



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

SÁVIO JUSTINO DA SILVA

**METABOLISMO DAS POLIAMINAS E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS,
BIOQUÍMICAS E METABOLÔMICAS DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI
CRESCENDO SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE SALINO**

FORTALEZA

2023

SÁVIO JUSTINO DA SILVA

METABOLISMO DAS POLIAMINAS E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E
METABOLÔMICAS DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI CRESCENDO SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE SALINO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Bioquímica.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Enéas Gomes-Filho

Coorientador: Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S583m Silva, Sávio Justino da.
Metabolismo das Poliaminas e respostas fisiológicas, bioquímicas e metabolômicas de cultivares de feijão-caupi crescendo sob condições de estresse salino / Sávio Justino da Silva. – 2023.
96 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Enéas Gomes-Filho.
Coorientação: Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho.
1. Salinidade. 2. Poliaminas. 3. Tolerância. 4. *Vigna unguiculata* (L.). 5. Recuperação do estresse. I. Título.
CDD 572
-

SÁVIO JUSTINO DA SILVA

METABOLISMO DAS POLIAMINAS E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E
METABOLÔMICAS DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI CRESCENDO SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE SALINO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Bioquímica. Área de concentração: Bioquímica Vegetal.

Aprovada em: 20/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Enéas Gomes-Filho (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Lineker de Sousa Lopes
Secretária da Educação (SEDUC)

Prof. Dr. Rafael de Souza Miranda
Universidade Federal do Piauí (UECE)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Deus por ter me ajudado, e ter sido minha pedra forte e bússola neste percurso difícil. Obrigado por nunca ter me desamparado.

À minha mãe, Maria do Socorro, por em todos os momentos difíceis durante esta caminhada ter sido tão amiga, paciente e amorosa. Obrigado por nunca ter me deixado sozinho e por fazer sempre de tudo para me ver bem. Obrigado por ser minha base.

Aos meus irmãos, Sara e Saulo, por toda ajuda. Obrigado por nos meus momentos de “desespero”, terem tirado de mim as risadas mais sinceras e por acreditarem que no fim, tudo daria certo. Obrigado pela confiança em mim.

À minhas avós, Maria do Carmo e Maria Aurelita, gratidão pelo exemplo de luta, determinação e resiliência.

À meu avô, João Elias (*in memoriam*). Obrigado por ter sido forte, saiba que eu perderia quantos experimentos fosse preciso, para lhe acompanhar e fazer de tudo para que você se sentisse bem. Obrigado por ter lutado até o fim.

Aos Professores Dr. Enéas Gomes-Filho e Dr. Humberto Henrique de Carvalho, pela orientação deste trabalho mesmo em meio a todas as circunstâncias. Obrigado por toda dedicação, pelos conhecimentos repassados, pelo comprometimento, e por ter me confiado a oportunidade de ser integrante do laboratório durante todos esses anos.

Aos amigos e companheiros de laboratório: Dalton, Isa, Bia, Júlia, Andel, Luan. Por serem peça fundamental da minha formação e da execução deste trabalho. Em especial aos meus amigos Lucas, Igor e Dani pela paciência, obrigado por tanto.

Aos professores e funcionários do Programa Pós-graduação em Bioquímica.

E por fim, a todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e que não foram citados.

RESUMO

A salinidade é um dos estresses abióticos mais desafiadores para as plantas, cujos efeitos adversos causam desequilíbrios osmótico, iônico e oxidativo, que culminam na redução do crescimento e desenvolvimento. As plantas respondem a estresses abióticos, como a salinidade, por meio de alterações nos mecanismos fisiológicos, metabólicos e bioquímicos, na tentativa de se aclimatarem a essas condições adversas. Entre as respostas adaptativas ao estresse, as poliaminas (PAs), incluindo putrescina, espermidina e espermina, destacam-se como elementos-chave na defesa vegetal contra os efeitos adversos da salinidade, contribuindo para a estabilização de membranas celulares, regulação iônica e proteção contra danos oxidativos. Diante disto, a presente pesquisa avaliou se a tolerância à salinidade, bem como a capacidade de recuperação do estresse de dois cultivares de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], TVu 2331 e Pitiúba, previamente estabelecidos como tendo diferentes tolerâncias à salinidade, estão relacionados à regulação do metabolismo primário e aos níveis endógenos de poliaminas. Para avaliar a hipótese estabelecida, as duas cultivares de feijão-caupi foram submetidas ao estresse salino (NaCl 75 mM), em condições hidropônicas, durante o período de 28 dias, em casa de vegetação. Foram realizadas quatro avaliações pontuais nos tecidos foliares, aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (DAS). O tratamento de recuperação consistiu na transferência, aos 21 DAS, de um grupo de plantas de cada cultivar da condição de estresse salino para as condições controle (ausência de NaCl), durante 7 dias. As análises realizadas estão relacionadas aos parâmetros biométricos de crescimento, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, suculência foliar e potencial osmótico, solutos inorgânicos (Na^+ e K^+), peroxidação lipídica, análise do perfil metabólico, atividade das enzimas diamina-oxidase (DAO) e poliamina-oxidase (PAO), e determinação das PAs livres, conjugadas solúveis e insolúveis. Em ambas as cultivares, os resultados indicaram redução significativa na área foliar e biomassa sob estresse salino, sendo a cultivar Pitiúba a que menos foi afetada pela salinidade, especialmente, aos 21 DAS. Porém, com relação aos demais parâmetros fisiológicos analisados, as alterações observadas foram, de modo geral, semelhantes para os dois cultivares, o que indica estratégias compartilhadas de adaptação ao estresse. O tratamento salino alterou o perfil metabólico de ambas as cultivares em todos os dias analisados. As classes químicas que tiveram significativamente mais metabólitos diferencialmente modulados foram os açúcares, os ácidos orgânicos e os aminoácidos. A atividade da PAO foi aumentada pelo tratamento salino em ambas as cultivares, enquanto a atividade da DAO também aumentou pela salinidade, porém isto somente ocorreu na cultivar Pitiúba. Notavelmente, a salinidade aumentou os níveis de PAs

mesmo após a remoção das plantas da condição de estresse, sugerindo haver alterações duradouras na regulação dessas moléculas. Em vista dos resultados encontrados, fica claro a importância das PAs na resposta adaptativa das plantas à salinidade, não apenas durante o estresse, mas também na fase de recuperação subsequente do estresse.

Palavras-chave: salinidade; poliaminas; tolerância; *Vigna unguiculata* (L.); recuperação do estresse.

ABSTRACT

Salinity is one of the most challenging abiotic stresses for plants, causing osmotic, ionic, and oxidative imbalances that lead to reduced growth and development. Plants respond to abiotic stresses, such as salinity, through changes in physiological, metabolic, and biochemical mechanisms in an attempt to acclimate to these adverse conditions. Among the adaptive responses to stress, polyamines (PAs), including putrescine, spermidine, and spermine, stand out as key elements in plant defense against the adverse effects of salinity, contributing to the stabilization of cell membranes, ion regulation, and protection against oxidative damage. In this context, this research evaluated whether salinity tolerance and stress recovery capacity of two cowpea cultivars [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], TVu 2331 and Pitiúba, previously established with different salinity tolerances, are related to the regulation of primary metabolism and endogenous levels of polyamines. To test the established hypothesis, both cowpea cultivars were subjected to saline stress (NaCl 75 mM) under hydroponic conditions for 28 days in a greenhouse. Four assessments were conducted on leaf tissues at 7, 14, 21, and 28 days after sowing (DAS). The recovery treatment involved transferring a group of plants from each cultivar from the saline stress condition to control conditions (absence of NaCl) at 21 DAS for 7 days. The analyses performed encompassed biometric growth parameters, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, leaf succulence, osmotic potential, inorganic solutes (Na⁺ and K⁺), lipid peroxidation, metabolic profile analysis, diamine oxidase (DAO), and polyamine oxidase (PAO) enzyme activities, as well as determination of free, soluble conjugated, and insoluble polyamines. In both cultivars, the results indicated a significant reduction in leaf area and biomass under saline stress, with Pitiúba being the least affected cultivar, especially at 21 DAS. However, for the other physiological parameters analyzed, the observed changes were generally similar for both cultivars, indicating shared adaptation strategies to stress. Saline treatment altered the metabolic profile of both cultivars on all days analyzed, with sugars, organic acids, and amino acids being the chemical classes with significantly more differentially modulated metabolites. PAO activity increased in response to saline treatment in both cultivars, while DAO activity increased due to salinity only in the Pitiúba cultivar. Remarkably, salinity increased PA levels even after plant removal from the stress condition, suggesting lasting alterations in the regulation of these molecules. In light of the findings, the importance of polyamines in the plant's adaptive response to salinity is evident, not only during stress but also in the subsequent recovery phase.

Keywords: salinity; polyamines; tolerance; *Vigna unguiculata* (L.); stress recovery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura e distribuição das poliaminas	22
Figura 2 - Biossíntese e catabolismo de poliaminas em plantas	23
Figura 3 - Umidade relativa do ar e temperatura na casa de vegetação do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular durante os dias de experimento	30
Figura 4 - Área foliar de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	36
Figura 5 - Área foliar de <i>Vigna unguiculata</i> , cultivares TVu 2331 e Pitiúba submetidos às condições de controle, estresse salino e recuperação	37
Figura 6 - Massa seca foliar, massa seca da parte aérea e biomassa seca total de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	38
Figura 7 - Massa seca das folhas, massa seca da parte aérea e biomassa seca total de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, com 28 dias sob condições controle e estresse salino, após sete dias de recuperação do estresse	39
Figura 8 - Fotossíntese líquida, transpiração e eficiência instantânea do uso da água de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	40
Figura 9 - Condutância estomática, relação entre concentração de CO ₂ interna e externa e eficiência instantânea da carboxilação de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob condições controle e estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	42
Figura 10 - Fotossíntese líquida, condutância estomática, transpiração, relação entre a concentração interna e externa de CO ₂ , eficiência no uso da água e eficiência instantânea da carboxilação de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, com 28 dias sob condições controle e de estresse salino, após sete dias de recuperação do estresse	43

Figura 11 - Eficiência quântica efetiva do fotossistema II, dissipação de energia fotoquímica, taxa efetiva de transporte de elétrons e dissipação de energia não-fotoquímica de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias da semeadura	44
Figura 12 - Eficiência quântica efetiva do fotossistema II, taxa efetiva de transporte de elétrons, dissipação de energia fotoquímica e dissipação não fotoquímica de plantas feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, com 28 dias sob condições controle e de estresse salino (NaCl 75 mM), após sete dias de recuperação do estresse	45
Figura 13 - Potencial osmótico foliar de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob condições controle e estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	46
Figura 14 - Potencial osmótico foliar de <i>Vigna unguiculata</i> , cultivares TVu 2331 e Pitiúba com 28 dias sob condições controle e de estresse salino, após sete dias de recuperação do estresse	47
Figura 15 - Suculência foliar de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	48
Figura 16 - Suculência foliar de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba com 28 dias sob condições controle e de estresse salino, após sete dias de recuperação do estresse	48
Figura 17 - Teores de sódio, potássio e relação K^+/Na^+ em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob condições de controle e estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	50
Figura 18 - Teores de sódio, potássio e relação K^+/Na^+ em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba com 28 dias sob condições controle e estresse salino, após sete dias de recuperação do estresse	51
Figura 19 - Teores de malondialdeído em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> , cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob condições controle e estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	52

Figura 20 - Teores de malondialdeído em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, com 28 dias sob condições controle e estresse salino (NaCl 75 mM), após sete dias de recuperação do estresse	53
Figura 21 - Análise de principais componentes do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 7 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	54
Figura 22 - Mapa de calor do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 7 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	55
Figura 23 - Análise dos principais componentes do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 14 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	56
Figura 24 - Mapa de calor do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 14 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	57
Figura 25 - Análise de principais componentes do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 21 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	58
Figura 26 - Mapa de calor do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 21 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	59
Figura 27 - Análise de principais componentes do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 28 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	60
Figura 28 - Mapa de calor do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba aos 28 dias da semeadura sob condições controle e de estresse salino	61

Figura 29 - Análise de principais componentes do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle, estresse salino e recuperação	62
Figura 30 - Mapa de calor dos perfis metabólicos de folhas de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle, estresse salino e recuperação.....	63
Figura 31 - Atividade das enzimas diamina oxidase e poliamina oxidase em tecidos foliares de plantas de feijão caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	64
Figura 32 - Atividade das enzimas diamina oxidase e poliamina oxidase em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) cultivares TVu 2331 e Pitiúba, aos 28 dias da semeadura, sob condições controle e de estresse salino e após sete dias de recuperação do estresse	65
Figura 33 - Teores de putrescina livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	66
Figura 34 - Teores de espermidina livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	68
Figura 35 - Teores de espermina livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, sob condições controle e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura	69
Figura 36 - Teores de putrescina, espermidina e espermina nas formas livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, avaliada aos 28 dias após	

a semeadura sob condições controle e de estresse salino, e sete dias após a
recuperação 71

Figura 37 - Teores de poliaminas totais em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi
(*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob condições de controle
e de estresse salino aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura
..... 72

Figura 38 - Teores de poliaminas totais em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi
(*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 e Pitiúba, avaliada aos 28 dias após
a semeadura sob condições controle e de estresse salino, e sete dias após a
recuperação 73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Ácido abscísico
APX	Ascorbato peroxidase
ASC	Ascorbato
CAT	Catalase
DAS	Dias após a semeadura
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GR	Glutathione redutase
GSH	Glutathione
•O ₂ ⁻	Superóxido
PAs	Poliaminas
POD	Peroxidase
SOD	Superóxido dismutase
Put	Putrescina
Spd	Espermidina
Spm	Espermina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	HIPÓTESE	16
3	ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL	17
4	REVISÃO DE LITERATURA	18
4.1	Salinidade: Definição, processos de salinização e impactos sobre as plantas	18
4.2	As poliaminas e seu papel no desenvolvimento e metabolismo vegetal	21
4.3	As poliaminas vegetais e o estresse salino	24
4.4	Feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp): aspectos econômicos, sociais e de produtividade	27
5	MATERIAIS E MÉTODOS	29
5.1	Localização do experimento, material vegetal, condições de cultivo e tratamentos	29
5.2	Medidas de crescimento	30
5.3	Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	30
5.4	Suculência foliar e potencial osmótico	31
5.5	Solutos inorgânicos: sódio (Na ⁺) e potássio (K ⁺)	32
5.6	Teores de malondialdeído.....	32
5.7	Análise do perfil metabólico de folhas de feijão	32
5.8	Atividade de enzimas do metabolismo das poliaminas: DAO e PAO	33
5.9	Determinação das poliaminas livres, conjugadas solúveis e insolúveis	34
5.10	Delineamento experimental e análise estatística	35
6	RESULTADOS	36
7	DISCUSSÃO	74
8	CONCLUSÕES	82
	REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

O estresse salino é considerado um dos fatores abióticos que mais limitam a produtividade agrícola, sendo as mudanças climáticas, juntamente com o mal manejo das práticas agrícolas os principais fatores que intensificam os problemas da salinidade do solo (Desoky *et al.*, 2020). O estresse salino causa alterações fisiológicas, morfológicas e moleculares nas plantas, que impactam negativamente em seu crescimento, desenvolvimento e sobrevivência (Gupta *et al.*, 2022).

Diversos estudos apontam a relação do metabolismo das poliaminas na produção de sinalizadores do estresse, estabilização de membranas, proteção à danos oxidativos, manutenção estrutural do aparato fotossintético e modulação de enzimas antioxidantes, que contribuem na tolerância das plantas a diferentes estresses abióticos (Shu *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2013; Khoshbakht; Asghari; Haghighi, 2017; Seifi; Shelp, 2019).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma planta anual, de ciclo curto, com grande importância socioeconômica devido seu papel na alimentação e geração de emprego e renda para o Brasil, o qual é o terceiro maior produtor mundial dessa cultura (FAO, 2020). No país, a produção de feijão-caupi concentra-se principalmente na região Nordeste com destaque para os estados do Ceará, Piauí e Pernambuco. Entretanto, embora a região apresente a maior área de produção no país, ainda mostra baixa produtividade devido aos problemas climáticos (Freire-Filho, 2011; Silva *et al.*, 2016).

Em regiões áridas ou semiáridas, como o nordeste brasileiro, vários fatores naturais, como altas temperaturas, presença de lençóis freáticos rasos e a degradação de rochas salinas influenciam na ocorrência dos solos salinos (Abdenmour *et al.*, 2021). Nesse contexto, a seleção de plantas tolerantes a estresses abióticos, como o salino, e a elucidação dos mecanismos envolvidos nas respostas de tolerância tornam-se importantes alvos nos estudos de fisiologia vegetal, biologia celular e molecular, bem como nos programas de melhoramento genético. Portanto, o presente estudo empregará abordagens fisiológicas, bioquímicas e moleculares para investigar o papel das poliaminas na regulação da homeostase redox e osmótica, esclarecendo seu envolvimento com as respostas de aclimação à salinidade em cultivares de feijão-caupi.

2 HIPÓTESE

A tolerância diferencial entre os genótipos de feijão-caupi à salinidade está associada com a modulação do metabolismo e conteúdo endógeno das poliaminas (PAs).

3 ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL

As atividades executadas neste projeto foram divididas em: implementação do experimento em casa de vegetação, acompanhamento diário das condições de cultivo, coleta e análise dos dados.

Para avaliar a hipótese sugerida, as cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) TVu 2331 e Pitiúba, com potencial para o cultivo no estado do Ceará e com tolerância diferencial à salinidade foram submetidas ao estresse salino, em condição hidropônica, durante o período de 28 dias. Tanto a escolha da concentração de NaCl utilizada, quanto a seleção das cultivares a serem analisadas foram baseadas em trabalhos previamente desenvolvidos pelo Laboratório de Fisiologia Vegetal (LABFIVE/UFC) (Costa *et al.*, 2003; Praxedes *et al.*, 2009; Abreu *et al.*, 2014).

Para compreender de forma mais clara a relação entre as alterações do metabolismo das PAs e as respostas à salinidade, bem como o comportamento dos parâmetros fisiológicos, bioquímicos e moleculares envolvidos durante todo o período de desenvolvimento das plantas em condição salina, foram realizadas quatro coletas das plantas: aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (DAS).

A capacidade de recuperação das cultivares ao estresse salino também foi avaliada, bem como as alterações fisiológicas, bioquímicas e metabolômica. Para isso, aos 21 DAS um grupo de plantas de cada cultivar foi retirado da condição estressante e posta sob condição controle (sem estresse), durante 7 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial $2 \times 2 \times 4$, consistindo em dois cultivares (TVu 2331 e Pitiúba), duas condições de salinidade (NaCl 0 mM e NaCl 75 mM) e quatro tempos de desenvolvimento das plantas: 7, 14, 21 e 28 DAS. Cada tratamento foi composto por cinco repetições, sendo a unidade experimental composta por duas plantas por vaso.

