurguéia ( $0,847 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BRS Aracê ( $0,578 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento na atividade de SOD principalmente em BRS Rouxinol ( $1,01 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido de BRS Aracê ( $0,864 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BR 17 Gurguéia ( $0,726 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BRS Marataoã ( $0,677 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da atividade de SOD principalmente no genótipo BRS Marataoã ( $0,908 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido de BRS Aracê ( $0,875 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BR 17 Gurguéia ( $0,832 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BRS Rouxinol ( $0,774 \text{ UA.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

A regulação positiva da SOD está relacionada com o combate do estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico, tendo um papel crítico na sobrevivência das plantas em ambientes com maiores limitações de água. O aumento da atividade da SOD, observado nas lâminas sob restrição hídrica, provavelmente foi responsável pela minimização dos efeitos deletérios do radical superóxido sobre as estruturas celulares, o que pode permitir uma maior tolerância das cultivares à deficiência hídrica (DUTRA et al., 2017).

O aumento na atividade da SOD, promovido pela inoculação de rizobactérias no ambiente radicular, é uma importante ferramenta na manutenção da desintoxicação da planta através da quebra das EROs, um incremento dessa enzima resulta em melhoras na fotossíntese podendo promover melhoras no desenvolvimento do vegetal (GUSAIN et al., 2015). Em estudos realizados com amendoim, submetidos à deficiência hídrica, o aumento das atividades enzimáticas da SOD e APX ocorreram após inoculação da estirpe ESA 123 do *Bradyrhizobium*, assim como no presente estudo após a inoculação da estirpe ESA 17 (BRITO et al., 2016).

Em nível fisiológico, a aplicação exógena de ácido salicílico também tem sido utilizada para melhorar a atividade das enzimas antioxidantes (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014), sendo efetiva no aumento da atividade da SOD em plantas de tomate sob deficiência hídrica

(HAYAT et al., 2008). O AS pode levar ao aumento de compostos fenólicos nas plantas, como por exemplo, enzimas antioxidantes e compostos defensivos à base de proteínas (WAR et al., 2011). Ghasemzadeh e Jaafar (2013) observaram um aumento na atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e POD) em plantas de gengibre, com a aplicação exógena de ácido salicílico, levando a uma redução dos efeitos do déficit hídrico nessas plantas.

No presente estudo, tanto a atuação do RY nas raízes das plantas, que influenciam positivamente na atividade da SOD (VURUKONDA et al. 2016), como a aplicação do AS via foliar, atuando como importante enzima na defesa contra os efeitos do déficit hídrico, atuando diretamente na remoção das EROs (ASKARI, et al. 2015), sugerem que a combinação desses dois atenuadores, atuam de forma conjunta no aumento da atividade da SOD, mitigando os efeitos de déficit hídrico em plantas de feijoeiro, principalmente na remoção de EROs.

#### **4.8 Atividade da ascorbato peroxidase**

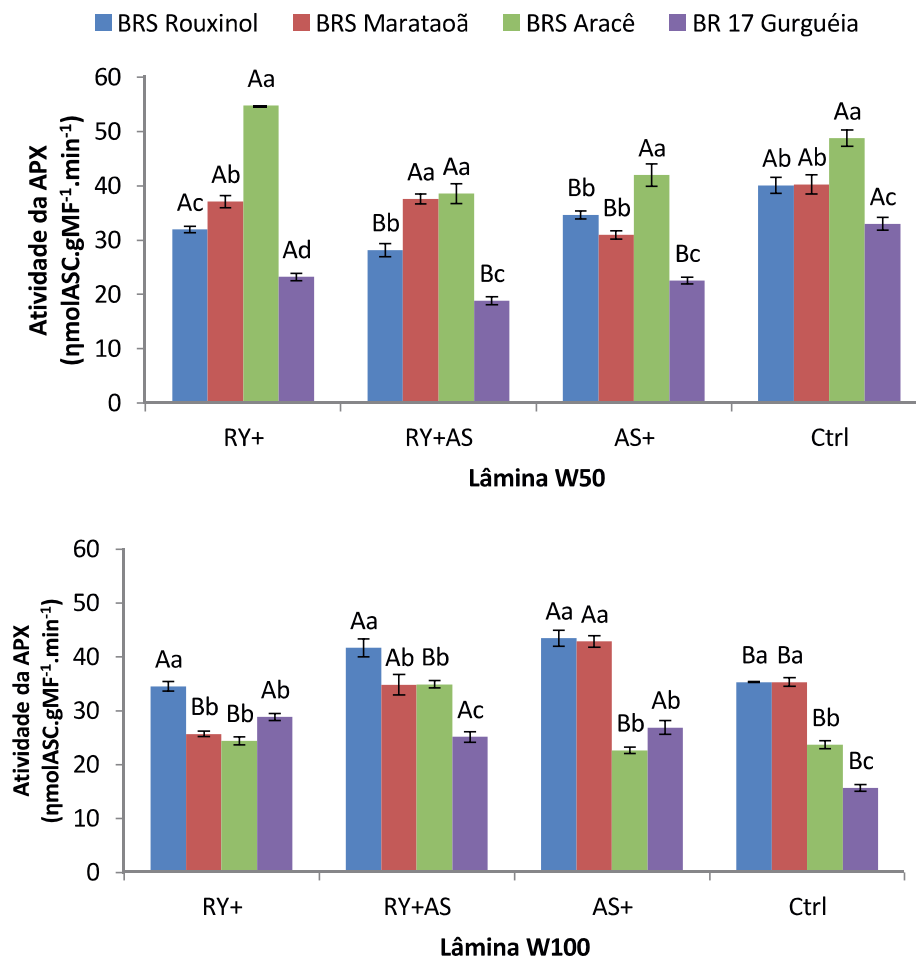
Em condições de déficit hídrico, observou-se aumento na atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX) em todos os genótipos. Na lâmina W50, atividade da APX aumentou em 13%, 14%, 106% e 110% nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 12).