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM), da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE. As análises foram realizadas nos Laboratório de Fisiologia Vegetal e no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-Colheita de Frutos, ambos pertencentes ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal do Ceará (DBBM/UFC).

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Salinidade: Definição, processos de salinização e impactos sobre as plantas

A salinidade do solo refere-se à concentração total de sal na solução do solo, sendo compreendida pelos sais solúveis e prontamente dissolvíveis, incluindo as espécies carregadas, solutos não iônicos e íons que se combinam para formar pares de íons (Corwin; Scudiero, 2019). Os principais constituintes da solução do solo, cujas elevadas concentrações são responsáveis por causar salinidade são, principalmente, os cátions sódio (Na^+), potássio (K^+), magnésio (Mg^{+2}) e cálcio (Ca^{+2}), e os ânions bicarbonato (HCO_3^-), cloreto (Cl^-) nitrato (NO_3^-), sulfato (SO_4^{-2}) e carbonato (CO_3^{-2}) (Corwin, 2021)

Aproximadamente 1 bilhão de hectares da superfície terrestre global está atualmente afetada por sais, representando cerca de 7% da superfície terrestre do planeta (Hopmans *et al.*, 2021) e estima-se que essa área esteja se expandindo numa velocidade de $2,00 \times 10^6$ erro por ano (Abbas *et al.*, 2013). Do ponto de vista de origem, a salinização dos solos pode ser dividida em dois tipos: 1. A salinização primária, que é o desenvolvimento de sais através de processos naturais, sendo os principais, o intemperismo físico ou químico e o transporte do material de origem (oriundo das “rochas mãe”), depósitos geológicos ou águas subterrâneas; e 2. A salinização secundária, que refere-se a ações antrópicas, como o manejo de práticas de irrigação inadequadas e más condições de drenagem (Daliakopoulos *et al.*, 2016). É importante destacar, que esses processos de salinização podem ser acelerados por fatores climáticos e pela má gestão dos recursos hídricos. Em regiões áridas e semiáridas, altas taxas de evapotranspiração possuem extrema relevância na pedogênese de solos salinos (Safdar *et al.*, 2019), especialmente em áreas com períodos chuvosos mais curtos (Koutroulis *et al.*, 2013).

Acredita-se que, cerca de 20% das terras irrigadas e 6% das terras mundiais, são afetadas por problemas de salinidade (Yang *et al.*, 2020). Anualmente, as perdas globais na produção agrícola de terras afetadas pela salinidade superam a faixa de US\$ 12 bilhões, e estima-se que esses valores continuem aumentando (Song; Wanga, 2015).

A salinidade afeta de forma negativa o desenvolvimento vegetal, causando desbalanceamento e desregulação metabólica, e consequentemente, proporciona a ocorrência de: estresse osmótico, estresse oxidativo, desequilíbrios nutricionais, toxicidade iônica, desorganização da membrana, redução na divisão e expansão celular, interrupção dos principais processos metabólicos e genotoxicidade (Wani *et al.*, 2020).

As atividades fisiológicas e metabólicas das plantas são prejudicadas pela salinidade, em duas fases: fase osmótica e fase iônica (Munns, 2005). A fase osmótica, em análise cronológica, é a primeira a ser evidenciada, pois ocorre poucos minutos após o acúmulo de sal na rizosfera, provocando a diminuição do potencial hídrico do solo, e consequentemente, reduzindo a absorção de água e minerais pela raiz (Mukhopadhyay *et al.*, 2021). Por outro lado, a fase iônica começa de forma mais tardia após o sal entrar na planta (Muchate *et al.*, 2016), e é responsável pelos efeitos tóxicos causados pelo acúmulo principalmente dos íons Na^+ pelas plântulas por um longo período. O íon Na^+ assemelha-se estrutural e quimicamente ao íon K^+ , o qual desempenha um papel importante na ativação de muitas enzimas importantes para o desenvolvimento vegetal (Benito *et al.*, 2014). Desta forma, o acúmulo citoplasmático de altos níveis de Na^+ resulta na substituição de K^+ pelo Na^+ o que prejudica a atividade de enzimas cuja ativação é dependente de K^+ , causando interrupção de vias metabólicas essenciais e levando a estresse iônico severo nas plantas (Zhou *et al.*, 2023).

A salinidade promove diversas alterações metabólicas e estruturais, que prejudicam o processo fotossintético. Dentre essas alterações, destacam-se as que ocorrem na anatomia foliar (Akhter *et al.*, 2023), na ultraestrutura dos cloroplastos (Manaa *et al.*, 2019; Shu *et al.*, 2013); nos pigmentos (Askari *et al.*, 2023; Shoukat *et al.*, 2023) e proteínas fotossintéticas (Panda; Rangani; Parida, 2020), que afetam a eficiência fotoquímica do fotossistema II (Ma *et al.*, 2022; Sun; Li; Guo, 2023), e alteram as trocas gasosas e as atividades das enzimas fotossintéticas (He *et al.*, 2014; Waseem; Ahmad, 2019).

O estresse iônico, proporcionado pelo acúmulo de íons nos tecidos e órgãos vegetais, perturbam a homeostase celular, e induzem danos oxidativos pelo desequilíbrio entre a produção e eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs). Em baixos níveis, as EROs atuam como moléculas sinalizadoras, no entanto, em altas concentrações são tóxicas para o metabolismo celular e afetam negativamente o desenvolvimento vegetal (Rao; Peng; Xue, 2023). Como o status redox dos cloroplastos, peroxissomos e mitocôndrias estão correlacionados com a atividade fotorrespiratória, estresses ambientais que afetam este processo, como por exemplo, a salinidade, influenciam a homeostase redox em diversas organelas, e podem induzir a produção de EROs direta ou indiretamente, através da ação de outras vias de sinalização (Czarnocka; Karpiński, 2018).

As EROs são produzidas principalmente em organelas como os plastídios, mitocôndrias e peroxissomos, e apoplasto, onde são produzidas pelas NADPH oxidases (Van Breusegem; Bailey-Serres; Mittler, 2008). As principais EROs presentes nas células vegetais são o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), o superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical

hidroxil ($\text{OH}\cdot$), o peroxinitrito (ONOO^-) e o óxido nítrico (NO) (Van Breusegem; Bailey-Serres; Mittler, 2008). Os danos celulares ocasionados pelo desequilíbrio na homeostase redox se manifestam na forma de degradação de biomoléculas, como os pigmentos fotossintéticos, as proteínas, os lipídios, os carboidratos e o DNA, os quais culminam na morte celular da planta (Das; Roychoudhury, 2014).

Os danos celulares ocasionados pelo desequilíbrio da homeostase redox se manifestam na forma de degradação de biomoléculas, como pigmentos, proteínas, lipídios, carboidratos e DNA, que por fim culminam na morte celular da planta (Das; Roychoudhury, 2014).

Para mitigar os danos causados pelos estresses provenientes da salinidade, as plantas desenvolveram um sistema antioxidante que possui duas vias de resposta, com os componentes antioxidantes enzimáticos e antioxidantes não enzimáticos, que atuam em conjunto aliviando os danos causados pelo estresse salino. Os principais antioxidantes enzimáticos incluem as enzimas catalase (CAT), peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona redutase (GR), enquanto os principais antioxidantes não enzimáticos são o ascorbato (ASC) e a glutatona (GSH) (Wang *et al.*, 2020).

As peroxidases (APX, CAT e POD) são enzimas redutoras que agem regulando os níveis de H_2O_2 através de sua eliminação; a SOD age na produção dessa molécula através da dismutação do $\cdot\text{O}_2^-$; GSH e ASC, atuam principalmente como doadores de elétrons para as enzimas peroxidases e a GR atua regenerando a glutatona utilizada como substrato enzimático (Czégény; Rácz, 2023). Em condições salinas, o sistema antioxidante apresenta aumento significativo, tanto na atividade das enzimas antioxidantes quanto na modulação positiva do conteúdo dos antioxidantes não enzimáticos. Ao longo do tempo, este comportamento estratégico de mitigação dos danos causados pelas EROs, foi comprovado em estudos realizados com diversas espécies vegetais (Lee; Kim; Lee, 2001; Masood *et al.*, 2006; Seckin *et al.*, 2010; Taïbi *et al.*, 2016; Sharifi; Bidabadi, 2020; Lamsaadi *et al.*, 2023).

Já em resposta ao estresse osmótico, as células vegetais tendem a acumular solutos orgânicos de baixo peso molecular e com boa solubilidade em água, que contribuem de forma significativa para a homeostase osmótica das plantas e favorecem a absorção de água (Puniran-Hartley *et al.*, 2014). Esse mecanismo conhecido como osmorregulação, age minimizando os efeitos prejudiciais, através da redução do potencial hídrico das células, que estabilizam suas estruturas proteicas sob condições estressantes (Alkharabsheh *et al.*, 2021).

Slama *et al.* (2015) descreveram e classificaram os principais osmólitos presentes nas plantas em cinco grupos funcionais, são eles: aminoácidos, compostos de amônio quaternário, compostos de sulfônio terciário, açúcares e álcoois de açúcar.

Bai *et al.* (2019), observaram que como estratégia para resistir ao estresse salino, mudas de soja melhoraram progressivamente seu ajuste osmótico, através do aumento significativo dos conteúdos de prolina (aminoácido proteico), betaína (amônio quaternário) e açúcares solúveis. Comportamento similar foi observado por Benjamin *et al.* (2019), que através da abordagem metabolômica baseada em espectrometria de massas, registraram a regulação positiva de álcoois de açúcar (D-manitol/D-sorbitol/L-iditol), prolina e glicina betaína em halófitas expostas a salinidade. Além das funções de ajuste osmótico esses metabólitos também atuam como moléculas de sinalização para induzir o acúmulo de ácido abscísico (ABA), afetam a expressão gênica relacionada e regulam o crescimento da planta sob estresse salino (Zhao *et al.*, 2021).

4.2 As poliaminas e seu papel no desenvolvimento e metabolismo vegetal

As poliaminas (Pas) consistem num grupo de moléculas orgânicas, policatiônicas, alifáticas, com cadeias poliméricas pequenas, possuindo dois ou mais grupos amina, e que ocorrem em quase todos os organismos vivos (Rakesh; Sudheer; Nagella, 2021; Navakoudis; Kotzabasis, 2022). Entretanto, os teores de Pas totais e individuais variam dependendo da espécie ou do estágio de desenvolvimento (Pálet *et al.*, 2019). De acordo com a quantidade de grupos amina em sua estrutura molecular, as Pas podem ser classificadas principalmente, como di-, tri-, tetra-, penta- e hexa-aminas (Navakoudis; Kotzabasis, 2022).

As Pas mais abundantes nas plantas são a putrescina (Put), a espermidina (Spd) e a espermina (Spm) (Figura 1). Em plantas as Pas parecem ser encontradas espacialmente de forma distinta. Por exemplo, Spd e Spm são encontradas preferencialmente na parede celular e ligadas a pectinas, enquanto a Put é encontrada principalmente em extratos citoplasmáticos (Rakesh; Sudheer; Nagella, 2021). Nas plantas, existem ainda outras Pas, porém em quantidades relativamente mais baixas, tais como a agmatina (Agm), a cadaverina (Cd) e a termospermina (Pál; Szalai; Janda, 2015) (Figura 1). Além dessas, existem também outras moléculas homólogas, que estão presentes em menores concentrações nos organismos vivos, e que desempenham um papel menos significativo, como por exemplo, a 1,3-diaminopropan (Tn), a aldopentamina, a aldopentam (3,3,3-tet), e a aldopentamina (Jastrzab *et al.*, 2017).

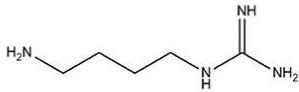
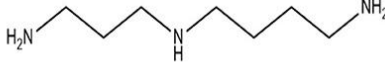
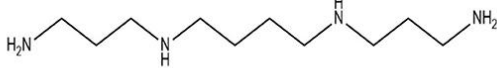
Name	Structure	Molecular formula	Source
Agm		C ₅ H ₁₄ N ₄	ubiquitous
Put		C ₄ H ₁₂ N ₂	Ubiquitous
Spd		C ₇ H ₁₉ N ₃	Ubiquitous
Spm		C ₁₀ H ₂₆ N ₄	Ubiquitous
Cad		C ₅ H ₁₄ N ₂	Legume plants
Tspm		C ₁₀ H ₂₆ N ₄	–

Figura 1. Estrutura e distribuição das poliaminas (Fonte: Chen *et al.*, 2019). Para uma descrição mais detalhada, ver o texto. Agm, agmatina; Put, putrescina; Spd, espermidina; Spm, espermina; Cad, cadaverina; Tspm, termospermina.

A Put é o produto central da via de biossíntese das Pas (Figura 2) (Chen *et al.*, 2019). Ela pode ser sintetizada a partir da arginina, que primeiramente é convertida em ornitina pela arginase e esta, por sua vez, é convertida em Put pela atividade da enzima ornitina descarboxilase (ODC). Também, alternativamente, a arginina pode ser convertida em agmatina (Agm), através da arginina-descarboxilase (ADC) e esta ser convertida em Put pela ação da agmatina-iminoidrolase (AIH) ou pela ação da N-carbamoylputrescina-amidoidrolase (ARGAH) (Gerlin; Baroukh; Genin, 2021). Nas plantas, as enzimas ODC e ADC estão localizadas, predominantemente, no citosol e cloroplasto, respectivamente. Tipicamente, a via da ADC é acionada em situações de estresse, ao passo que a ODC desempenha um papel fundamental na proliferação celular e em processos de biossíntese em tecidos radiculares (Tiburcio *et al.*, 2014).

A Put pode ser convertida em Spd pela ação da espermidina sintase (SPS), que consequentemente pode ser convertida em espermina pela ação da enzima espermina sintase (SPMS) (Figura 2). Tanto a Spd quanto a Spm, são formadas pela transferência de um grupo aminopropil da S-adenosilmetionina descarboxilada (dcSAM), que é sintetizada a partir da metionina em duas reações sequenciais da metionina-adenosiltransferase e da S-adenosilmetionina-descarboxilase (SAMDC), respectivamente (Pál *et al.*, 2021).

O catabolismo das Pas em plantas é principalmente dependente da ação de duas aminas oxidases: a diamina oxidase (DAO) e a poliamina oxidase (PAO) (Figura 2). A DAO

oxida o grupo amino primário da Put, com a formação simultânea de H_2O_2 , NH_3 e 4-aminobutanal. Em seguida, o 4-aminobutanal sofre ciclização para formar pirrolina, que é convertida em ácido γ -aminobutírico (GABA), através da pirrolina-desidrogenase. Em seguida, o GABA é convertido em succinato, que entra no ciclo de Krebs (Chen *et al.*, 2019).

Existem duas classes conhecidas de PAOs. A primeira classe realiza a oxidação e decomposição de Spd e Spm produzindo H_2O_2 , 1,3-diaminopropano (DAP) e 4-aminobutanal (catabolismo da Spd) ou N-(3-aminopropil)-4-aminobutanal (catabolismo da Spm). Por outro lado, o segundo grupo, inclui PAOs que catalisam as reações de retroconversão de PA, que convertem Spm em Spd e Spd em Put, em uma reação reversa à da síntese de PA, produzindo 3-aminopropanal e H_2O_2 (Wang *et al.*, 2019).

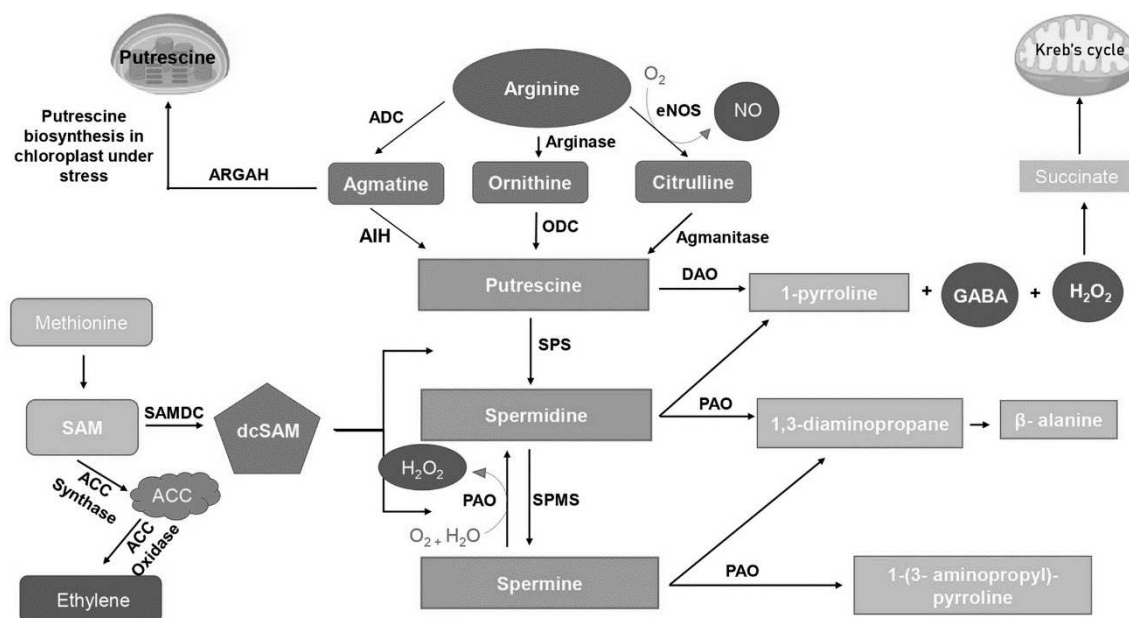


Figura 2. Biossíntese e catabolismo de poliaminas em plantas (Fonte: Asija *et al.*, 2022). ACC, ácido aminociclopropano-1-carboxílico; ADC, arginina descarboxilase; AIH, agmatina iminohidrolase; ARGAH, arginina amidinohidrolase; DAO, diamineoxidase; dcSAM, descarboxilada s-adenosil-metionina; GABA, ácido γ -aminobutírico; NO, óxido nítrico; ODC, ornitina descarboxilase; PAO, poliamina oxidase; SAM, s-adenosil-metionina; SAMDC, s-adenosil-metionina descarboxilase; SPDS, espermidina sintase; SPMS, spermina sintase.

Além da relação entre as atividades enzimáticas relacionadas à biossíntese, catabolismo e interconversão das Pas, a regulação de seus níveis endógenos nas células vegetais é um processo multinível, realizado relativamente de forma rápida, que também envolve processos como a conjugação, o transporte, a compartimentalização e a conversão/ligação a outras vias relacionadas (Navakoudis; Kotzabasis, 2022).