Com a inoculação do *Bradyrhizobium*, nas plantas submetidas à lâmina W50, verificou-se aumentos na atividade da enzima APX nos genótipos BRS Marataoã (44%) e BRS Aracê (124%), comparados ao tratamento irrigado (Figura 12). Já a aplicação do AS, em condições de déficit hídrico, aumentou a atividade da enzima APX do genótipo BRS Aracê em 85% e reduziu a atividade da mesma enzima em 25%, 38% e 19%, nos genótipos BRS Rouxinol, BRS Marataoã e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados ao tratamento irrigado (Figura 12). Ainda, o tratamento com a associação do RY com o AS, na lâmina W50, promoveu um incremento de 7% e 10% nos genótipos BRS Marataoã e BRS Aracê e reduziu em 47% e 33% a atividade de APX em BRS Rouxinol e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 12).

Para o genótipo BRS Rouxinol, sob déficit hídrico, a aplicação dos atenuadores RY+AS, RY e AS aplicados de forma isolada, reduziram a atividade da APX em 42%, 25% e 15%, respectivamente, comparados ao tratamento controle. O genótipo BRS Marataoã, na lâmina W50, apresentou reduções na atividade da APX em 7%, 8% e 30%, nos tratamentos RY+AS, RY e AS, aplicados de forma isolada, respectivamente. Já no genótipo BR 17 Gurguéia, em condições de déficit hídrico, as reduções na atividade da enzima APX, para os tratamentos RY+AS, RY e AS aplicados isoladamente, foram de 75%, 42% e 46%, respectivamente,

comparados ao tratamento controle (Figura 12). Em condições de déficit hídrico, apenas o genótipo BRS Aracê tratado com a inoculação de *Bradyrhizobium*, obteve aumento da atividade de APX (12%), enquanto que a aplicação do AS e da associação do RY+AS reduziram a atividade da APX em 16% e 26%, respectivamente, em comparação ao tratamento controle, sem a aplicação de atenuadores. Adicionalmente, para os demais genótipos, as aplicações dos atenuadores reduziram a atividade da enzima APX (Figura 12).

**Figura 12.** Atividade da ascorbato peroxidase em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as laminas de irrigação.



A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento da atividade de APX principalmente em BRS Aracê ( $54,76 \eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido de BRS Marataoã ( $37,10 \eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BRS Rouxinol ( $31,94 \eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BR 17 Gurguéia ( $23,22 \eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento na

atividade de APX principalmente em BRS Aracê (41,96  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido do BRS Rouxinol (34,65  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BRS Marataoã (30,97  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BR 17 Gurguéia (22,55  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da atividade de APX principalmente no BRS Aracê (38,55  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido do BRS Marataoã (37,56  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BRS Rouxinol (28,17  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BR 17 Gurguéia (18,84  $\eta\text{molASC.gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

A enzima ascorbato peroxidase (APX) é um componente central do ciclo ascorbato-glutationa com papel essencial no controle intracelular do nível de EROs (SHARMA et al., 2012). Uma maior atividade de APX em plantas expostas as diferentes condições de estresse, pode ser um importante mecanismo de controle da supergeração de EROs (GILL e TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

A ação benéfica da inoculação de rizobactérias no aumento de enzimas antioxidantes foi constatado por Vurukonda et al. (2016) avaliando plantas de trigo em condições de deficiência hídrica. Tal aumento proporcionou às plantas uma redução nas espécies reativas de oxigênio (EROs) provocando uma indução à tolerância ao estresse hídrico nessas plantas. Da mesma forma, Gusain et al. (2015), estudando plantas de arroz inoculadas com rizobactérias, afirmaram que há um incremento na atividade enzimática da APX nas plantas submetidas ao déficit hídrico, proporcionado pelas bactérias, que reduziram a quantidade de peróxido de hidrogênio nos tecidos vegetais e diminuiu os efeitos negativos da seca.