As Pas são encontradas em todos os organismos vivos nas formas livres solúveis, conjugadas solúveis ou conjugadas insolúveis (Pál *et al.*, 2021). As Pas conjugadas solúveis podem ligar-se covalentemente a compostos de baixo peso molecular, tais como os ácidos

hidroxicinâmicos (HCAs) e ácidos fenólicos; enquanto as Pas insolúveis derivam de suas ligações a macromoléculas (Biondi *et al.*, 2022). Na maioria dos organismos, as Pas conjugadas insolúveis são formadas devido a ligação covalente entre as Pas anteriormente “livres” aos resíduos de glutamina de proteínas específicas, pela ação enzimática das transglutaminases (Tgases) (alteração pós-traducional) (Zhong *et al.*, 2020). A ocorrência generalizada da atividade da Tgase na maioria dos tecidos e órgãos sugere a importância de proteínas mediadas por Pas nas células vegetais.

Na faixa de pH fisiológico, as Pas encontram-se na forma totalmente protonada e carregada positivamente, contendo de duas a quatro cargas (Du *et al.*, 2022), podendo, portanto, combinar-se eletrostaticamente com outras macromoléculas carregadas negativamente, como os ácidos nucleicos ou as cabeças fosfolipídicas carregadas negativamente (ou a outros locais aniônicos das membranas celulares).

As PAS, devido às diversas formas com que são encontradas, podem estar relacionadas com inúmeros processos celulares fundamentais, tais como: estabilização de membranas, síntese de ácidos nucleicos e proteínas, modulação de RNAses, regulação de atividades enzimáticas, expressão gênica, replicação de DNA, transcrição, modificação de RNA, regulação de canais iônicos, balanceamento iônico, eliminação de radicais livres, regulação do ciclo celular, modificação de proteínas, interação com fitormônios, regulação do mecanismo de tamponamento, biossíntese de etileno e metabolismo do nitrogênio (Kamiab *et al.*, 2020).

4.3 As Pas vegetais e o estresse salino

A tolerância ou suscetibilidade das plantas à estresses ambientais estão relacionados com as concentrações celulares de Pas, e com sua capacidade de biossíntese em resposta aos estresses abióticos (Alcázar *et al.*, 2006). As Pas podem afetar os sistemas antioxidantes, e o pré-tratamento de plantas com Pas exógenas proporciona aumentos nos teores de Pas endógenos e, conseqüentemente, o aumento da tolerância a estresses abióticos, como seca, calor, frio e salinidade (Liu *et al.*, 2015).

As Pas têm um papel importante no processo de divisão e alongamento das células, sendo essenciais para o desenvolvimento vegetativo da planta, contribuindo para o aumento da área foliar, do peso fresco e seco dos brotos e raízes e do número de flores (Tyagi *et al.*, 2023). Em alho, a aplicação exógena de Put, Spd e Spm atenuou os efeitos prejudiciais da salinidade, melhorando a área foliar por planta, a altura da planta, o peso fresco e seco do bulbo, o número

de cravos por bulbo e o rendimento biológico (Ghassemi; Raei, 2021). Estas respostas nos parâmetros morfológicos devido a aplicação de Pas em plantas submetidas à salinidade também foram observadas em estudos realizados em espécies como calêndula (Baniasadi; Saffari; Moud, 2018), arroz (Islam *et al.*, 2020), aveia (Hai *et al.*, 2022), soja (Fang *et al.*, 2020), colza (Elsayed *et al.*, 2022), flor-de-chagas (Da Silva *et al.*, 2022) e feijão (Al-Mushhin, 2022).

Além dos parâmetros morfológicos e biométricos, estudos realizados em diferentes espécies denotam a capacidade das Pas em aliviar de forma significativa os efeitos danosos promovidos pelo estresse salino, através da regulação positiva de parâmetros fisiológicos importantes. Segundo estudos conduzidos por Rathinapriya *et al* (2020), a aplicação exógena de Put e Spm em plantas de milho sob estresse salino foi capaz de modular positivamente parâmetros essenciais para a tolerância das plantas ao estresse salino, tais como: teor relativo de água (TRA), clorofilas totais, carotenóides e proteínas solúveis. Em tomate, Raziq *et al.*, (2022) observaram que mudas tratadas com Spm tinham taxas de fotossíntese líquida, de condutância estomática e de transpiração, significativamente mais elevadas, indicando maior tolerância ao estresse salino das mudas tratadas com essa PA. Já em mudas de pepino (Yuan *et al.*, 2019), o tratamento com Put promoveu tolerância ao estresse salino através da manutenção da homeostase iônica, de uma modificação na distribuição de Na^+ nas plantas.

De acordo com Elsayed *et al.* (2018), as Pas também estão relacionadas com a regulação da atividade de diferentes enzimas antioxidantes, e modulam eficientemente seus níveis de transcrição em plantas sob estresse salino. Resultados relatados em mudas de *Gladiolus gandavensis* submetidas a condições salinas (Qian *et al.*, 2021), mostram que plantas tratadas com Spd tiveram seus níveis de H_2O_2 e O_2^- reduzidos e, consequentemente, as atividades das enzimas CAT, SOD e POD, bem como seus níveis de expressão gênica, aumentados, em comparação com plantas não tratadas. Comportamento semelhante a este também foi observado em sementes de *Leymus chinensis* submetidas a estresse salino (Hongna *et al.*, 2021). Neste estudo, as sementes foram submetidas a *priming* com Spm, sendo possível observar que, comparado com o tratamento controle (sementes sem *priming*), o tratamento de *priming* aumentou significativamente a atividade das enzimas antioxidantes POD, GR, APX e CAT.

A relação entre as Pas e os hormônios vegetais em plantas sob salinidade foi investigada por Wu *et al* (2020). Segundo seus estudos, as Pas exógenas reduziram notavelmente o conteúdo de ABA e o teor de etileno em plantas sob condição salina. Além desses hormônios, giberelina (GA) (WANG *et al.*, 2020), citocinina (KN) (Kapoor;

Hasanuzzaman, 2020), brassinosteróides (BRs) (Liu *et al.*, 2020; Serna *et al.*, 2015) e jasmonatos (Jas) (Zarza *et al.*, 2017) também demonstram interagir sinergicamente com as Pas vegetais, alterando seus níveis endógenos em resposta ao estresse salino.

As Pas aplicadas de forma exógenas também alteram de forma significativa os perfis metabólicos das plantas sob salinidade, o que demonstra sua importância na resposta regulatória dos metabólitos responsivos ao estresse. Estudos conduzidos por Buffagni *et al.* (2022) em mudas de tomate, sob condições salina e tratadas com PA, e com resultados analisados pelo modelo estatístico OPLS-DA (*Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis*), revelaram a presença de 162 compostos como discriminantes para a separação entre os tratamentos, incluindo metabólitos primários e secundários. Segundo a análise metabolômica realizada no estudo, o tratamento com as Pas impactou em metabólitos relacionados a cofatores enzimáticos, transportadores de elétrons, vitaminas, derivados de fitormônios e a metabólitos relacionados ao aparato fotossintético.

É necessário salientar que, mesmo que a correlação entre os teores de Pas endógenas e a tolerância ao estresse salino já tenha sido comprovada por diversos estudos (Saha *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2019; Takács *et al.*, 2022), essas moléculas não devem ser “taxadas” simplesmente como “protetoras”, mas sim como compostos que também estão envolvidos no complexo sistema de sinalização vegetal ao estresse salino (Pál; Szalai; Janda, 2015; Shao *et al.*, 2022). A regulação dinâmica dos níveis de Pas é importante para induzir respostas ao estresse através de uma interação complexa entre moléculas ou íons sinalizadores, como o H_2O_2 , o NO e o Ca^{2+} , por exemplo (Korbas *et al.*, 2022). As enzimas DAO e PAO, relacionadas com o metabolismo das Pas, são uma das mais importantes fontes de produção de H_2O_2 em células vegetais, podendo apresentar-se como ponto chave na homeostase oxidativa (Fraudentali *et al.*, 2021). Segundo Li *et al.* (2015), em plantas de trevo branco submetidas a estresse hídrico, a aplicação de dicicloexilamina (DCHA), um inibidor da biossíntese de Pas, afetou diretamente a cascata de sinalização ao estresse oxidativo, daí reduzindo o acúmulo de H_2O_2 e a liberação de Ca^{2+} citosólico livre e, consequentemente, levando ao agrave dos danos oxidativos induzidos pelo estresse hídrico. Este comportamento é esperado uma vez que, com a inibição da síntese das Pas, a produção de H_2O_2 pela via de catabolismo (mediada por DAO e PAO) dessas moléculas é suprimida, o que leva à redução dessa ERRO.

É conveniente chamar a atenção que, além da estreita relação entre as Pas, o H_2O_2 e o Ca^{2+} , outro importante indutor de sinal de tolerância ao sal, o NO, também está claramente interligado ao metabolismo das Pas através de um precursor comum, a L-arginina (Recalde *et al.*, 2018). Com base nisso, Tailor, Tandon e Bhatla (2019) visando entender de forma mais

clara como acontece este *crosstalk* entre as Pas e o NO, trataram plântulas de girassol sob estresse salino com um doador exógeno de NO, a dietilenotriamin (DETA), e avaliaram a homeostase das Pas nos cotilédones das plântulas. Em resposta, foi observado acúmulo intracelular de Spm, regulação positiva das enzimas biossintéticas das Pas, ADC e SAMDC, e redução na atividade da PAO.

Já o mecanismo envolvido no acúmulo de NO pelas Pas envolve o H₂O₂, que atua como intermediário na regulação das enzimas óxido nítrico sintase (NOS) e nitrato redutase (NR) ou de ambas (Choudhary *et al.*, 2023). Além disso, do ponto de vista químico, as Pas e o NO podem reagir para produzir NONOatos, como por exemplo o conjugado NONOato de espermina. Estes conjugados de Pas atuam como transportadores de sinal e doadores endógenos de NO nas plantas, liberando NO espontaneamente sob condições aquosas (Yamasaki; Cohen, 2006; Sobieszczuk-Nowicka *et al.*, 2019).

4.4 Feijão-caupi: aspectos econômicos, sociais e de produtividade

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma cultura herbácea anual, de ciclo curto, cultivada em quase todas as regiões do globo, com as mais distintas variedades de ambientes, incluindo Ásia, África, América Central e do Sul, Estados Unidos e partes do sul da Europa (Alghamdi *et al.*, 2019). A área destinada para seu cultivo no mundo, é de 14,5 milhões de hectares plantados a cada ano e a produção anual total é de 6,2 milhões de toneladas métricas (Kebede; Bekeko., 2020).

É uma das leguminosas mais importantes da família *Leguminosae/Fabaceae*, sendo a principal fonte de proteína, minerais e vitaminas em países em desenvolvimento. Além de ser uma importante fonte nutricional nesses países, o feijão-caupi também proporciona emprego e receita tanto aos pequenos agricultores que o produzem, quanto aos comerciantes que vendem os grãos (Omomowo; Babalola, 2021).

O feijão-caupi caracteriza-se por ser uma espécie resistente a altas temperaturas e a tensões hídricas limitadas, apresentando bom desenvolvimento em solos com uma alta taxa de variabilidade de pH (Sindhu *et al.*, 2019). Além do seu uso como alimento, o feijão-caupi possui notável capacidade de recuperar terras degradadas ou pobres, por meio da fixação de nitrogênio em associação com os rizóbios (Da Silva Matos *et al.*, 2022). Esse aspecto multifacetado, bem como a característica de resiliência intrínseca à cultura, torna-a conhecida amplamente como cultura-chave no contexto das mudanças climáticas globais e da segurança alimentar (Da Silva *et al.*, 2018).

Para o seu correto desenvolvimento, a planta do feijão-caupi exige uma faixa de temperatura entre 18 e 37 °C, porém o ponto ótimo de temperatura varia de acordo com o estágio fenológico da planta (Barros *et al.*, 2021). As sementes variam em forma, desde globosas à reniformes, as vagens contêm entre 8 e 18 sementes e são cilíndricas, curvo ou retas; o revestimento da semente varia em textura, cor e uniformidade; além de ser considerada uma planta de dia curto, e possuir iniciação do botão floral e o desenvolvimento com alta sensibilidade ao fotoperíodo (Simion., 2018).

Segundo a CONAB (2022), no Brasil, para a safra de 2021/2022 estima-se que o feijão-caupi atinja a marca de 629, 3 mil toneladas. Entretanto, sua produção pode ser limitada por rendimentos de grãos baixos e variáveis, qualidade de grãos, suscetibilidade a estresses bióticos e abióticos e ausência de cultivares melhoradas (Win; oo, 2015).

Por ser uma das leguminosas mais tolerantes à seca, o cultivo do feijão-caupi ocorre predominante em regiões semiáridas. No entanto, o estresse salino pode gerar preocupações significativas nestas áreas (Ravelombola *et al.*, 2021). A cultura possui grande diversidade genética, e este aspecto é de extrema importância, pois havendo mais variação genotípica, alguns indivíduos de uma população terão variações de alelos adaptados a uma determinada condição (Nkomo; Sedibe; Mofokeng, 2021), como por exemplo a tolerância à salinidade.

Estratégias para lidar com os impactos negativos da salinidade precisam ser desenvolvidas. Nesse sentido, fornecer cultivares tolerantes ao sal através do melhoramento, potencializa-se como a maneira mais econômica de diminuir os prejuízos causados pela salinidade (Ravelombola *et al.*, 2018). Nos últimos anos, diversas pesquisas envolvendo *screenings* de variedades de feijão-caupi ou pesquisas com cultivares com tolerância diferencial à salinidade vêm sendo desenvolvidas (Costa *et al.*, 2003; Almeida *et al.*, 2011; Praxedes *et al.*, 2022).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Localização do experimento, material vegetal, condições de cultivo e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada no Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil (latitude 3°44' S, longitude 38°34' W). Foram utilizadas sementes de duas cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) com diferentes graus de tolerância ao estresse salino, Pitiúba (mais tolerante) e Tvu 2331 (menos tolerante), segundo Costa *et al.*, (2003), Praxedes *et al.*, (2010) e Abreu *et al.*, (2014). As sementes, fornecidas pelo Banco de Sementes do Departamento de Fitotecnia da UFC, foram desinfectadas superficialmente pelo tratamento com hipoclorito de sódio a 2% por 5 min, sendo em seguida lavadas exaustivamente com água destilada. As sementes, inicialmente foram semeadas em copos plásticos de 200 mL, contendo vermiculita umedecida com solução nutritiva de Hoagland (pH 7,0) a força total, em ausência (controle) ou presença de NaCl 75 mM (estresse salino). Cada tratamento foi composto por cinco repetições, sendo a unidade experimental composta por duas plantas por vaso.

Aos 7 DAS foi coletado o primeiro grupo de plantas, sendo as mudas restantes de cada cultivar transferidas para vasos de 3 L contendo solução nutritiva de Hoagland, quando um conjunto de plantas foi mantido sob condições controle e outro sob condições de estresse salino. Aos 14, 21 e 28 DAS foram realizadas as segunda, terceira e quarta coleta, respectivamente.

Para avaliar a capacidade de recuperação do estresse salino, aos 21 DAS um conjunto de plantas de cada cultivar crescendo em presença de NaCl 75 mM foi transferido para vasos contendo solução nutritiva de Hoagland sem a presença de NaCl, por um período de sete dias (tratamento de recuperação), quando, então, aos 28 DAS essas plantas foram coletadas, juntas com as plantas da quarta coleta.

Durante todo o período experimental, as soluções nutritivas foram substituídas a cada quatro dias e aeradas constantemente. A perda de água por evapotranspiração foi acompanhada, sendo o volume da solução nutritiva nos vasos ajustado diariamente com água destilada. As temperaturas e umidade relativa do ar também foram monitoradas durante todo o experimento, sendo encontrado os valores médios de 31,6 °C e 64,27%, respectivamente (Figura 3).

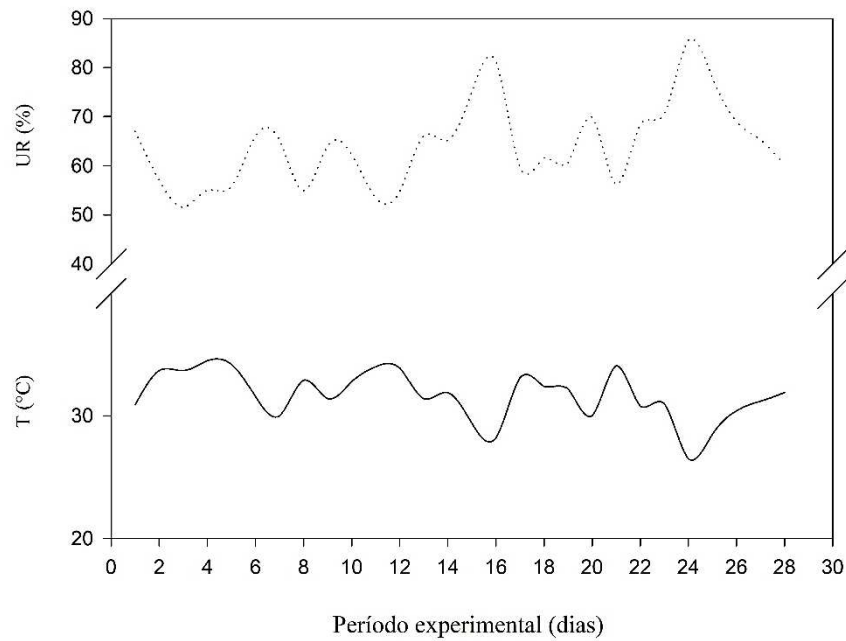


Figura 3. Umidade relativa do ar (UR) e temperatura (T) na casa de vegetação do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) durante os dias de experimento.

5.2 Medidas de crescimento

Para determinação dos parâmetros biométricos, na ocasião da coleta, uma das duas plantas constituintes da unidade amostral foi dividida em raízes e parte aérea (folhas + caules). A área foliar (AF) foi mensurada utilizando o *software imageJ* (Rasband, 1997), a massa fresca foi obtida por pesagem das amostras em balança de precisão e a massa seca foi determinada por pesagem das amostras após secagem em estufa durante 48 horas à 65 °C. A determinação da biomassa seca e fresca total foi obtida através do somatório das massas de cada órgão vegetal coletado, ou seja, folhas, caules e raízes.

A planta remanescente da unidade amostral foi utilizada para as análises bioquímicas. Para isto, as folhas do primeiro trifólio completamente expandido da base para o ápice de todos os tratamentos foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em *ultrafreezer* a -80°C.

5.3 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Em cada coleta, os parâmetros de trocas gasosas e os de fluorescência da clorofila *a* foram mensurados. Para isso, utilizou-se um analisador de gás no infravermelho (IRGA, Li-

Cor-6400-XT, USA), acoplado a um fluorômetro (mod. 6400-40, Li-COR, USA). As medições foram realizadas entre 9:00 e 11:00 h na folha central do primeiro trifólio (da base para o ápice) completamente expandido, sob concentração constante de CO₂ de 400 µmol mol⁻¹, e densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) de 1000 µmol m⁻² s⁻¹. Os parâmetros de trocas gasosas determinados foram: taxa fotossintética líquida (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e concentração interna de CO₂ (*C_i*). A partir desses parâmetros, as razões *A/C_i* (eficiência de carboxilação da Rubisco) e *A/E* (eficiência instantânea do uso da água) foram calculadas.