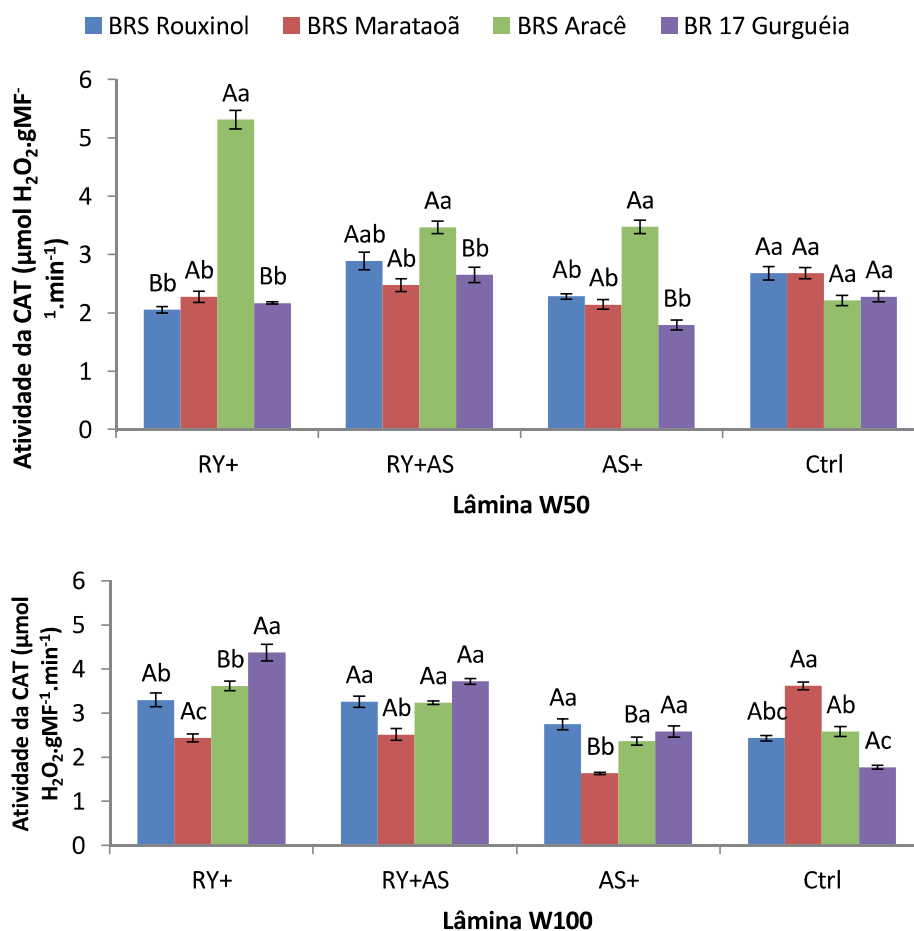
Já a indução da tolerância ao déficit hídrico, através do incremento das enzimas antioxidantes pelo AS, pode estar relacionada à regulação sobre a expressão de genes que codificam essas enzimas como, por exemplo, a SOD, CAT e APX (KANG et al., 2014). A atuação do mecanismo molecular do AS sugere que o referido ácido é responsável também pelo aumento nas concentrações de EROs nos primeiros dias de estresse, ativando assim mecanismo de desintoxicação celular, conferindo tolerância ao estresse (HORVÁTH et al., 2007). Em estudos com plantas de milho sob condições de déficit hídrico, Saruhan et al. (2012) observaram que nas plantas tratadas com AS a atividade das enzimas antioxidantes SOD e APX foram aumentadas, principalmente em plantas mais sensíveis ao déficit hídrico.

O aumento da atividade da APX, observado no tratamento RY+AS, apenas no genótipo BRS Aracê, provavelmente ocorreu devido a ação positiva do AS via foliar combinado à contribuição pela assimilação de nutrientes disponibilizados pelo *Bradyrhizobium* no ambiente radicular, que também atuou no incremento da atividade desta enzima, contribuindo assim para o incremento nas taxas da atividade da APX, quando combinados os dois fatores em condições de déficit hídrico.

#### 4.9 Atividade da Catalase

Em condições de déficit hídrico e na ausência da aplicação de atenuadores, não foram observadas variações na atividade da enzima Catalase (CAT), em nenhum dos genótipos avaliados, quando comparados ao grupo irrigado (Figura 13). Da mesma forma, a associação da inoculação do RY com a aplicação foliar do AS, na lâmina W50, também não apresentou diferenças significativas em nenhum dos genótipos avaliados, quando comparados à lâmina W100 (Figura 13).

**Figura 13.** Atividade da catalase em diferentes cultivares de feijão-caupi submetidos ao déficit hídrico, após a aplicação do AS e inoculação do *Bradyrhizobium*. AS+: com aplicação de ácido salicílico; RY+: com inoculação de *Bradyrhizobium*; RY+AS: com aplicação de ácido salicílico e inoculadas com *Bradyrhizobium*; W100: lâmina com 100% da reposição hídrica; W50: lâmina com 50% da reposição hídrica. Barras com mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si. Letras minúsculas comparam os genótipos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas comparam as lâminas de irrigação.



Contudo, a inoculação do *Bradyrhizobium*, de forma isolada, aumentou a atividade da enzima CAT apenas para o genótipo BRS Aracê em 47%, mas reduziu a atividade dessa mesma

enzima em 60% e 101%, nos genótipos BRS Rouxinol e BR 17 Gurguéia, respectivamente, comparados à lâmina W100 (Figura 13). Adicionalmente, a aplicação do AS, em condições de déficit hídrico, aumentou 47% a atividade da enzima CAT no genótipo BRS Aracê e em 31% a atividade da mesma enzima no genótipo BRS Marataoã e reduziu a atividade da CAT em 44% no genótipo BR 17 Gurguéia, comparados aos seus respectivos tratamentos irrigados (Figura 13).

Para o genótipo BRS Rouxinol, em condições de déficit hídrico, as aplicações de RY+AS, aumentou a atividade da CAT em 8%, comparado ao mesmo genótipo, sem a aplicação de atenuadores. O genótipo BRS Aracê aumentou em 140% a atividade de CAT com a aplicação apenas de RY, 57% com aplicação apenas de AS e 57% com aplicação de RY+AS, na lâmina W50, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores. A aplicação de RY+AS, aumentou a atividade de CAT em 16%, no genótipo BR 17 Gurguéia na condição de déficit hídrico, comparado ao tratamento na ausência de atenuadores (Figura 13).