Já os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* avaliados foram: fluorescência máxima e no estado de equilíbrio dinâmico (*F_m'* e *F_s*, respectivamente), na presença de luz e fluorescência basal (*F_o'*), após o estado de excitação do fotossistema II. Com base nesses valores de fluorescência, as seguintes variáveis fotoquímicas foram determinadas: eficiência quântica efetiva do fotossistema II [$\phi\text{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$]; dissipação (ou *quench*) de energia fotoquímica [$qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$]; dissipação (ou *quench*) não fotoquímica [$qN = (F_m - F_m')/F_m - F_o'$]; e taxa aparente de transporte de elétrons ($\text{ETR} = \phi\text{PSII} \times \text{PPFD} \times 0,5 \times 0,84$).

5.4 Suculência foliar e potencial osmótico

A suculência foliar foi estimada de acordo com Mantovani (1999), com base nos dados de massa fresca (MFF) e seca das folhas (MSF) e área foliar (AF), segundo a seguinte fórmula:

$$\text{SF (g H}_2\text{O. m}^{-2}\text{)} = \frac{\text{MFF} - \text{MSF}}{\text{AF}}$$

Onde SF significa a suculência foliar calculada.

Para a determinação do potencial osmótico (Ψ_s), uma folha do segundo trifólio (da base para o ápice) completamente expandida foi prensada com o auxílio de uma seringa estéril e o suco foliar colocado em microtubos de 1,5 mL. Após ser congelado em nitrogênio líquido, o microtubo contendo o suco foliar foi armazenado à temperatura de -25 °C até o momento da análise. As medições foram feitas em um osmômetro (VAPRO – Vapor Pressure Osmometer, mod. 5600, Wescor, Utah, USA), utilizando o suco foliar límpido, obtido após centrifugação a $3.000 \times g$, por 10 min, a 4 °C. Os valores de Ψ_s foram estimados através da equação de Van't Hoff: $\pi = - R T C$, onde *R* é a constante universal dos gases (0,00831 kg MPa mol⁻¹ K⁻¹), *T* é a temperatura em graus Kelvin (K), e *C* é a concentração do soluto determinada no osmômetro (BAO *et al.*, 2014).

5.5 Solutos inorgânicos: sódio (Na^+) e potássio (K^+)

Amostras secas de folhas foram maceradas em almofariz, com auxílio de um pistilo), até formar um pó fino e uniforme. Para a determinação dos teores dos íons Na^+ e K^+ , 15 mg desse material de folhas macerados, foram homogeneizados separadamente com 1,5 mL de água deionizada, sendo os homogenatos mantidos em banho-maria à 75 °C durante 1 h, com agitações a cada 20 min. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 3.000 x g por 10 min, à temperatura ambiente. Os teores de Na^+ e K^+ foram determinados por fotometria de chama, sendo usado o fotômetro de chama da Micronal[®], modelo B462, São Paulo, Brasil (Malavolta; Vitti; Oliveira, 1997).

5.6 Teores de malondialdeído

O extrato para determinação do teor de malondialdeído (MDA) foi feito pela maceração de 200 mg de tecido foliar com 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%, contendo polivinilpirrolidona (PVPP) a, aproximadamente, 20%. Após perfeita homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 12.000 x g, por 15 min, a 4 °C, sendo o sobrenadante coletado (extrato) e utilizado para determinação de MDA.

Os teores de MDA, utilizados para estimativa da peroxidação de lipídios de membranas, foram determinados de acordo com o teste para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo Heath e Packer (1968). A reação ocorreu com a adição de 250 µL do extrato à solução de ácido tiobarbitúrico a 0,5%, preparada em TCA a 20%. Após a incubação da mistura reacional a 95 °C, durante 30 min, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e centrifugadas a 10.000 x g, por 10 min. Os teores de MDA foram estimados através da subtração das leituras de absorbância a 532 nm e 600 nm, e tendo por base o coeficiente de extinção molar do MDA ($\epsilon = 0,155 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

5.7 Análise do perfil metabólico de folhas de feijão

A extração dos metabólitos foi realizada a partir de amostras de folhas frescas, segundo metodologia descrita por Lisec *et al.* (2006), com modificações. O material vegetal foi homogeneizado em metanol gelado e incubado a 70 °C, por 15 min, com agitação constante. Nessa ocasião, o ribitol a 0,2 mg mL⁻¹ (em água ultrapura) foi adicionado como padrão interno. Após o período de incubação, o homogenato foi centrifugado a 14.000 x g por 10 min e ao

sobrenadante coletado foi adicionado uma solução de clorofórmio/água (1:2 v/v), sendo a mistura resultante agitada em vórtex por 15 s. Para separação das fases, esta mistura foi centrifugada a $3.000 \times g$ por 15 min, e alíquotas de 150 μL da fase superior (fase polar) foram coletadas e secas em SpeedVac *overnight*.

O processo de derivatização do extrato seco foi iniciado através da sua reação com metoxiamina (20 mg mL^{-1} em piridina) a 37 °C, por 2 h, e subsequentemente com N-methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) a 37 °C, por 30 min. A separação e detecção dos metabólitos foi realizada segundo Roessner *et al.* (2001) com modificações, através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, sendo utilizado o cromatógrafo gasoso GC/MS-QP-PLUS2010 da Shimadzu, Japão. Nesta etapa, 1,0 μL da amostra derivatizada foi injetado no modo split (1:5), usando hélio como gás de arraste a um fluxo de 1,2 mL min^{-1} . A coluna capilar RTX-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm) foi utilizada para separação dos metabólitos, sendo configurada a temperatura inicial a 80 °C por 2 min, seguida de aumento a uma taxa de 10 °C min^{-1} até alcançar a temperatura final de 310 °C, que foi mantida por 8 min. As temperaturas de injeção, da interface e da fonte de íons foram de 230, 250 e 200 °C, respectivamente. O espectrômetro de massas operou a 70 eV (EI), com intervalo de detecção de fragmentos de massa de 40-700 (m/z), iniciando após o tempo de 3 min. Os cromatogramas e os espectros de massas foram analisados usando o programa Xcalibur™ 2.1 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Os metabólitos foram identificados com base no tempo de retenção e espectro de fragmentação, comparando com a biblioteca interna, construída a partir de uma mistura de padrões, e com seus espectros de massas previamente identificados no banco de dados Golm Metabolome (GMD). A concentração relativa de cada metabolito foi determinada e normalizada pela área do pico correspondente ao ribitol, com posterior correção pela massa da amostra utilizada durante a extração.

5.8 Atividade de enzimas do metabolismo das poliaminas: DAO e PAO

As atividades das enzimas DAO e PAO foram determinadas com o uso do espectrofotômetro e com bases no ensaio colorimétrico da Δ -pirrolina (HOLMSTEDT *et al.*, 1961). Tecidos foliares frescos foram homogeneizadas em solução-tampão fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), contendo DTT a 5 mM e EDTA (1mM), a 4°C. O homogenato foi então centrifugado a $16.000 \times g$, por 20 min, a 4 °C e o sobrenadante foi considerado o extrato para determinações das atividades das enzimas.

A mistura de reação para a atividade da DAO foi composta pela combinação de 225 μL do extrato, 25 μL de catalase (50 UI mL^{-1} em tampão de fosfato de potássio a 50 mM, pH 7,0), 125 μL de 2-aminobenzaldeído a 0,1% e 125 μL de solução-tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,5), contendo putrescina a 10 mM. Para a atividade da PAO todos os reagentes acima descritos foram utilizados e nos mesmos volumes, substituindo-se apenas o tampão de reação por 125 μL da solução fosfato de potássio a 50 mM (pH 6,0), contendo espermidina a 10 mM. A reação foi realizada a 36 °C por duas horas, sendo parada pela adição de 500 μL de ácido perclórico (PCA) a 10% (v/v). Os microtubos foram centrifugados a 5000 x g por 15 min, à temperatura ambiente, e os sobrenadantes coletados para a análises enzimáticas. A formação do produto, Δ -pirrolina, foi determinada por leituras em 430 nm, sendo a absorbância monitorada em leitor de microplaca (Biotek® modelo Synergy MX). As reações de controle foram conduzidas com enzimas inativadas pelo aquecimento por 20 min a 90 °C. Os resultados dos ensaios enzimáticos foram expressos como $\text{mmol pirrolina.mg}^{-1} \text{ proteína h}^{-1}$ para DAO e PAO, usando-se o coeficiente de extinção molar da Δ -pirrolina de $1,86 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os teores de proteína, necessários para o cálculo da atividade específica foram determinados de acordo com o método de Bradford (Bradford, 1976).

5.9 Determinação das PAs livres, conjugadas solúveis e insolúveis

As PAs livres e conjugadas foram extraídas e determinadas de acordo com a metodologia descrita por Xu-Y *et al.* (2011), com algumas modificações. Com o auxílio de almofariz e pistilo, 750 mg de tecido foliar foram maceradas a 4 °C, com 1,5 mL de solução de PCA a 5% (v/v) por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram incubadas em banho de gelo por 1 h, sob agitação orbital, sendo posteriormente centrifugadas a $27.000 \times g$, por 30 min, a 4 °C. Para a determinação das PAs, 500 μL do sobrenadante foram coletados e armazenados à -80 °C. O precipitado e outra porção do sobrenadante (500 μL) foram hidrolisados separadamente com 500 μL de HCl 12 N sob aquecimento a 120 °C, por 18 h, em ampolas de vidro seladas à chama, para liberação de PAs conjugadas solúveis e insolúveis, respectivamente. Após a hidrólise ácida, as amostras foram filtradas em tubos de ensaio através de microfiltros (PVDF de 22 mm, com poro de 0,22 μm). Os tubos foram mantidos sob aquecimento a 80 °C por 48 h para a total evaporação do HCl, com posterior ressuspensão do precipitado em 500 μL de PCA a 5%.

As PAs recuperadas a partir do sobrenadante não hidrolizado (PAs livres), do sobrenadante hidrolizado (PAs livres + PAs conjugadas solúveis) e do precipitado hidrolizado

(PAs conjugadas insolúveis) foram derivatizadas com cloreto de benzoíla (Duan *et al.*, 2008) e seus conteúdos mensurados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC; Shimadzu, Tóquio, Japão). As benzoil PAs derivatizadas foram separadas em uma coluna C18 de fase reversa, a 30 °C (Shim-pack CLC-ODS, 150 mm × 4,6 mm), utilizando como fase móvel metanol a 64% em água (v/v) a um fluxo de 1,0 mL/min. Os picos de putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm) foram detectados a 240 nm, utilizando um detector SPD-20A (Shimadzu, Tóquio, Japão), e quantificados a partir de curva padrão de cada PA.

5.10 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial $2 \times 2 \times 4$, consistindo de duas cultivares (TVu-2331 e Pitiúba), duas condições de salinidade (NaCl 0 mM e NaCl 75 mM) e quatro tempos de desenvolvimento das plantas (7, 14, 21 e 28 DAS), com 5 repetições para cada tratamento. O tratamento de recuperação do estresse seguiu o arranjo fatorial 2×3 , consistindo das duas cultivares e três condições de cultivo (NaCl 0 mM, NaCl 75 mM e recuperação), seguindo o mesmo padrão de 5 repetições.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F a 5% de probabilidade e, quando houve diferença significativa entre os cultivares e níveis de estresse, as médias foram comparadas através do teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas usando o programa SISVAR 5.3 (Ferreira, 2011). Para a análise dos perfis metabólicos, as concentrações relativas foram normalizadas usando o MetaboAnalyst (<http://www.metabolanalyst.ca>) para análise multivariada (análise de componente principal - PCA) e construção do heatmap.

6 RESULTADOS

6.1 Área foliar

Quando comparadas ao tratamento controle, as plantas de ambas as cultivares que foram expostas ao estresse salino tiveram sua área foliar reduzida significativamente em três dos quatro estádios de desenvolvimento estudados, são eles: 14, 21 e 28 DAS (Figura 4). Na cultivar TVu 2331, as reduções na área foliar foram de 67, 73, e 64%, nos dias 14, 21 e 28, respectivamente (Figura 4A). Já para a cultivar Pitiúba, no mesmo período, as reduções foram, respectivamente, de 59, 48 e 61% (Figura 4B).

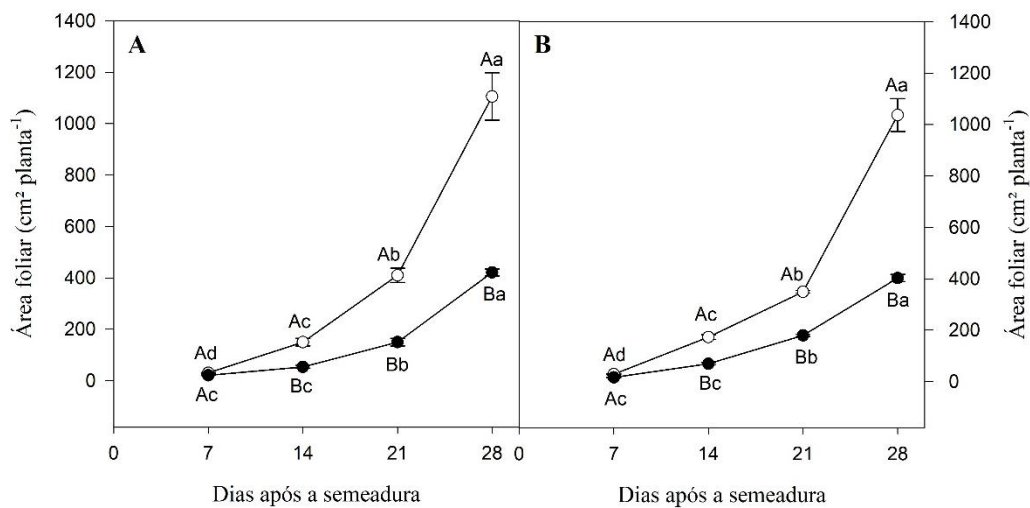


Figura 4. Área foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A) e Pitiúba (B), sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●) aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos, e as letras minúsculas comparam as médias dentro dos dias, para cada tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

No que se refere à capacidade de recuperação do estresse, foi possível notar que apenas a cultivar TVu 2331 teve melhora morfológica significativa, com incremento de 44,7% na área foliar, em comparação com as plantas estressadas, enquanto a cultivar Pitiúba não demonstrou melhora fenotípica significante (Figura 5).

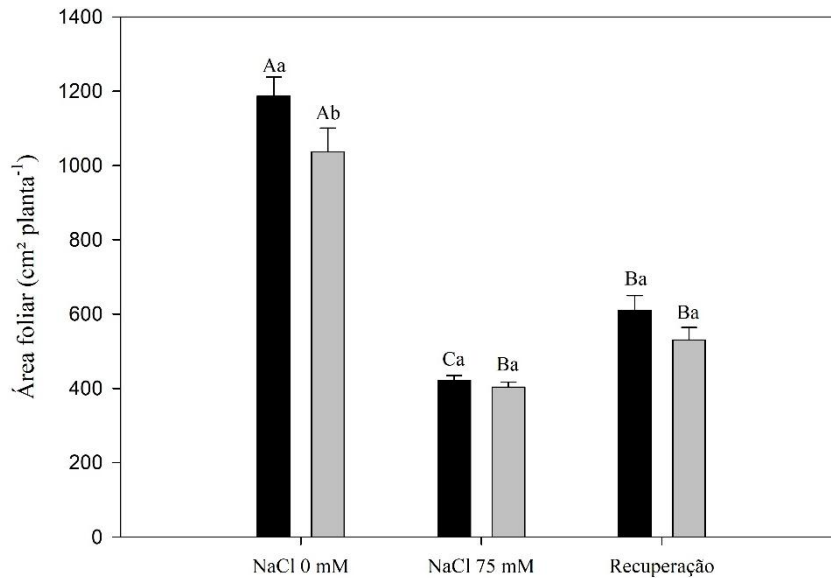


Figura 5. Área foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza), com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM), e após sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.2 Biomassa vegetal

Além da área foliar, as cultivares foram analisadas individualmente quanto a outros parâmetros morfológicos de crescimento, tais como: massa seca das folhas (MSF), massa seca da parte aérea (MSPA) (folhas + caules) e biomassa seca total (BST) (raízes +, caules + folhas) (Figura 6).

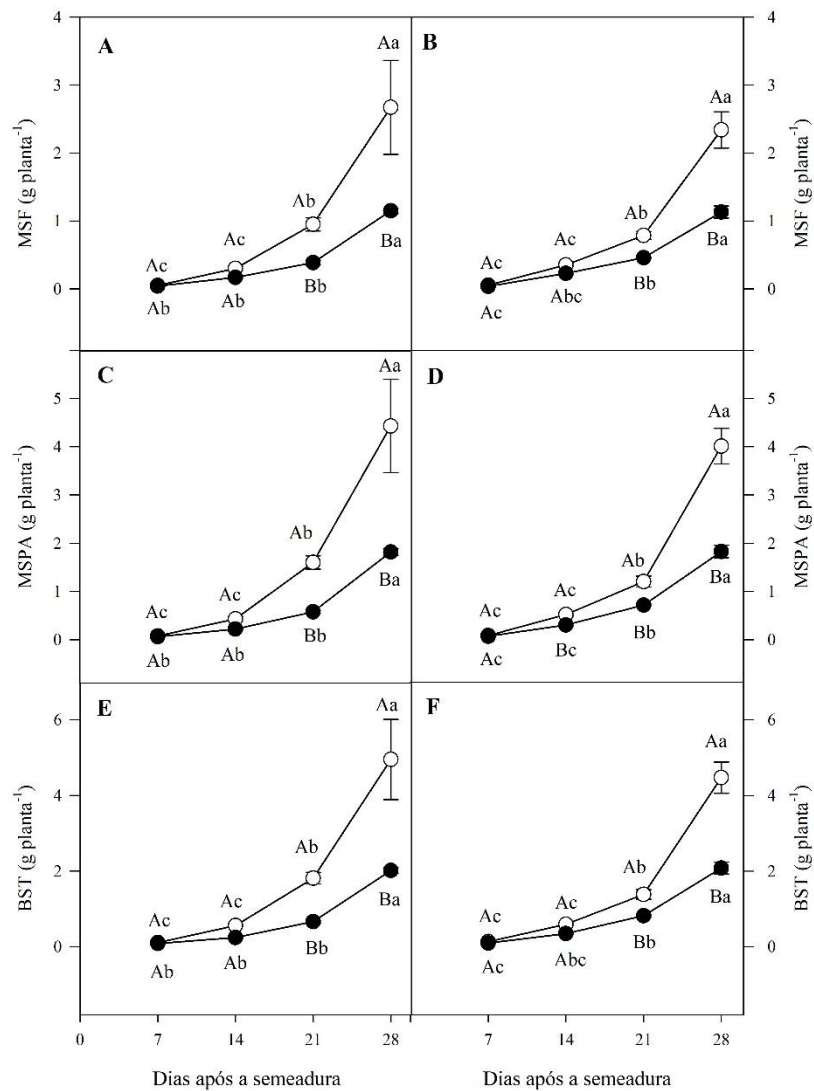


Figura 6. Massa seca foliar (MSF, A e B), massa seca da parte aérea (MSPA, C e D) e biomassa seca total (BST, E e F) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E) e Pitiúba (B, D e F), sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, dentro de cada tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Quando comparadas ao tratamento controle, as plantas expostas à salinidade, tiveram suas massas secas significativamente reduzidas em dois dos quatro estádios de desenvolvimento estudados, ou seja: aos 21 e 28 DAS, comportamento observado para ambas as cultivares (Figura 6). Na cultivar Pitiúba, as reduções foram de 41,6 e 51,6% para MSF (Figura 6B), 40,6 e 54,4% para MSPA (Figura 6D) e 40,5 e 53,4% para BST (Figura 6F), respectivamente, aos 21 e 28 DAS. Já para a cultivar TVu 2331, essas reduções foram maiores, sendo aos 21 e 28 DAS, respectivamente, de 59 e 57% para MSF (Figura 6A); 63,9 e 58,9% para MSPA (Figura 6C) e 63,4 e 59,2% para BST (Figura 6E).