A aplicação do RY em condições de déficit hídrico favoreceu o aumento da atividade de CAT principalmente no genótipo BRS Aracê ( $5,3 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguidos de BRS Marataoã ( $2,27 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BR 17 Gurguéia ( $2,17 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BRS Rouxinol ( $2,05 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Na lâmina W50, a aplicação do AS favoreceu o aumento na atividade de CAT principalmente em BRS Aracê ( $3,47 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido de BRS Rouxinol ( $2,28 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BRS Marataoã ( $2,14 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BR 17 Gurguéia ( $1,79 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Já a aplicação do RY, associado ao AS, em condições de déficit hídrico, favoreceu o aumento da atividade de CAT principalmente no genótipo BRS Aracê ( $3,46 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), seguido de BRS Rouxinol ( $2,89 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), BR 17 Gurguéia ( $2,65 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) e BRS Marataoã ( $2,47 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{gMF}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

Apesar de não haver diferença significativa na atividade da catalase, tanto na ausência dos atenuadores quanto na presença do tratamento RY+AS, estresses abióticos podem aumentar ou diminuir a atividade desta enzima nas plantas, sendo o seu desempenho dependente da intensidade, duração e do tipo de estresse (SHARMA et al., 2012). Em estudos com o feijão-caupi, condicionado à deficiência hídrica no solo, Silva (2014) observou um aumento da atividade da CAT nas folhas à medida que se intensificou o estresse, sendo esta atividade reduzida com a reidratação das plantas. Já Baloğlu et al. (2012), estudando plantas de girassol submetidas a diferentes potenciais osmóticos, observaram um acréscimo da atividade da CAT em função do aumento da restrição hídrica. O oposto foi verificado por Sharma e Dubey (2005) em plântulas de arroz e por He et al. (2014) em *Arabidopsis thaliana*, onde a atividade da CAT foi reduzida com o aumento da restrição hídrica.

A baixa atividade das enzimas, observadas no presente estudo, pode estar relacionada ao aumento do teor de prolina, pois o referido aminoácido pode atuar na mitigação do déficit hídrico por auxiliar na manutenção dos processos fotossintéticos e respiratórios, reduzindo a produção de EROs, o que justificaria em parte a redução na atividade desta peroxidase (SHARMA et al., 2012). Tal diminuição na atividade da CAT pode ser consequência da sua inativação pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> acumulado, induzida pela escassez de água, como também pode ser parcialmente explicada pela fotoinativação da enzima (HASANUZZAMAN e FUJITA, 2011).

A ação eliciadora da inoculação de rizobactérias, na mitigação dos efeitos do déficit hídrico, por meio do aumento da atividade da catalase, foi comprovada por Vurukonda et al. (2015) e Gusain et al. (2015), estudando plantas de trigo e arroz, respectivamente. Nos referidos estudos o aumento da atividade da catalase promoveu melhorias nas taxas fotossintéticas e consequentemente aumentou a produção das plantas.

A melhoria proporcionada pelo ácido salicílico, na atividade da CAT, pode ser um indicativo do papel crucial do referido ácido na proteção celular, por meio da regulação das enzimas antioxidantes (HAYAT et al., 2010; KANG et al., 2014). Askari et al. (2015), estudando a aplicação de AS via foliar, em plantas de erva-doce submetidas ao déficit hídrico, observaram aumento na atividade da CAT em plantas tratadas com o ácido salicílico. Em estudos com planta de gergelim, Silva et al. 2017, observaram que o AS pode promover acréscimo na atividade da CAT em determinados níveis de estresse.

Tendo em vista que tanto a aplicação foliar do ácido salicílico quanto a inoculação por *Bradyrhizobium* no ambiente radicular auxiliam nos processos de adaptação às condições de estresse, seja por modificação na fisiologia ou metabolismo bioquímico, é possível que a baixa atividade da catalase no presente estudo tenha ocorrido pela baixa produção de EROs.



## 5. CONCLUSÕES

A aplicação do *Bradyrhizobium* junto ao ácido salicílico promoveu a manutenção do status hídrico dos genótipos BRS Marataoã, BRS Aracê e BR 17 Gurguéia em condições de déficit hídrico. Já a inoculação do *Bradyrhizobium* de forma isolada favoreceu a manutenção do status hídrico na cultivar BRS Aracê, enquanto que o ácido salicílico de forma isolada promoveu a manutenção do status hídrico nas cultivares BRS Marataoã e BRS Aracê.

A inoculação do *Bradyrhizobium* com a aplicação de ácido salicílico, em condições de déficit hídrico, garantiu a manutenção principalmente da taxa de crescimento absoluto das cultivares BRS Marataoã e BR 17 Gurguéia, além da área foliar para o BR 17 Gurguéia e da MS para o BRS Marataoã, através dos aumentos na concentração de prolina para ambos e da atividade da Superóxido Dismutase apenas para BRS Marataoã.

A inoculação do *Bradyrhizobium* favoreceu a manutenção principalmente da taxa de crescimento absoluto, área foliar e massa seca das cultivares BRS Marataoã e BRS Aracê, em condições de déficit hídrico, por meio do aumento de prolina e da atividade da ascorbato peroxidase em ambos, além do aumento da atividade da catalase na cultivar BRS Aracê. Ainda, a inoculação promoveu o aumento da maioria dos parâmetros de crescimento na cultivar BR 17 Gurguéia, pelo aumento nos níveis de prolina.

A aplicação de ácido salicílico, em condições de déficit hídrico, garantiu a manutenção da maioria dos parâmetros de crescimento em todas as cultivares avaliadas. Participaram do processo de mitigação dos efeitos do déficit hídrico, na cultivar BRS Rouxinol, a prolina e a superóxido dismutase; em BRS Marataoã, a prolina e a catalase; e em BRS Aracê, a prolina, a ascorbato peroxidase e a catalase.

## REFERENCIAS

ANGELOCCI, L. R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico. **Piracicaba: Edição do autor**. 272 p. 2002.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, n.2, p.206-216, 2007.

ASKARI, E., & EHSANZADEH, P. Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. **Acta physiologiae plantarum**, v. 37, n.4, 2015.

AZEVEDO BM; BASTOS FGC; VIANA TVA; RÊGO JL; ÁVILA JHT. Efeitos de níveis de irrigação na cultura da melancia. **Revista Ciência Agronômica**, v.36 p.9-15, 2005.

BALOĞLU, M. C.; KAVAS, M.; AYDIN, G.; ÖKTEM, H. A.; YÜCEL, A. M. Antioxidative and physiological responses of two sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars under PEGmediated drought stress. **Turkish Journal of Agriculture & Forestry**, v.36, n.6, p.707-714, 2012.