Com relação à capacidade de recuperação das plantas do estresse salino, ambas as cultivares não apresentaram nenhuma alteração nos valores de MSF, MSPA e BST, em relação ao tratamento salino (Figura 7C).

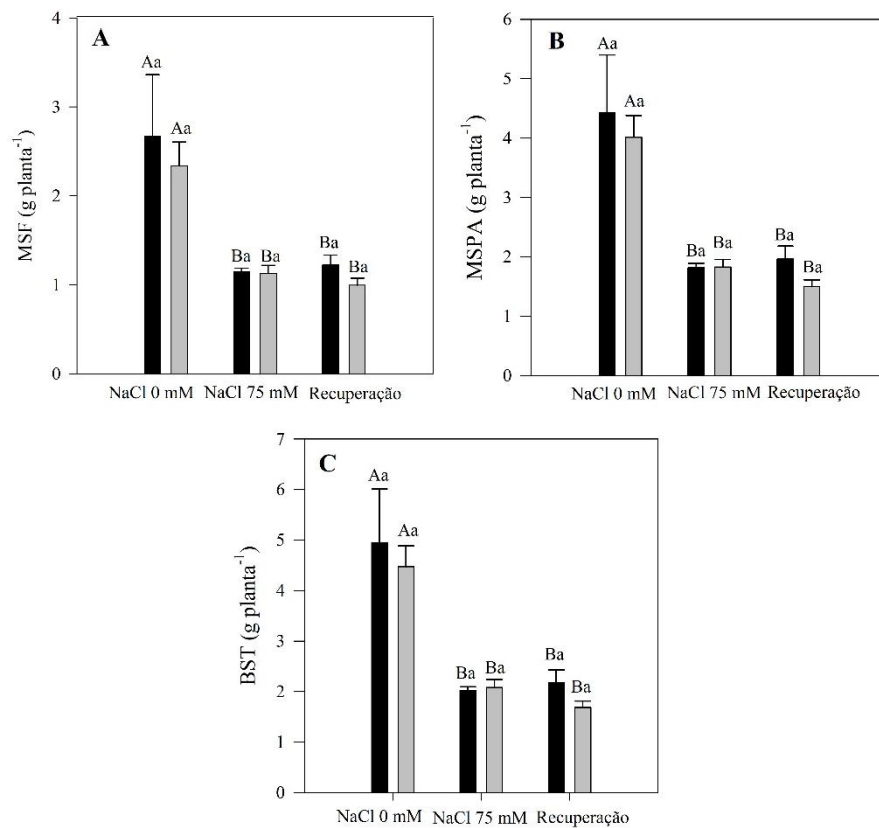


Figura 7. Massa seca das folhas (MSF, A), massa seca da parte aérea (MSPA, B) e biomassa seca total (BST, C) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza), com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75mM), e após sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às medias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.3 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Quando comparado ao tratamento controle, o estresse salino afetou a fotossíntese líquida da cultivar TVu 2331, porém apenas aos 28 DAS, provocando um aumento de 22,6% (Figura 8A). Nos outros dias avaliados, os valores dessa variável mantiveram-se constantes. Já para a cultivar Pitiúba, o tratamento salino aumentou significativamente a fotossíntese líquida aos 7 e 28 DAS (Figura 8B), com aumentos de 15,0 e 17,8%, respectivamente.

Com relação à transpiração das plantas da cultivar TVu 2331, essa foi significativamente menor em condições salinas, exceto aos 7 DAS quando não houve diferenças entre os dois tratamentos (Figura 8C). As reduções na transpiração foram de 51,0, 89,0 e 63,9%

aos 14, 21 e 28 DAS, respectivamente. Comportamento similar foi observado na cultivar Pitiúba (Figura 8D). Para este cultivar, as diminuições foram de 60,0, 108,0 e 56,4% aos 14, 21 e 28 DAS.

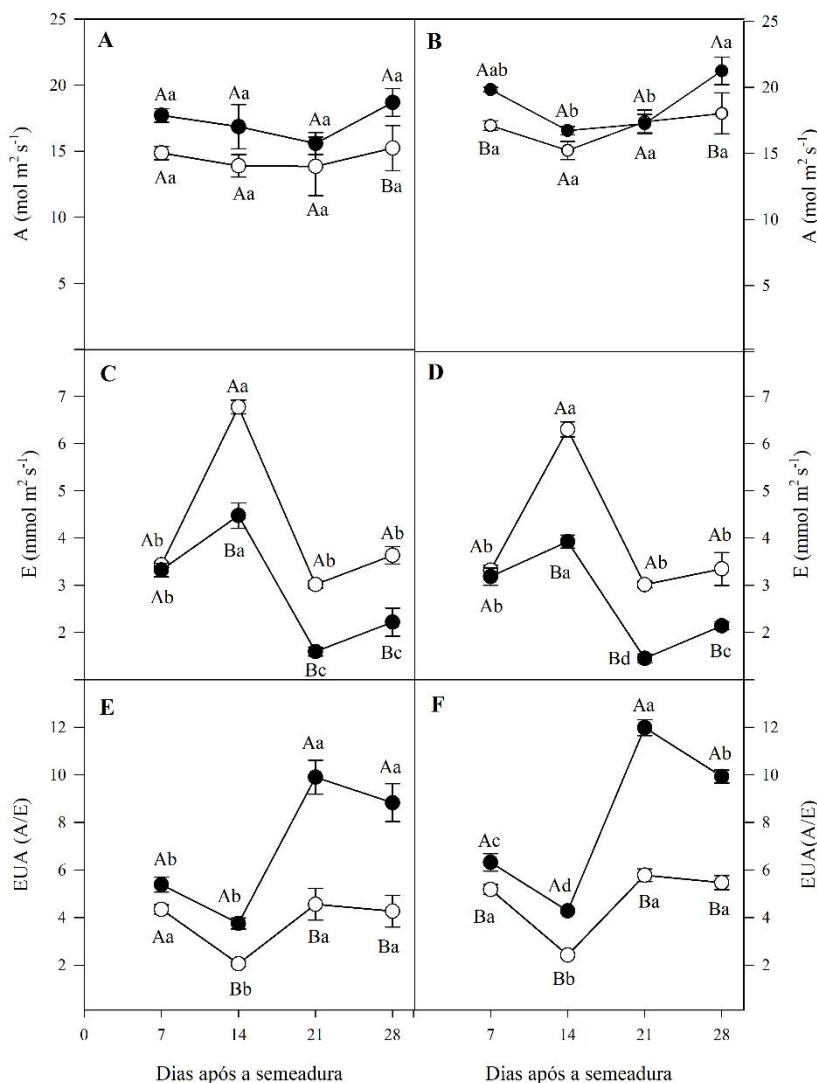


Figura 8: Fotossíntese líquida, transpiração e eficiência instantânea do uso da água de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E, respectivamente) e Pitiúba (B, D e F, respectivamente), sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, dentro de cada tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Já a eficiência no uso da água (EUA) na cultivar TVu 2331 (Figura 8, E) apresentou aumento quando as plantas foram submetidas ao tratamento salino, em três dos quatro tempos analisados. Os aumentos para a EUA foram de 83, 117 e 107%, aos 14, 21 e 28 DAS, respectivamente. Aumentos neste parâmetro também foram observados na cultivar Pitiúba, os quais ocorreram em todos os tempos analisados e foram de 21,9% aos 7 DAS; de 76,7% aos 14 DAS; de 107,5% aos 21 DAS; e de 81,6% aos 28 DAS (Figura 8F).

Além desses parâmetros, também foram analisadas a condutância estomática (g_s), a eficiência instantânea da carboxilação (A/C_i) e a relação entre a concentração de CO_2 interna e externa (C_i/C_a) das plantas, de ambas cultivares. Na cultivar TVu 2331, as plantas submetidas ao tratamento salino, apresentaram diminuição na condutância estomática em três dos quatro tempos de desenvolvimento analisados (Figura 9A). As diminuições foram de 97,6% aos 14 DAS, 144,5% aos 21 DAS, e 105,6% aos 28 DAS. De forma similar, para os mesmos dias, as diminuições apresentadas na cultivar Pitiúba foram de 121,42, 160,31 e 104,31%, respectivamente (Figura 9, B). Aos 7 DAS, a condutância estomática observada foi a mesma entre os dois tratamentos, para ambas cultivares.

Seguindo o que foi observado para a condutância estomática, a relação entre o carbono interno e externo (C_i/C_a), na cultivar TVu 2331, apresentou diminuição em 3 dos 4 estágios de desenvolvimento analisados. As reduções causadas pelo tratamento salino, foram de 17,5% aos 14 DAS, 59,9% aos 21 DAS, e 40,8% aos 28 DAS (Figura 9C). Enquanto na cultivar Pitiúba, os valores para este parâmetro diminuíram em todos os estágios de desenvolvimento estudados. Os valores reduziram em 24, 35, 84 e 73,1% aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente (Figura 9D).

A eficiência instantânea da carboxilação (A/C_i) na cultivar TVu 2331, apresentou aumento significativo quando as plantas foram submetidas ao tratamento salino, em três dos quatro tempos de análises. Os aumentos foram de 43, 81 e 74%, aos 14, 21 e 28 DAS, respectivamente (Figura 9E). Este comportamento de aumento, também foi observado na cultivar Pitiúba, entretanto diferente do que ocorre na cultivar TVu 2331, neste cultivar o aumento ocorre em todos os estágios de desenvolvimento analisados. Os aumentos foram de 24, 35, 84 e 73,1% aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente (Figura 9F).

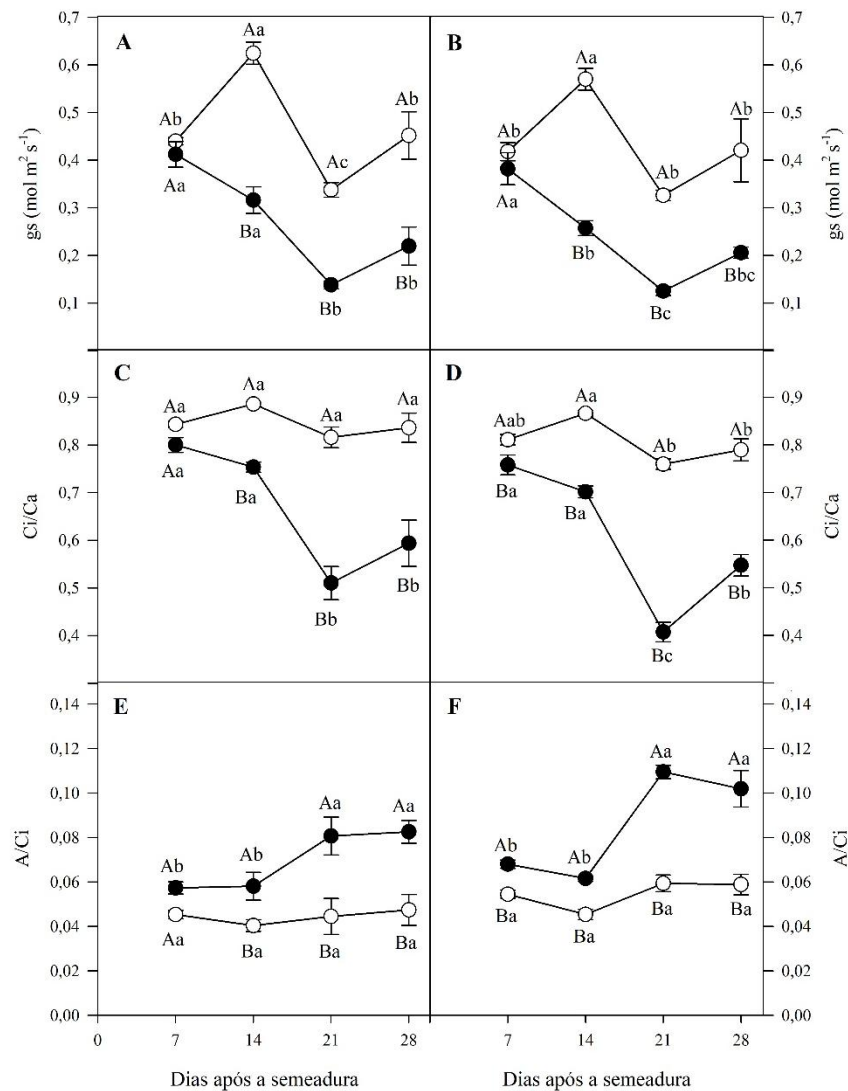


Figura 9: Condutância estomática (gs), relação entre concentração de CO_2 interna e externa (C_i/C_a) e eficiência instantânea da carboxilação (A/C_i), de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E, respectivamente) e Pitiúba (B, D e F, respectivamente) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, dentro de cada tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

A capacidade de recuperação do estresse, analisada por meio dos parâmetros relacionados às trocas gasosas das plantas, de ambas as cultivares também foi investigada. A fotossíntese líquida foi estatisticamente a mesma tanto no tratamento de estresse, quanto no de recuperação ou em relação ao próprio controle (Figura 10A). Por outro lado, no tratamento de recuperação do estresse, ambas as cultivares apresentaram condutância estomática, transpiração e relação de concentração interna e externa de CO_2 estatisticamente superiores às dos respectivos tratamentos salino e idênticas àquelas dos respectivos controles (Figura 10B, C e D). Já eficiência no uso da água e a eficiência instantânea de carboxilação, por sua vez, foram

menores no tratamento de recuperação, em relação ao tratamento salino, porém idênticas às daquelas dos respectivos controles (Figura 10E e F).

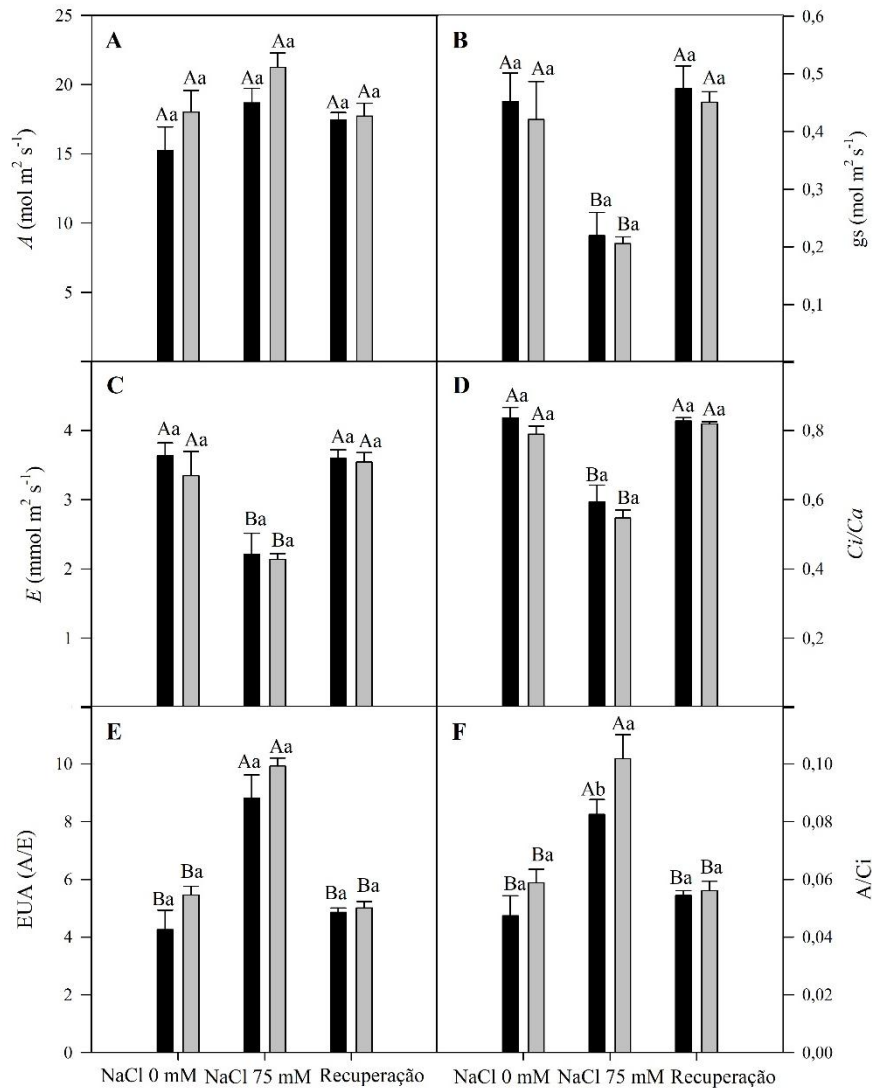


Figura 10: Fotossíntese líquida (A, A), condutância estomática (g_s , B), transpiração (E, C), relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca , D), eficiência no uso da água (EUA, E) e eficiência instantânea da carboxilação (A/Ci , F) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza), com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM), e após sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

A eficiência quântica efetiva do fotossistema II (ΦPSII), a taxa efetiva de transporte de elétrons (ETR), a dissipação de energia fotoquímica (qP) e a dissipação não-fotoquímica (qN) foram determinadas para avaliar a atividade de fluorescência da clorofila *a* (Figura 11). Na cultivar TVu 2331, quando comparadas ao tratamento controle, as plantas em condição de salinidade apresentaram maiores valores para ΦPSII aos 14, 21 e 28 DAS, com aumentos de, respectivamente, 29,0, 50,0 e 55,2% (Figura 11A). Aos 7 DAS não houve diferença

significativa entre os dois tratamentos. Já na cultivar Pitiúba, as plantas sob salinidade apresentaram valores de Φ_{PSII} significativamente maiores, em todos os dias de análises (Figura 11B). Nesta cultivar os aumentos foram de 16,5% aos 7 DAS, 27,2% aos 14 DAS, 36,3% aos 21 DAS e 31,5% aos 28 DAS.

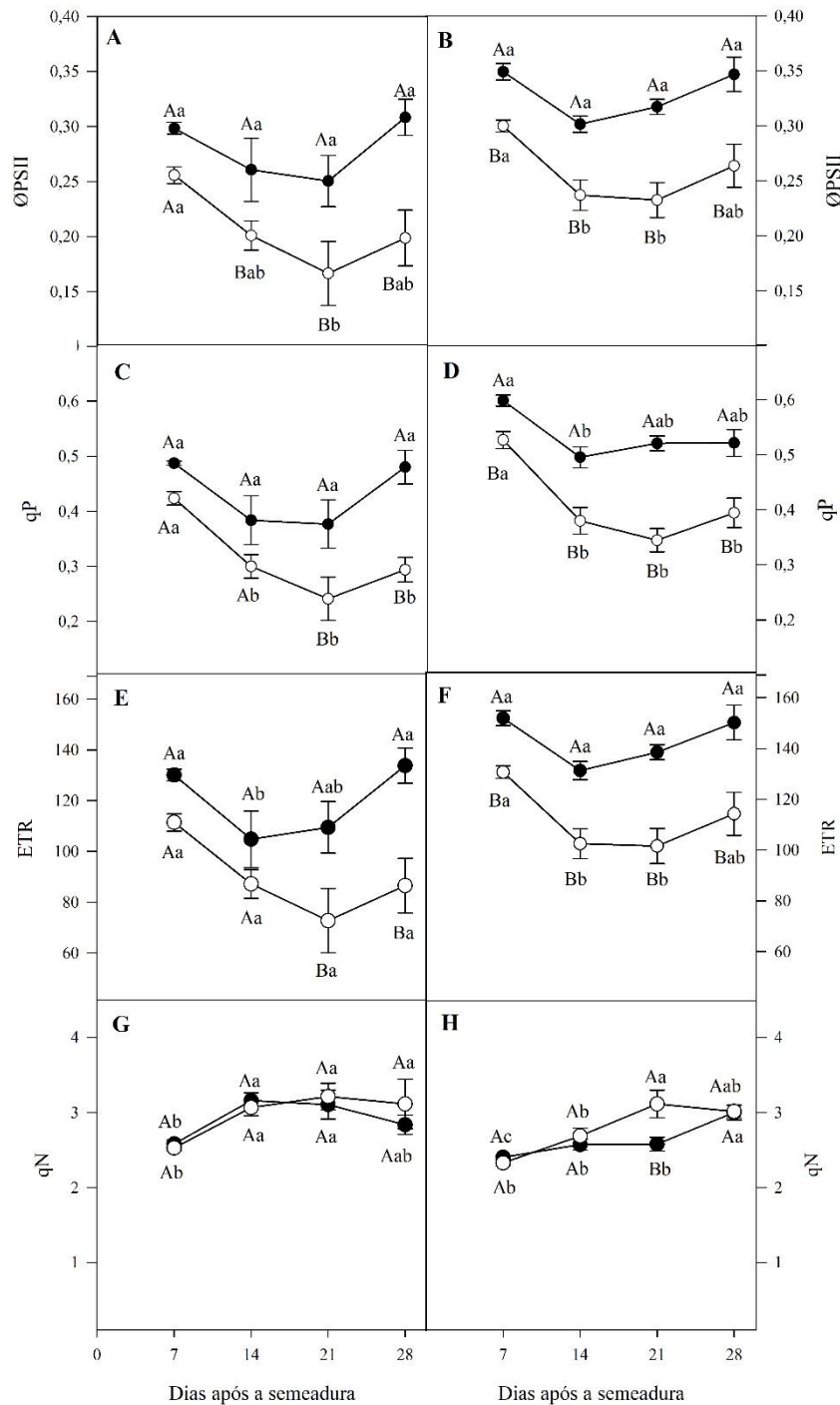


Figura 11: Eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}), dissipação de energia fotoquímica (qP), taxa efetiva de transporte de elétrons (ETR) e dissipação de energia não-fotoquímica (qN) de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C, E e G, respectivamente) e Pitiúba (B, D, F e H, respectivamente), sob condições controle (NaCl 0 mM; $\circ$) e de estresse salino (NaCl 75 mM; $\bullet$), aos 7, 14, 21 e 28 dias da semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos, e as letras minúsculas

comparam as médias entre os dias, dentro de cada tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Para ambas as cultivares, os parâmetros de fluorescência, qP e ETR, também aumentaram nas plantas submetidas ao estresse salino: para a cultivar TVu 2331, os aumentos em qP foram cerca de 56,0 e 63,0% aos 21 e 28 DAS, respectivamente (Figura 11C) e de 50,0% e 54,0%, para ETR nesses mesmos dias (Figura 11E), respectivamente. Diferentemente do comportamento observado na cultivar TVu 2331, na Pitiúba, os aumentos em qP e ETR devido à salinidade, foram observados em todos os dias analisados. Para qP, os aumentos foram de 13,6, 30,4, 51,1 e 32,2% aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente (Figura 11D). Enquanto para ETR, os aumentos foram de 16,3, 28,1 36,4 e 31,4% aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente (Figura 11F). A qN, por outro lado, manteve-se inalterada entre os tratamentos em todos os dias de análise, para ambas as cultivares.

Aos 21 DAS, as plantas do cultivar TVu 2331 foram submetidas ao tratamento de recuperação por sete dias e em seguida foram feitas medidas de fluorescência da clorofila *a*. Como resultado foi observado que apenas o parâmetro qP foi significativamente afetado por esse tratamento (Figura 12C). Já a cultivar Pitiúba modulou seus níveis de Φ_{PSII} (Figura 12A), ETR (Figura 12B) e qP (Figura 12C) a valores próximos aos das plantas submetidas ao tratamento controle. A dissipação não-fotoquímica não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, para ambas as cultivares (Figura 12).

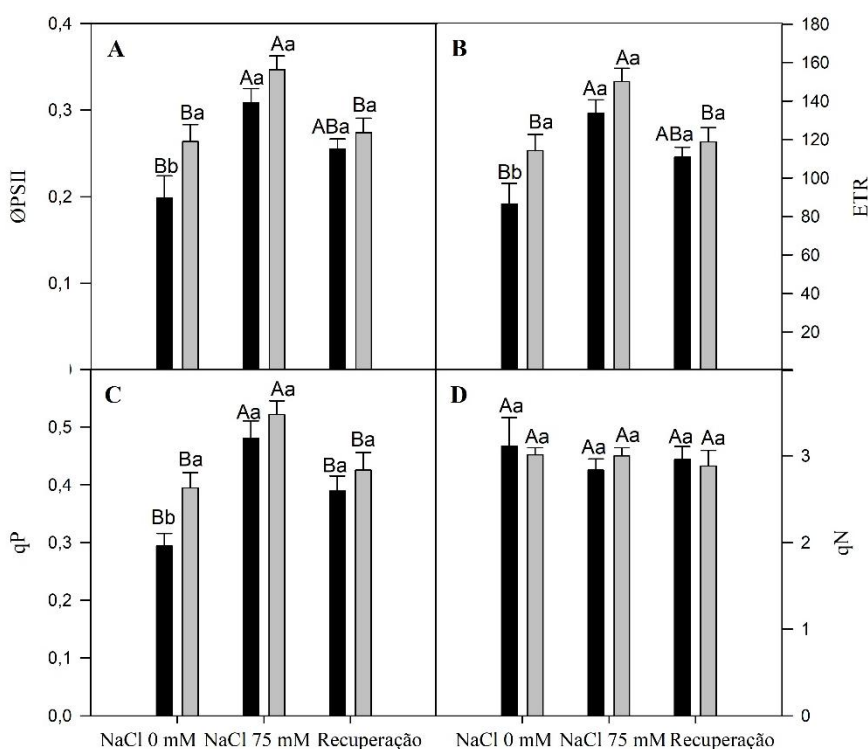


Figura 12: Eficiência quântica efetiva do fotossistema II (ØPSII, A), taxa efetiva de transporte de elétrons (ETR, B), dissipação de energia fotoquímica (qP, C) e dissipação não fotoquímica (qN, D) de plantas feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza), com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM), e de estresse salino (NaCl 75 mM) e com sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às medias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.4 Potencial osmótico e suculência foliar

As plantas expostas ao tratamento salino apresentaram potencial osmótico mais negativo em ambas as cultivares, em todos os tempos analisados (Figura 13A e B). Para o tratamento controle, comparando os valores de potencial osmótico entre os 7, 14, 21 e 28 DAS, observa-se que ele permaneceu majoritariamente constante para ambas as cultivares, com exceção do 7º DAS para a cultivar TVu 2331 (Figura 13A) e do 21 DAS para a cultivar Pitiúba (Figura 13B). Já para o tratamento salino, foi observada uma tendência a valores mais negativos para o potencial osmótico das plantas, com o avançar do tempo de crescimento das plantas. Na cultivar TVu 2331, esse aumento ocorreu do 7º para o 14º DAS, com posterior estabilização dos valores ao 21 e 28 DAS (Figura 13A). Enquanto para a cultivar Pitiúba, os valores mantiveram-se constantes aos 7 e 14 DAS, com o aumento nos valores de potencial osmótico sendo observado entre 14 e 21 DAS, e daí esse valor manteve-se constante até os 28 DAS (Figura 13B). Na cultivar TVu 2331, quando comparado ao tratamento controle, as plantas sob condição salina ficaram com seus valores de potencial osmótico em torno de 21, 26, 41 e 34,2% mais negativos aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente. Já para a cultivar Pitiúba, os valores ficaram em aproximadamente 37% para aos 7 DAS, 23% aos 14 DAS, 16% aos 21 DAS, e 43% para aos 28 DAS.

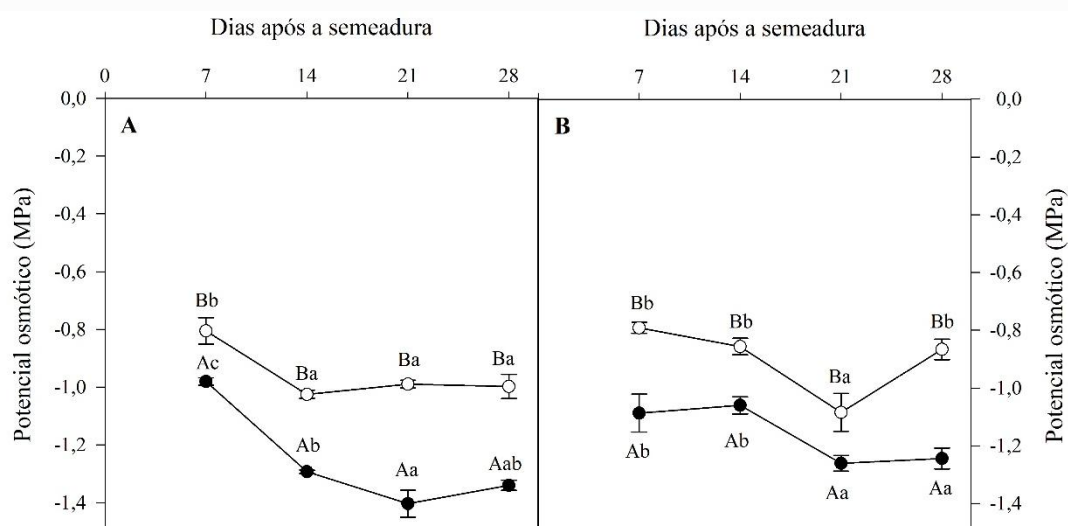


Figura 13: Potencial osmótico foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A) e Pitiúba (B) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos no mesmo dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Quando expostas ao tratamento de recuperação, as plantas de ambas as cultivares tiveram aumentos em seus valores de potencial osmótico, os quais se igualaram aos valores dos controles (Figura 14). Esse aumento foi de 23% para ambas cultivares.

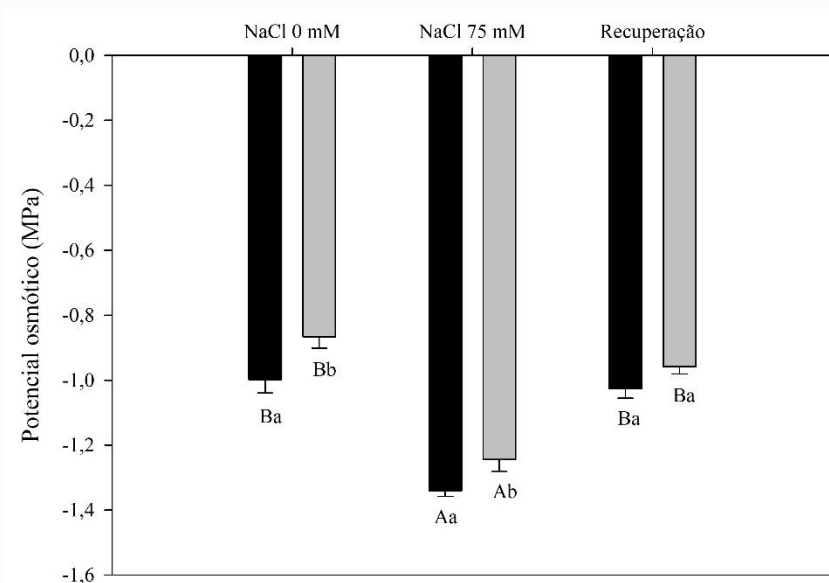


Figura 14: Potencial osmótico foliar de *Vigna unguiculata*, cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza) com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM) e com sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

No que se refere a suculência foliar, na cultivar TVu 2331, o estresse salino promoveu um aumento significativo neste parâmetro em todos os dias analisados (Figura 15A). Para esse cultivar, o aumento foi de 13,9% aos 7 DAS, 25,3% aos 14 DAS, 15,7% aos 21 DAS, e 24,1% aos 28 DAS. Entretanto, na cultivar Pitiúba a resposta deste parâmetro ao tratamento de estresse, divergiu da encontrada na cultivar TVu 2331 (Figura 15B). Os valores de suculência foliar, entre os tratamentos controle e de estresse para esse cultivar, apresentaram aumento significativo apenas no 14º e 28º DAS. As taxas de aumento para esses dias foram de 26,2% e 24,3%, respectivamente.

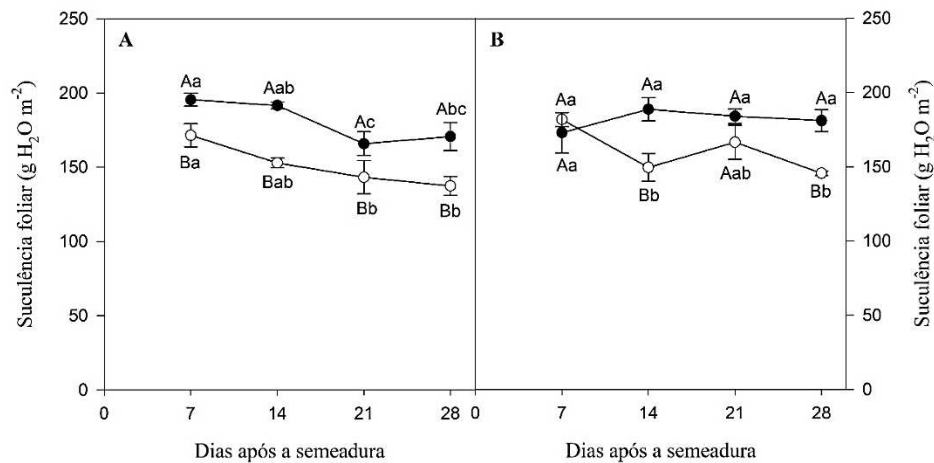


Figura 15: Suculência foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A) e Pitiúba (B) sob condições controle NaCl (0mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

As plantas de ambas as cultivares, quando retiradas das condições de estresse e deixadas recuperar por sete dias em condições controle, tiveram suas suculeções foliares diminuídas em relação às do tratamento salino, e igualaram-se às do controle, ou seja apresentaram 100% de recuperação (Figura 16). As reduções foram de 25% para a cultivar TVu 2331 e 28,7% para a cultivar Pitiúba.

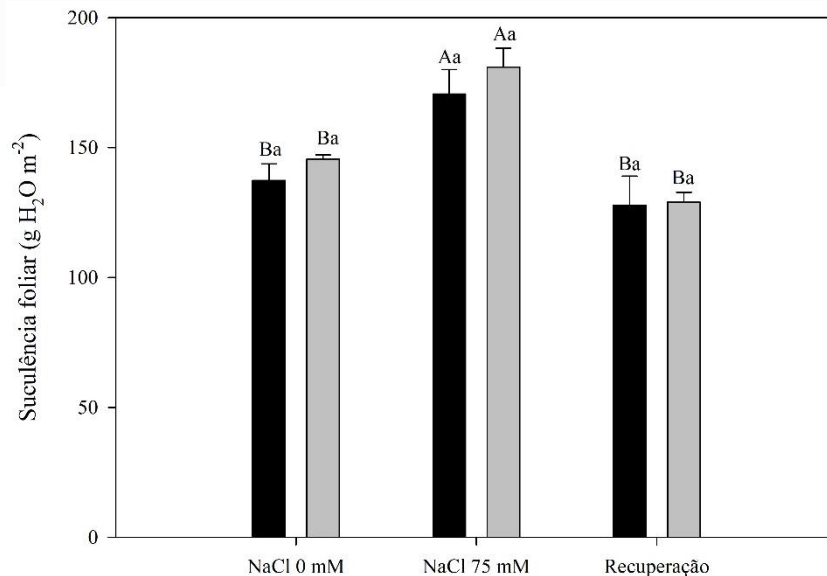


Figura 16: Suculência foliar de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza) com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM) e com sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.5 Solutos inorgânicos: sódio (Na^+) e potássio (K^+)

Os teores de Na^+ nas folhas das plantas da cultivar de feijão-caupi TVu 2331, apresentaram maiores valores em condições salinas, em relação ao controle, porém somente aos 14 e 28 DAS (Figura 17A). Além disso, não foi observado acúmulo desse íon com o desenvolvimento da cultura, tanto no tratamento controle, quanto no tratamento estressante. Nos tecidos foliares da cultivar Pitiúba, os níveis de Na^+ foram aumentados de forma significativa pela salinidade, em comparação ao controle (Figura 17B). Nesta cultivar, de forma contrária ao comportamento deste íon na cultivar TVu 2331, acúmulo significativo com o desenvolvimento fenológico das plantas.

Já os teores foliares de K^+ , em ambas as cultivares de feijão-caupi, não variaram significativamente com a salinidade e nem com o desenvolvimento fenológico das plantas de feijão-caupi de ambas as cultivares (Figura 17C e D). A partir dos dados dos teores dos íons potássio e sódio, a relação K^+/Na^+ foi calculada para ambas as cultivares (Figura 17E e F). Conforme esperado, em comparação com o tratamento controle, o estresse salino reduziu os valores dessa relação em ambas as cultivares e em todos os dias analisados. Para a cultivar TVu 2331 as reduções na relação K^+/Na^+ foram de 38,6, 57,4, 36,1 e 56,8%, respectivamente, aos 7, 14, 21 e 28 DAS. Já na cultivar Pitiúba, as reduções na relação K^+/Na^+ foram ainda maiores: 43,0 73,0 76,0 e 70,1% aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente.