BANKOLE, A. E., UMEBESE, C. E., FEYISOLA, R. T., & BAMISE, T. O. Influence of salicylic acid on the growth of lettuce (*Lactuca sativa var longifolia*) during reduced leaf water potential. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v.22, n4, p.543-540. 2018.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciências Agrárias**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARROS, A. H. C.; VAREJÃO-SILVA, M. A.; TABOSA, J. N. Aptidão climática do Estado de Alagoas para culturas agrícolas. Relatório Técnico. Convênios SEAGRI-AL/Embrapa Solos n.10200.04/0126-6 e 10200.09/0134-5. Recife: Embrapa Solos, 2012. 86p

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and soil**, v.39, p.205-207, 1973.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase – improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, n.1, p.276-287, 1971.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. Análises químicas e bioquímicas em plantas. Recife: UFRPE, 267 p. 2011

BRITO, S. L.; BARBOSA, D.D.; LIMA; L.M. de; FERNANDES-JÚNIOR, P.V. Atividade antioxidante em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* e submetidos a estresse hídrico. In: Embrapa Semiárido-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 21, 2016, Recife. **Anais**. Ribeirão Preto: SBG; Recife: UFPE: UFRPE: UPE, 2016.

CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1006-1013, 2009.

CARVALHO, M.; LINO- NETO, T.; ROSA, E.; CARNIDE, V. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.97: p.4273–4284, 2017.

CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In: VIEIRA C., PAULA JUNIOR, T. J.; **BORÉM, A. (Ed.). Feijão. 2 ed. Atual**. Viçosa-MG: UFV, p. 143-170. 2006.

CAVALCANTE, L. F.; CAVALCANTE, I. H. L.; HU, Y.; BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z. Water salinity and initial development of four guava (*Psidium guajava* L.) cultivar in north-eastern Brazil. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, Skierniewice, v. 15, p. 71-80, 2007.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos, V. 7 - SAFRA 2017/18 - N.7 - Setimo levantamento |, Brasília-DF, 139p. ABRIL 2018.

CUSTÓDIO, C. C.; SALOMÃO, G. R.; MACHADO NETO, N. B. Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas a diferentes soluções osmóticas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 4, p. 617-623, 2009.

DIDONET, A. D.; VITÓRIA, T. B. Resposta do feijoeiro comum ao estresse térmico aplicado em diferentes estágios fenológicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.36, p.199- 204, 2006.

DUTRA, WELLISON FILGUEIRAS; SOARES DE MELO, ALBERTO ; SUASSUNA, JANIVAN FERNANDES ; Dutra, Alexson Filgueiras ; CHAGAS DA SILVA, DUVAL ; MAIA, JOSEMIR MOURA . Antioxidative Responses of Cowpea Cultivars to Water Deficit and Salicylic Acid Treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, p. 895-905, 2017.

DUTRA, A. S.; TEÓFILO, E. M. Envelhecimento acelerado para avaliar o vigor de sementes de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 193-197, 2007.

ENDRES, L.; SOUZA, J. L.; TEODORO, L.; MARROQUIM, P. M. G.; SANTOS, C. M.; BRITO, J. E. D. Gas exchange alteration caused by water deficit during the bean reproductive stage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.11- 16, 2010.

FANG, Y., XIONG, L., General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.72, n.4, p. 673-689, 2015.

FAROOQ, M., BASRA, S. M. A., WAHID, A., AHMAD, N., & SALEEM, B. A.. Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.195, n.4, p.237-246, 2009.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; LEE, D. J.; CHEEMA, S. A.; AZIZ, T. Drought stress: comparative time course action of the foliar applied glycinebetaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.196, n.5, p. 336-345, 2010.

FAYEZ, K. A.; BAIZAD, S. A. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v.13, n.1, p.45-55, 2014.

FROTA, K. M. G. MANÓLIO, R.A. GOMES, J.A. Composição química do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), cultivar BRS Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 407-476, 2008.

FERREIRA, R. G.; TAVORA, F. J. A. F.; HERNANDES, F. F. F. Distribuição da matéria seca e composição das raízes, caule e folhas de goiabeira submetida a estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n.1, p. 79-88, 2001.

FERREIRA, M. G. P.; Brito, M. E. B.; COSTA, F. B.; ARAUJO FILHO, G. D. A. ; ALVINO, F. C. G. . Aspectos químicos e físicos dos grãos de milho doce sob estresse hídrico. **Revista Brasileira de Agrotecnologia** , v.1, p.1-6, 2011.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S.R.; RODRIGUES, E. V. Feijão-caupi no Brasil: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Terezina: Embrapa Meio-Norte, 84p. 2011.

FREITAS, R.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, F. C. L. D.; NOGUEIRA, N. W.; PINTO, J. R. D. S Physiological Responses of Cowpea Under Water Stress and Rewatering In No-Tillage And Conventional Tillage Systems. **Revista Caatinga**, v.30, n.3, p.559-567, 2017.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E. Interactive effect of salicylic acid on some physiological features and antioxidant enzymes activity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Molecules**, v.18, n.5, 2013.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, n.12, p.909-930, 2010.

GOMES FILHO, R. R.; TAHIN, J. F. Respostas fisiológicas de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata*) eretos e decumbentes a diferentes níveis de irrigação. **Engenharia na Agricultura**, v.10, p.56-60, 2002.

GONÇALVES, J.G.R. Identificação de linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes à seca. Campinas-SP, Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Instituto Agrônomo. 2013.

GONZALEZ, A.; BERMEJO, V.; GIMENO, B. S. Effect of different physiological traits on grain yield in barley grown under irrigated and terminal water deficit conditions. **Journal Agricultural Science**, v.148, p.319-328, 2010.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, n.6, p.481-494, 2005.