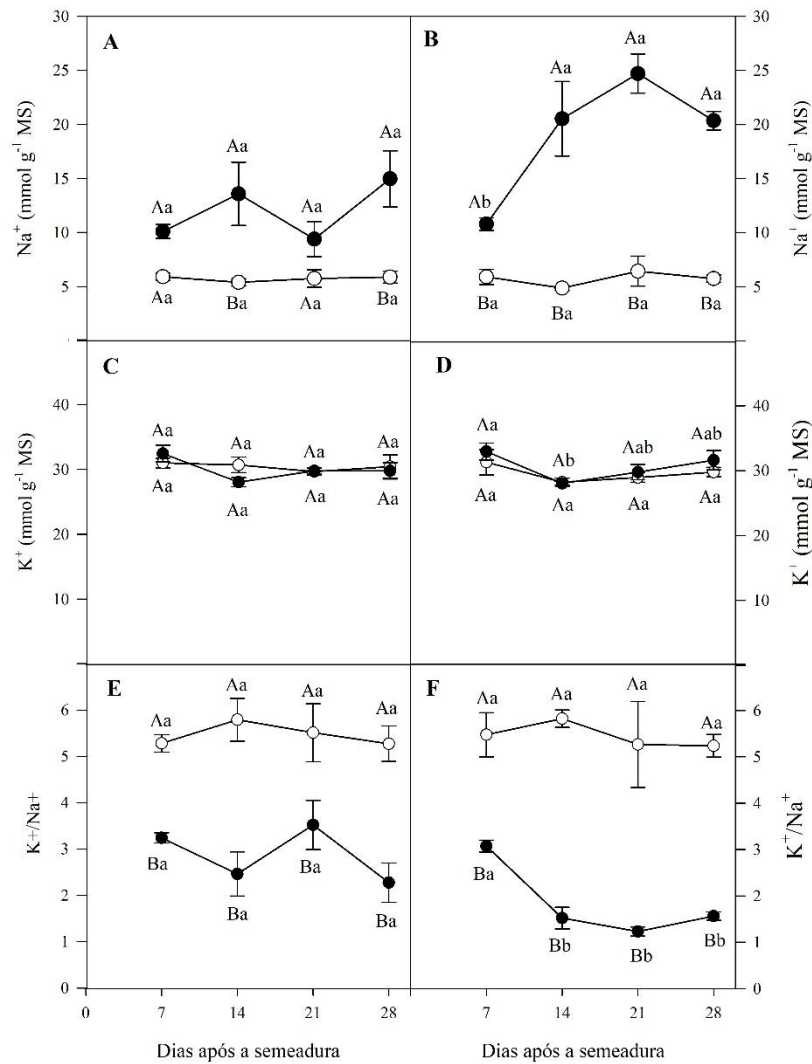


Figura 17: Teores de sódio (Na^+), potássio (K^+) e relação K^+/Na^+ em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E, respectivamente) e Pitiúba (B, D e F, respectivamente) sob condições de controle (NaCl 0 mM; $\circ$) e de estresse salino (NaCl 75 mM; $\bullet$), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Os teores foliares dos íons K^+ e Na^+ e a relação K^+/Na^+ também foram analisados nas plantas das duas cultivares de feijão-caupi após o tratamento de recuperação. Com relação ao TVu 2331, os teores foliares do íon K^+ após período de recuperação das plantas da condição de estresse salino foram os mesmos das plantas do tratamento salino e ligeiramente maiores que os do controle (Figura 18B). Situação um pouco diferente ocorreu com a cultivar Pitiúba sob recuperação, cujos teores de K^+ foliares foram idênticos aos do tratamento salino, porém igual ao controle. Para os teores de Na^+ , as plantas da cultivar TVu 2331 conseguiram reduzir os níveis deste íon a valores semelhantes ao observado nas plantas sob condição controle (Figura 18A). Já a cultivar Pitiúba, mesmo que tenha sido observada uma redução significativa dos

níveis de Na^+ , em comparação com as plantas sob condição estressante, essa redução não fez com que os valores dos teores desse íon fossem semelhantes aos encontrados na condição controle.

Esse comportamento refletiu-se nas respostas observadas na relação K^+/Na^+ (Figura 18C). Na cultivar TVu 2331, o aumento nessa relação foi de 92%, fazendo com que os valores ficassem semelhantes aos encontrados nas plantas sob condição controle. Já a cultivar Pitiúba, também demonstrou aumento significativo nesse índice, entretanto, diferente do observado nas plantas da cultivar TVu 2331 esse aumento não chegou aos níveis das plantas controle.

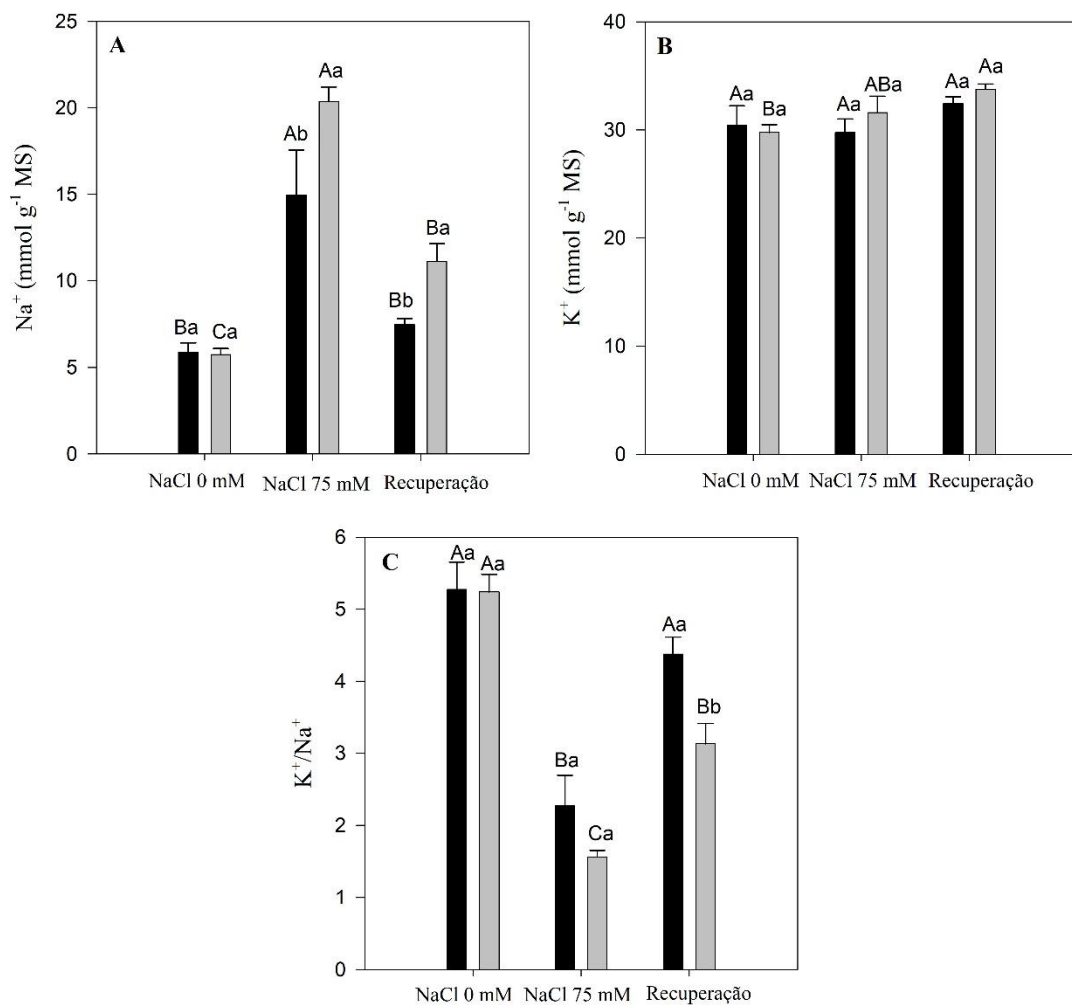


Figura 18: Teores de sódio (Na^+) (A), potássio (K^+) (B) e relação K^+/Na^+ (C) em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza) com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM) e com sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.6 Peroxidação lipídica

Para avaliar os danos causados pela salinidade na membrana celular, a peroxidação lipídica foi analisada através da produção do malondialdeído (MDA) nas folhas das cultivares estudadas. Na cultivar TVu 2331, a salinidade aumentou a peroxidação lipídica de forma significativa apenas aos 14 e 21 DAS (Figura 19A). Esses aumentos foram de 31,8 e 42,4%, respectivamente. Já nas plantas da cultivar Pitiúba, os teores de MDA foram maiores no tratamento salino aos 21 e 28 DAS, sendo observados aumentos respectivamente de 115,9 e 25,8% em comparação com o tratamento controle.

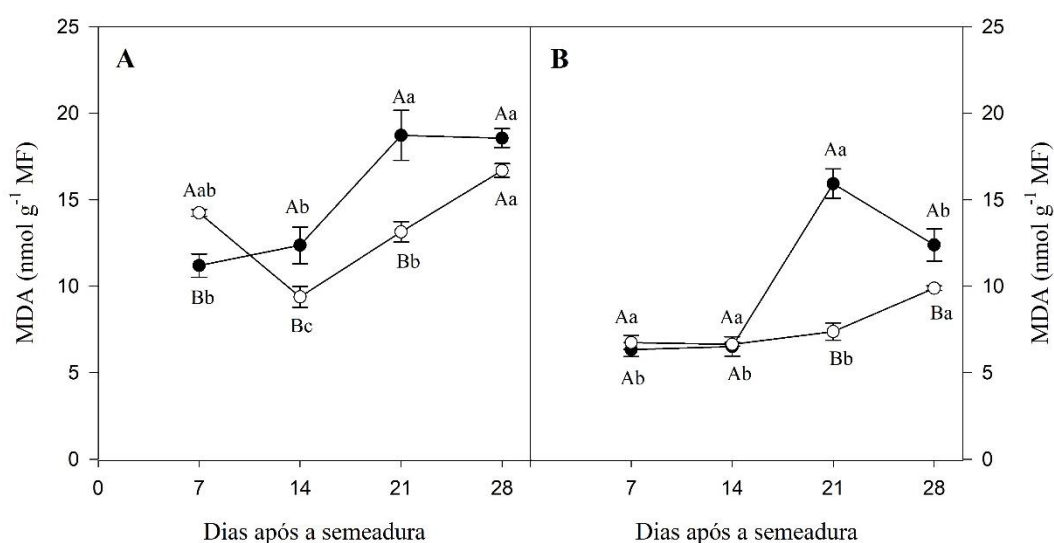


Figura 19: Teores de malondialdeído (MDA) em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*, cultivares TVu 2331 (A) e Pitiúba (B) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●) aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

As plantas da cultivar TVu 2331 após tratamento de recuperação, mostraram valores de MDA foliares iguais aos dos tratamentos salino e controle aos 28 DAS (Figura 20). Já para o caso da cultivar Pitiúba, após tratamento de recuperação, o teor de MDA foi maior em 39% que aquele do tratamento salino e 74,1% maior que aquele do controle, resultado que representa um forte aumento na peroxidação lipídica (Figura 20).

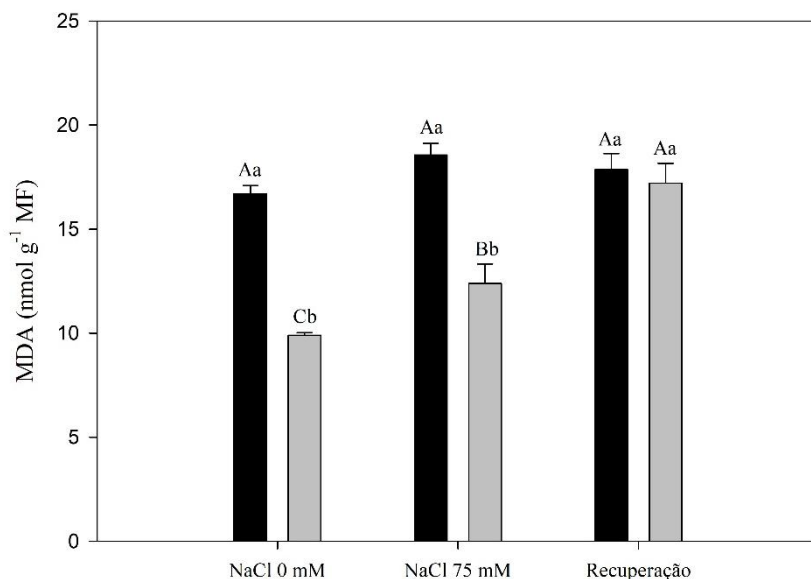


Figura 20: Teores de malondialdeído (MDA) em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza), com 28 dias sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM) e após sete dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.7 Análise do perfil metabólico das folhas ao longo do desenvolvimento

Foi feita uma análise metabolômica dos tecidos foliares das duas cultivares em estudo, ao longo do desenvolvimento das plantas, sob condições controle e salino. Para as plantas de feijão-caupi com 7 DAS, a análise dos principais componentes (PCA), mostrou que os componentes PC1 e PC2 juntos representaram 37,3% da variância cumulativa observada nos dados metabolômicos desses tecidos (Figura 21). Para a cultivar TVu 2331, houve separação dos tratamentos controle e salino, no entanto, para a cultivar Pitiúba, foi observada uma sobreposição dos tratamentos analisados (Figura 21).

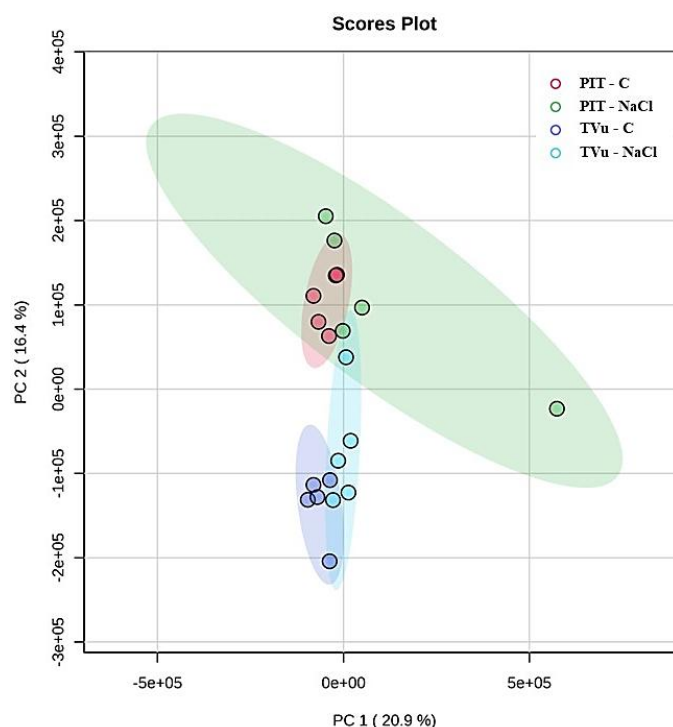


Figura 21: Análise dos componentes principais (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 7 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

O mapa de calor exibiu ainda a tendência de modulação dos metabólitos nos tratamentos e cultivares, aos 7 DAS. Foram identificados 62 metabólitos, sendo os principais grupos pertencentes aos aminoácidos (14), ácidos orgânicos (22), açúcares (23) e as PAs (2). Segundo a análise de variância (ANOVA paramétrica), para a cultivar TVu 2331, a salinidade modulou diferencialmente de forma significativa ($p\text{-valor} < 0,05$) os metabólitos: putrescina, beta-alanina, ornitina, ácido fumárico, eritrose, serina e valina (Figura 22). Já para a cultivar Pitiúba, os metabólitos foram: ácidos cinâmico, cítrico, tartárico e fumárico; beta-alanina, ornitina e lactitol.

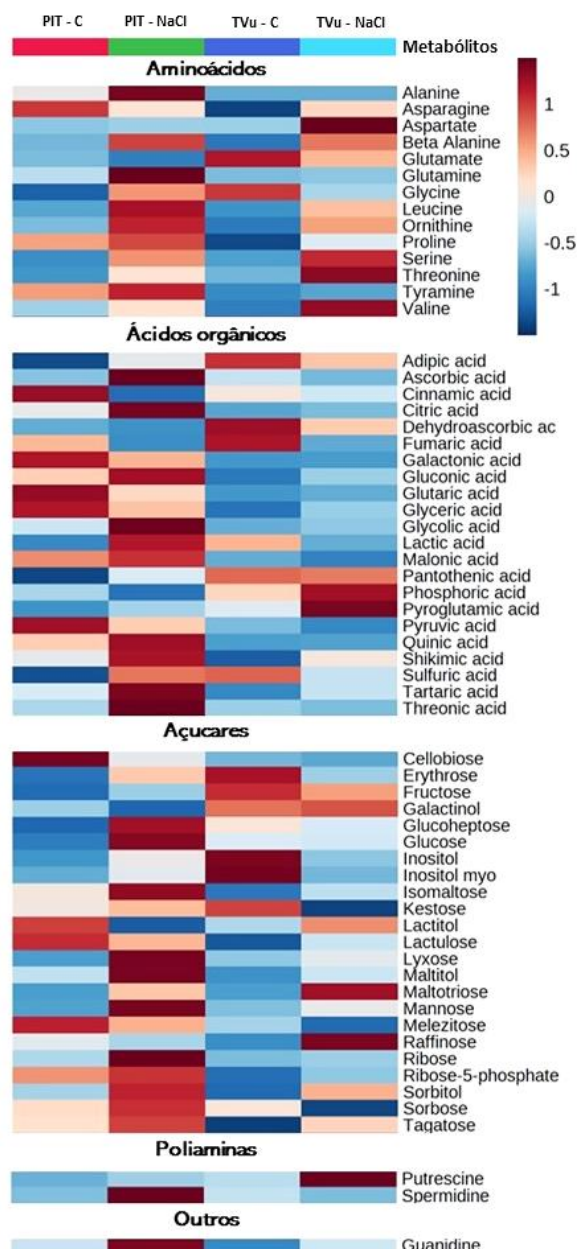


Figura 22: Mapa de calor do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 7 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

A análise de PCA aos 14 DAS, demonstrou boa separação entre os grupos analisados (Figura 23), com as variâncias entre os grupos sendo explicadas em 26,1 e 15,1%, para PC1 e PC2, respectivamente. Desta forma, a variância total explicada pelos componentes foi de 41,2%.