GUSAIN, Y. S., SINGH, U. S., & SHARMA, A. K. Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **African Journal of Biotechnology**, v.14, n.9, p.764-773, 2015.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biological Trace Element Research**, v.143, n.3, p.1758-1776, 2011.

HAYAT, S.; HASAN, S. A.; FARIDUDDIN, Q.; AHMAD, A. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. **Journal of Plant Interactions**, v.3, n.4, p.297-304, 2008.

HAYAT, Q.; HAYAT, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v.68, n.1, p.14-25, 2010.

HE, Q.; ZHAO, S.; MA, Q.; ZHANG, Y.; HUANG, L.; LI, G.; HAO, L. Endogenous salicylic acid levels and signaling positively regulate Arabidopsis response to polyethylene

glycolsimulated drought stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.33, n.4, p.871-880, 2014.

HORVÁTH, E.; SZALAI, G.; JANDA, T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.26, n.3, p.290-300, 2007.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **Embrapa Soja**, 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325). 2011.

HUSSAIN, M.; MALIK, M.A.; FAROOQ, M.; ASHRAF, M.Y.; CHEEMA, M.A. Improving Drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.194, n.3, p.193–199, 2008.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estatística da Produção Agrícola Setembro de 2017. Disponível em: [https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa\\_201709\\_6.shtm](https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201709_6.shtm). Acesso em: 17 jul. 2018.

KABIRI R, FARAHBAKHS H, NASIBI F. Salicylic acid ameliorates the effects of oxidative stress induced by water deficit in hydroponic culture of *Nigella sativa*. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v.8, p.13–22, 2012.

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

KARLIDAG, H.; YILDIRIM, E.; TURAN, M. Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. **Scientia Agricola**, v.66, n.2, p.180-187, 2009.

KAUSHAL, M., & WANI, S. P. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. **Annals of microbiology**, v.66, n.1, p.35-42, 2016.

KOBLITZ, M. G. B. Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 2011. 301 p.

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

LIU, C.; GUO, J.; CUI, Y.; LÜ, T.; ZHANG, X.; SHI, G. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings. **Plant and Soil**, v.344, n.1-2, p.131-141, 2011.

LIU, Y. et al. Cyanobacteria-/cyanotoxin-contaminations and eutrophication status before Wuxi Drinking Water Crisis in Lake Taihu, China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 4, p. 575-581, 2011.

MASSOUD, M. F. Assessment of water quality along a recreational section of the Damour River in Lebanon using the water quality index. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 7, p. 4151-4160, 2012

MARINHO, R. C. N., NÓBREGA, R. S. A., ZILLI, J. E., XAVIER, G. R., SANTOS, C. A. F., AIDAR, S. T., MARTINS, L. M. V. AND FERNANDES JÚNIOR, P. I. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p.395-402, 2014.

MARINHO, R. D. C. N.; FERREIRA, L. D. V. M.; SILVA, A. F. D.; MARTINS, L. M. V.; NÓBREGA, R. S. A.; FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Symbiotic and agronomic efficiency of new cowpea rhizobia from Brazilian Semi-Arid. **Bragantia**, v.76, n.2, p.273-281, 2017.

MAZZUCHELLI, E. H. L., SOUZA, G. M., & PACHECO, A. C. Rustificação de mudas de eucalipto via aplicação de ácido salicílico. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, v.44, n.4, p.443-450, 2014.

MELO, A. S.; SUASSUNA, J. F.; FERNANDES, P. D.; BRITO, M. E. B.; SUASSUNA, A. F.; NETTO, A. O. A. Crescimento vegetativo, resistência estomática, eficiência fotossintética e rendimento do fruto da melancia em diferentes níveis de água. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.32, p.73-79, 2010.

MENDES, R. M. S.; TÁVORA, F. J. A. F.; PINHO, J. L. N.; PITOMBEIRA, J. B. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. **Ciência Agrônômica**, v.38, p.95-103, 2007.

MITRA, J. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. **Current Science**, v.80, n.6, p.758-763, 2001.

MOREIRA, R. C. L. ; **BRITO, M. E. B.** ; Queiroga, R.C.F. ; FRADE, L. J. G. ; Costa, F.B. da ; Pereira, F.H.F. ; SILVA, L. A. ; OLIVEIRA, C. J. A. . Gas exchange, growth and yield of cowpea genotypes under different irrigation strategies. *African Journal of Agricultural Research*, v. 11, p. 2286-2294, 2016.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

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

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

NAZAR, R., UMAR, S., KHAN, N. A., & SAREER, O. Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. **South African Journal of Botany**, v.98, p.84-94, 2015.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. **Engenharia Agrícola**, v.25, p.86-95, 2005.

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

OLIVEIRA, R. S., CARVALHO, P., MARQUES, G., FERREIRA, L., NUNES, M., ROCHA, I., ... & FREITAS, H. Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria under water deficit conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n.13, p.4379-4385, 2017.

Paiva, E. P. ; SÁ, F. V. S. ; TORRES, S. B. ; BRITO, M. E. B. ; MOREIRA, R. C. L. ; SILVA, L. A. . Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, p. 407-411, 2018.

PÁL, M.; KOVÁCS, V.; SZALAI, G.; SOÓS, V.; MA, X.; LIU, H.; MEI, H.; JANDA, T. Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.200, n.1, p.1-11, 2014.

PEREIRA, J.W.L., MELO FILHO, P.A., ALBUQUERQUE, M.B., NOGUEIRA, R.J.M.C. AND SANTOS, R.C. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**. v.43, n.4, p.766-773, 2012.



PEREIRA, K. S. N.; CAVALCANTE, L. F.; CAVALCANTE, I. H. L.; SILVA, G. F.; GONDIM, S. C. Goiabeira e a salinidade. In: CAVALCANTE, L. F.; LIMA, E. M. **Algumas frutíferas tropicais e a salinidade**. Jaboticabal: FUNEP, p. 37-54. 2006.

| PIMENTEL, C. A relação da planta com a água-. **Seropédica: EDUR**, 191 p. 2004.

POSSENTI, J. C.; VILLELA, F. A. Efeito do molibdênio aplicado via foliar e via sementes sobre o potencial fisiológico e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4. p.143-150, 2010.

POZZI TAY, E. F. Simbiosis en *Prosopis alba* como estrategia para la mejora de su tolerancia a estrés hídrico. BS thesis. 2017.

QU, AI-LI; YAN-FEI D.; QIONG, J.; CHENG, Z. Molecular mechanisms of the plant heat stress response. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.432, n.2, p.203-207, 2013.

RAMOS JÚNIOR, E.R.; MACHADO, R.A.F.; OLIBONE, D.; CASTOLDI, G. & RAMOS, B.M. Crescimento de plantas de cobertura sob déficit hídrico. **Semina**, v.34 n.1 p.47-56, 2013.

RHEIN, A. F. L.; SANTOS, D. M. M.; CARLIN, S. D. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob os estresses hídrico e ácido no solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1345-1360, 2011.

RIVAS, R. FALCÃO, H.M. RIBEIRO, R.V. MACHADO, E.C. PIMENTEL, C. SANTOS, M.G. Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. **South African Journal of Botany**, v.103, n.1, p.101–107, 2016.

RUMJANEK, N.G.; MARTINS, L.M.V.; XAVIER, G.R.; NEVES, M.C.P. Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F.R.; ARAUJO LIMA, J.A.; SILVA, P.H.S.; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). *Feijão-caupi: avançostecnológicos*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.279-335. 2005.

SARUHAN, N., SAGLAM, A., & KADIOGLU, A.. Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant systems in maize genotypes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.34, n.1, p.97-106, 2012.

SCANDALIOS, J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, n.7, p.995–1014, 2005.

SCHITTENHELM, S. Effect of drought stress on yield and quality of maize/sunflower and maize/sorghum intercrops for biogas production. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v.196, p.253–261, 2010.

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMMINGSEN, E.A.; & BRADSTREET, E.D. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v.148, p.339-346, 1965.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v.162, n.8, p.854-864, 2005.

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

SHEN, H. F; B. Zhao; J.J. Xu; W. Liang; W.M. Huang; H.H. Li. Effects of heat stress on changes in physiology and anatomy in two cultivars of Rhododendron. **South African Journal of Botany**, v.112, p.338-345, 2017.

SILVA, A. ; **BRITO, MARCOS ERIC BARBOSA BRITO** ; FRADE, L. J. G. ; NOBRE, Reginaldo Gomes ; Costa, F.B. da ; Melo, Alberto Soares de ; SILVA, L. A. . Crescimento e trocas gasosas de genótipos de feijão-caupi sob estratégias de cultivo. *Revista Ambiente & Água*, v. 11, p. 745-758, 2016.

SILVA, A. C. D., SUASSUNA, J. F., MELO, A. S. D., COSTA, R. R., ANDRADE, W. L. D., & SILVA, D. C. D. Salicylic acid as attenuator of drought stress on germination and initial development of sesame. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.21, v.3, p.156-162. 2017.

SILVA, A. R. F. Componentes de produção e fisiológicos em ecótipos de Vigna sob reposição hídrica. Campina Grande, 86p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão. 2014.

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

SONG, J.T.; LU, H.; MCDOWELL, J.M.; GREENBERG, J.T. A key role for ALD1 in activation of local and systemic defenses in Arabidopsis. **Plant Journal**, v.40, n.2, p.200–212, 2004.

SORDI, A., SCHENEIDER, F., PANIZZON, L. C., LAJÚS, C. R., CERICATO, A., & KLEIN, C. Eficiência agrônômica da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) submetida a coinoculação. **Scientia Agraria**, v.18, n.4, p.72-79, 2017.

SUASSUNA, J. F.; FERNANDES, P. D.; NASCIMENTO, R.; OLIVEIRA, A. C. M.; BRITO, K. S. A.; MELO, A. S. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação do porta-enxerto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.12, p.1305-1313, 2012.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, v.161, n.3, p.613-619, 2001.

TAIRO, E. V., MTEI, K. M., & NDAKIDEMI, P. A. Influence of Water Stress and Rhizobial Inoculation on Accumulation of Proline in Selected Cultivars of *Phaseolus vulgaris* (L.). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.6, n.3, p.2205-2214, 2017.

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

TARDIN, F. D.; ALMEIDA FILHO, J. E.; OLIVEIRA, C. M.; LEITE, C. E. P.; MENEZES, C. B.; MAGALHÃES, P. C.; RODRIGUES, J. A. S.; SCHAFFERT, R. E. Avaliação agrônômica de híbridos de sorgo granífero cultivados sob irrigação e estresse hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.2, p.102-117, 2013.

TEIXEIRA, I. R.; SILVA, G. C.; OLIVEIRA, J. P. R.; SILVA, A. G.; PELÁ, A. Desempenho agrônômico e qualidade de sementes de genótipos de feijão caupi na região do cerrado. **Ciência Agrônômica**, v. 41, n.2, p. 300-307, 2010.

TEÓFILO, E. M. et al. Potencial fisiológico de sementes de feijão caupi produzidas em duas regiões do Estado do Ceará. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 39, n.3, p. 443-448, 2008.

ULLAH, A.; SUN, H.; YANG, X.; ZHANG, X. Drought coping strategies in cotton: increased crop per drop. **Plant Biotechnology Journal**, v.15, p.271-284, 2017.

VALDEZ, V., BERGER, J.D.; WARKENTIN, T.; ASSENG, S.; RATNAKUMAR, P.; RAO, K.P.C.; GAUR, P.M.; MUNIER-JOLAIN, N.; LARMURE, A.; VOISIN, A.S.; SHARMA, H.; PANDE, S.; SHARMA, M.; KRISHNAMURTHY, L.; ZAMAN-ALLAH, M. Adaptation of grain legumes to climatic change: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.32, p.31-44, 2012.

VIALLE, C. et al. Monitoring of water quality from roof runoff: Interpretation using multivariate analysis. **Water Research**, v. 45, n. 12, p. 3765-3775, 2011.

VURUKONDA, S. S. K. P., VARDHARAJULA, S., SHRIVASTAVA, M., & SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v.184, p.13-24. 2016.

WAR, A. R., PAULRAJ, M. G., WAR, M. Y., & IGNACIMUTHU, S. Role of salicylic acid in induction of plant defense system in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant signaling & behavior**, v.6, n.11, p.1787-1792, 2011.

WU, Y.; HUANG, M.; WARRINGTON, D.N. Growth and transpiration of maize and winter wheat in response to water deficits in pots and plots. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, p. 65–71, 2011.

YAGI, R., SOUZA ANDRADE, D., WAURECK, A., & GOMES, J. C. Nodulações e Produtividades de Grãos de Feijoeiros diante da Adubação Nitrogenada ou da Inoculação com *Rhizobium freirei*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, n.6, 2015.

YAO, X., MA, J., JI, J., OU, C., & GAO, W. Effect of exogenous application of salicylic acid on the drought stress responses of *Gardenia jasminoides*. **Sciences in cold and arid regions**, v.8, n.1, p.54-64, 2016.

## APÊNDICES

**Tabela 2.** Análise de variância das variáveis estudadas.

<b>TABELA DE ANÁLISES DE VARIÂNCIA</b>						
<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>Massa seca</b>	<b>Massa fresca</b>	<b>Área foliar</b>	<b>Ψ<sub>w</sub></b>	<b>TCA</b>
<b>GEN</b>	3	0.388915*	51.336747*	7411.017853*	0.377551*	0.026167*
<b>LAM</b>	1	6.905257*	385.898926*	10069.401438*	2.384382*	0.000016ns
<b>IN</b>	1	2.647876*	164.643195*	60505.463945*	1.987520*	0.000399ns
<b>AS</b>	1	0.079501ns	0.147832ns	4866.527832*	0.337226*	0.000296ns
<b>GEN*LAM</b>	3	0.845717*	10.744380ns	8760.063697*	0.218045*	0.000444*
<b>GEN*IN</b>	3	0.957111*	42.683578*	4358.277382*	0.067149*	0.005338*
<b>GEN*AS</b>	3	0.242453ns	20.493286*	4296.753149*	0.097413*	0.000819*
<b>LAM*IN</b>	1	0.003938ns	42.931695*	10653.802913*	0.025595ns	0.001783*
<b>LAM*AS</b>	1	0.919707*	0.074595ns	17646.863945*	0.233757*	0,00000124ns
<b>IN*AS</b>	1	3.331426*	26.037132*	5352.115126*	0.149195*	0.000077ns
<b>GEN*LAM*IN</b>	3	0.944228*	21.226207*	4086.161851*	0.041195*	0.000695*
<b>GEN*LAM*AS</b>	3	0.332797ns	7.578086ns	6816.061703*	0.253882*	0.000274ns
<b>LAM*IN*AS</b>	1	6.951788*	261.432695*	94339.191413*	0.006757ns	0.001220*
<b>GEN*LAM*IN*AS</b>	3	0.837857*	37.587561*	14355.636026*	0.033878*	0.000451*
<b>Erro</b>	99	0.138599	4.267374	974.290160	0.009078	0.000115
<b>C.V (%)</b>		20.39	14.74	13.43	14.86	13.89
<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>Prolina</b>	<b>APX</b>	<b>SOD</b>	<b>CAT</b>	
<b>GEN</b>	3	4.675897*	1104.674836*	0.077953*	3.887128*	
<b>LAM</b>	1	27.435528*	554.653145*	0.000132ns	1.409101*	
<b>IN</b>	1	3.537800*	40.040063*	0.002195ns	13.682988*	
<b>AS</b>	1	0.021528ns	5.895320ns	0.005382ns	0.804863*	
<b>GEN*LAM</b>	3	1.293522*	915.871501*	0.040447*	3.448540*	
<b>GEN*IN</b>	3	0.093652ns	111.244690*	0.043276*	3.281474*	
<b>GEN*AS</b>	3	1.119459*	53.537784*	0.068192*	0.885107*	
<b>LAM*IN</b>	1	0.714013*	86.116407*	0.017345ns	1.104470*	
<b>LAM*AS</b>	1	0.030628ns	1373.338538*	0.004876ns	0.303226ns	
<b>IN*AS</b>	1	0.432450*	3.501320ns	0.022313ns	0.000851ns	
<b>GEN*LAM*IN</b>	3	0.595340*	190.42065*9	0.032913*	1.689688*	
<b>GEN*LAM*AS</b>	3	2.082093*	9.606511ns	0.052065*	0.314770ns	
<b>LAM*IN*AS</b>	1	0.020000ns	14.749238ns	0.042413*	0.007657ns	
<b>GEN*LAM*IN*AS</b>	3	1.888131*	153.972165*	0.054849*	3.127930*	
<b>Erro</b>	99	0.045017	5.937559	0.007191	0.141394	
<b>C.V (%)</b>		15.50	7.37	10.39	13.52	