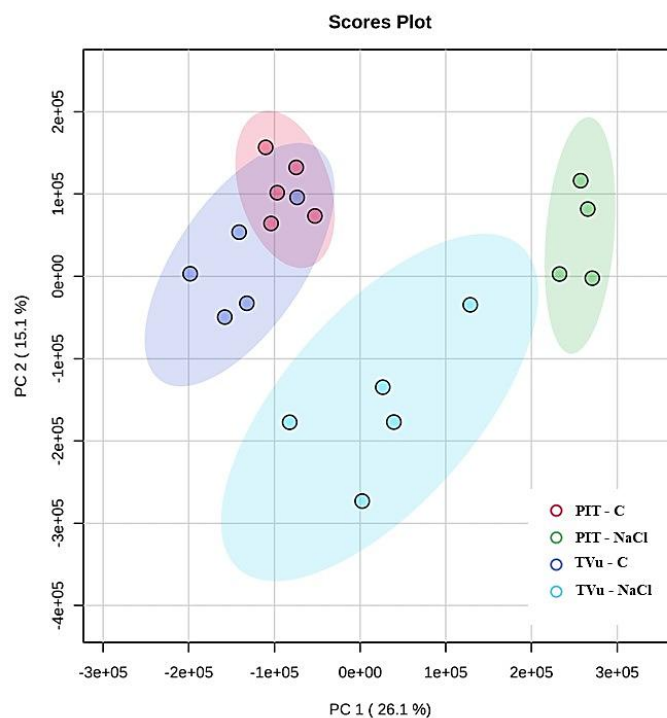


Figura 23: Análise dos principais componentes (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 14 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

O mapa de calor do perfil metabólico das plantas de ambas as cultivares aos 14 DAS (Figura 24), junto com a ANOVA paramétrica revelou que na cultivar TVu 2331, os principais metabólitos modulados significativamente (p -valor $< 0,05$) pelo tratamento salino, foram: rafinose, ácido cinâmico, maltotriose, ácido malônico, putrescina, ácido cítrico, alanina e xilose (Figura 24). Já na cultivar Pitiúba, 17 metabólitos foram modulados diferencialmente devido a exposição das plantas dessa cultivar ao estresse salino, são eles: rafinose, ácido tartárico, ácido cinâmico, ácido glutárico, maltotriose, ácido malônico, questose, lactitol, ácido ascórbico, isomaltose, ácido cítrico, celobiose, sorbitol, ácido pirúvico, asparagina, ornitina e maltitol.

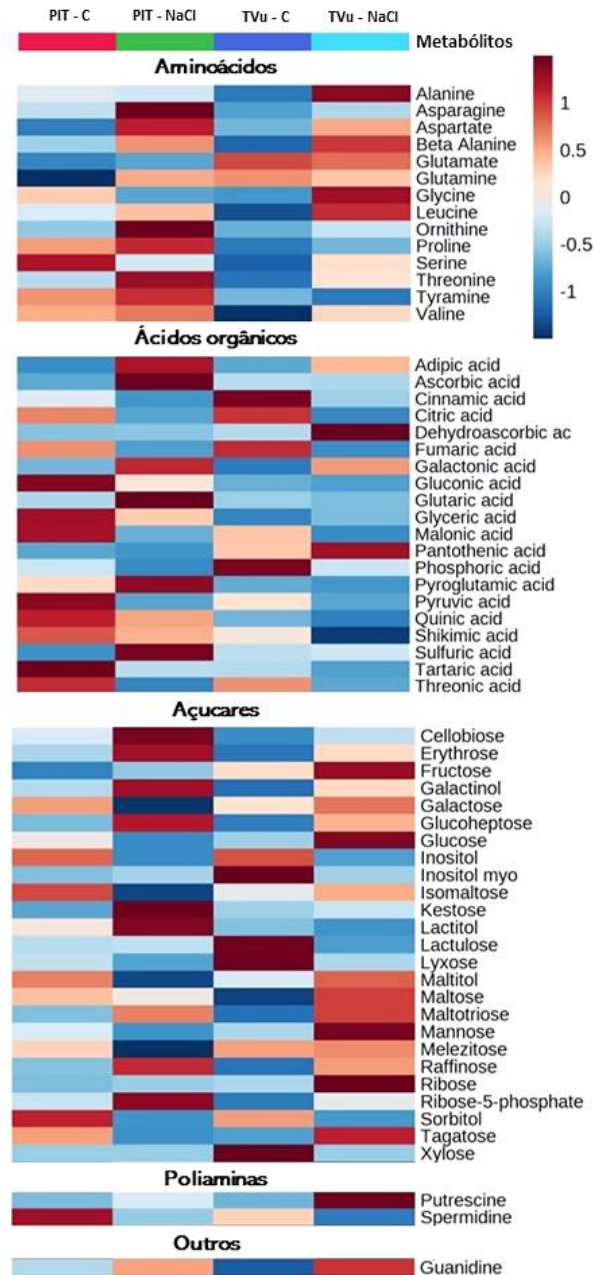


Figura 24: Mapa de calor do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 14 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

Aos 21 DAS, a análise dos dois principais componentes (PC1 e PC2) mostrou que no total eles representaram 37,1% da variância observada entre os grupos, sendo responsáveis pela separação entre os grupos controle e estressante de ambas as cultivares analisadas (Figura 25). Por outro lado, os grupos relacionados aos tratamentos controle, para cada cultivar parecem ter perfis metabólicos semelhantes, segundo a sobreposição observada.

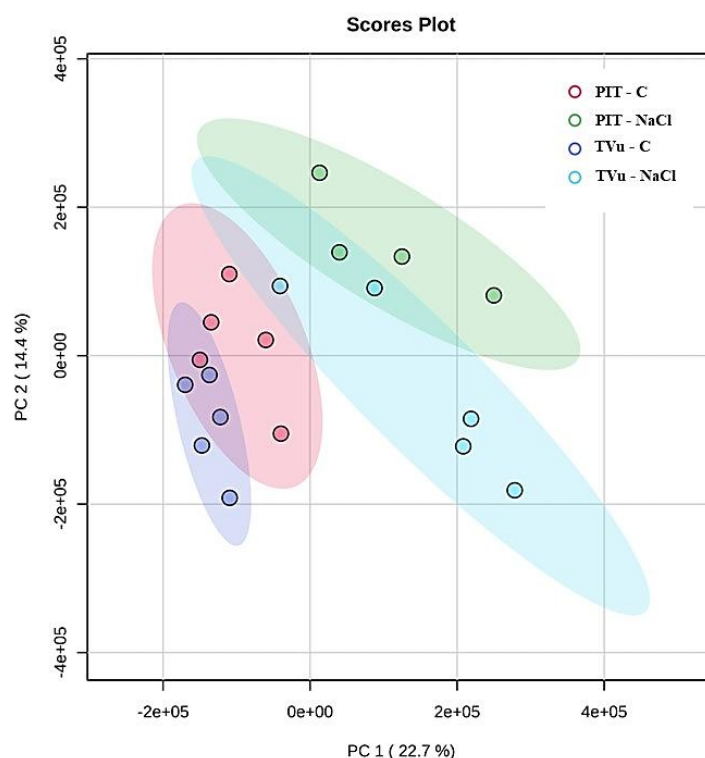


Figura 25: Análise de principais componentes (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 21 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

A ANOVA realizada no perfil metabólico das folhas de plantas de feijão-caupi aos 21 DAS revela que, sob estresse salino, as cultivares TVu 2331 e Pitiúba modularam diferencialmente e de forma significativa (p -valor $< 0,05$) 16 e 17 metabólitos, respectivamente. As modulações positivas e negativas desses metabolitos foram exibidas em mapa de calor (Figura 26). Para a cultivar TVu 2331, a modulação ocorreu na rafinose, na beta-alanina, ácido desidroascórbico, ornitina, ácido ascórbico, glucoheptose, tiramina, alanina, maltitol, putrescina, ácido adípico, lactulose, espermidina, leucina e isomaltose. Na cultivar Pitiúba os metabólitos modulados diferencialmente foram: rafinose, eritrose, ácido treônico, beta-alanina, ácido galactônico, celobiose, ornitina, ácido ascórbico, ribulose-5-fosfato, lactitol, maltotriose, glucoheptose, tagatose, ácido adípico, galactinol, ácido cinâmico e glutamina.

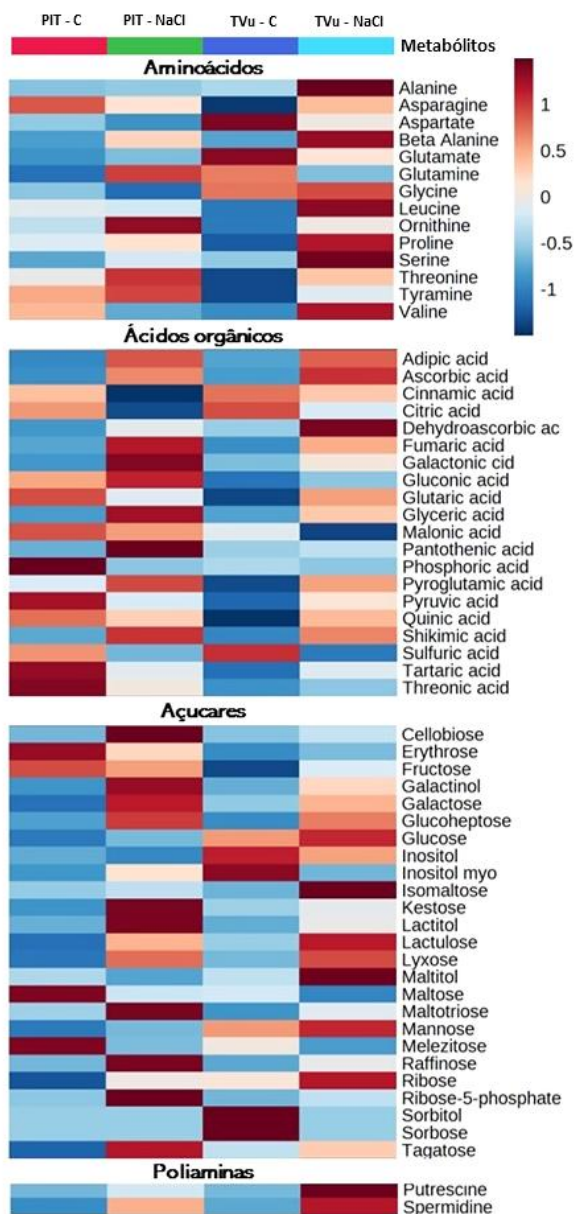


Figura 26: Mapa de calor (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 21 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

Já aos 28 DAS, a análise dos principais componentes explicou 29,9% da variância observada nos dados metabolômicos (Figura 27). Além disso, foi possível observar separação entre os grupos estresse e controle, para cada cultivar.

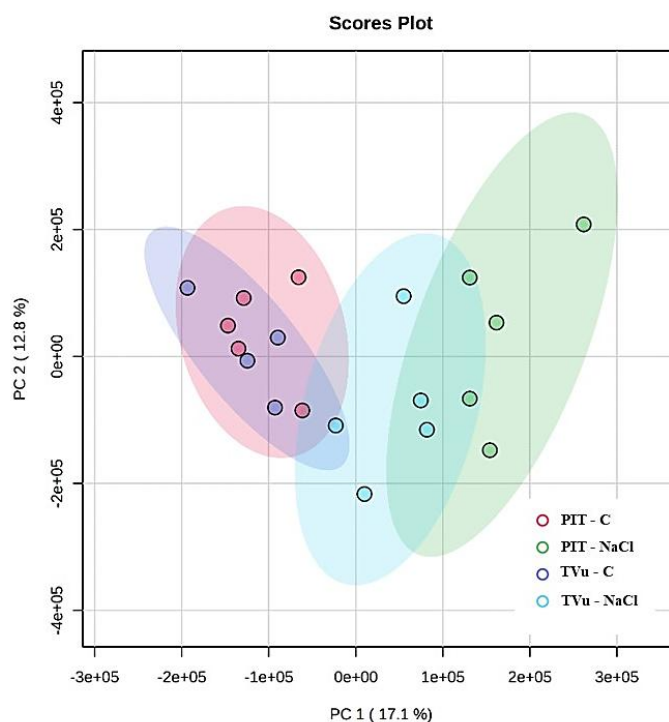


Figura 27: Análise de principais componentes (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 28 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

A análise do mapa de calor gerado pela análise do perfil metabólico das plantas aos 28 DAS (Figura 28) revela o comportamento de modulação das plantas ao final do período experimental. Para a cultivar TVu 2331, segundo a ANOVA ($p\text{-valor} < 0,05$) em comparação com o tratamento controle, a salinidade proporcionou diferença significativa na intensidade de apenas três metabólitos: o ácido adípico, a beta-alanina, e a glutamina. Por outro lado, em comparação com o tratamento controle, para a cultivar Pitiúba a salinidade modulou diferencialmente oito metabólitos. Esses metabólitos foram: ácido adípico, ribose-5-fosfafo, ácido glucônico, ácido ascórbico, ácido fumárico, ácido glicólico, celobiose e o lactitol.

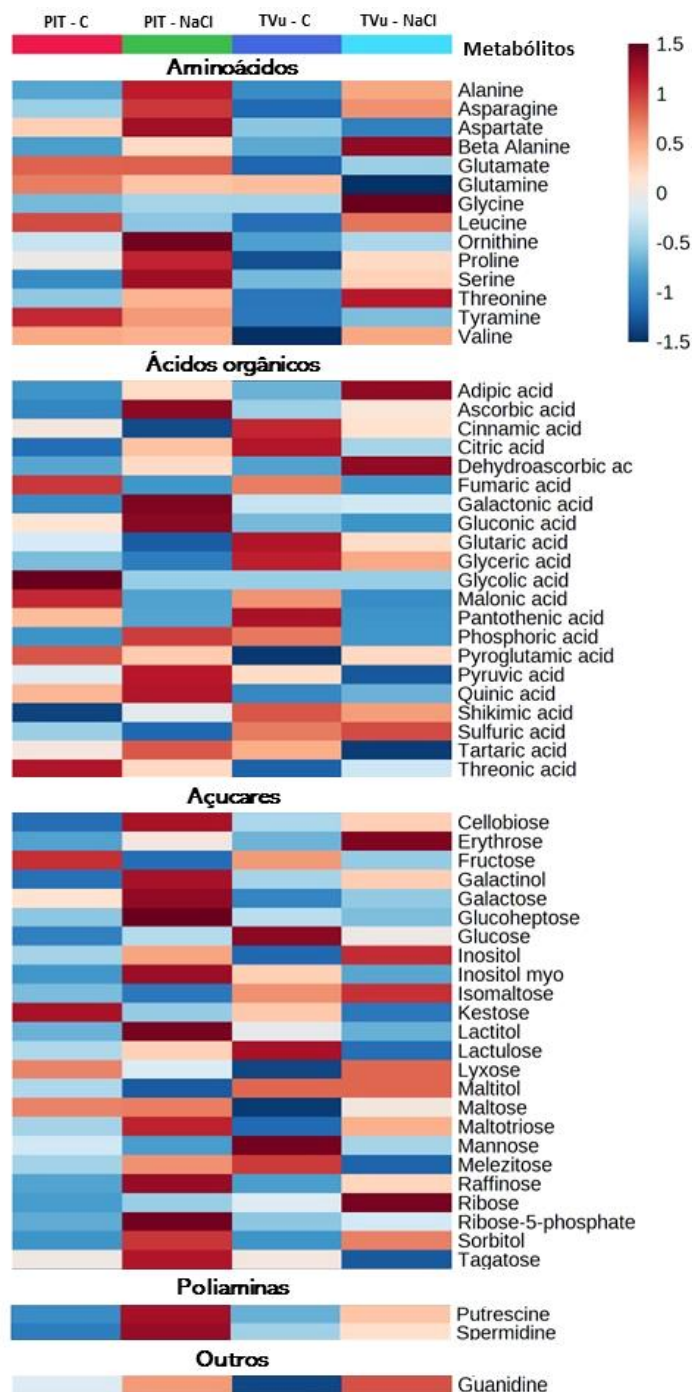


Figura 28: Mapa de calor (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 28 dias da semeadura, cultivar Pitiúba sob condições controle (PIT-C) e de estresse salino (PIT-NaCl) e cultivar TVu 2331 sob condições controle (TVu-C) e de estresse salino (TVu-NaCl).

Os principais componentes relacionados aos tratamentos controle, de estresse salino e de recuperação das cultivares TVu 2331 e Pitiúba explicaram 36,5% e 33,7% da variância observada, respectivamente (Figura 29). Notavelmente, para a cultivar TVu 2331, observou-se sobreposição entre todos os grupos analisados (Figura 29A). Em contraste, para a cultivar Pitiúba, os grupos associados aos tratamentos controle e salino exibiram separação evidente.

No entanto, o grupo vinculado ao tratamento de recuperação apresentou sobreposição com o tratamento controle e, em menor grau, com o tratamento salino (Figura 29B).

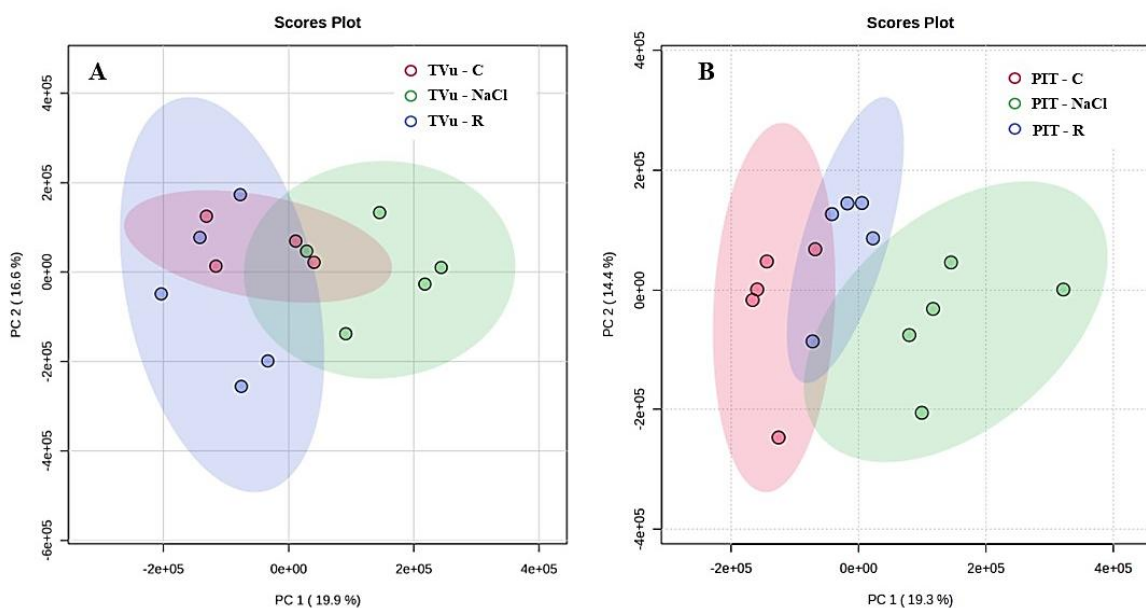


Figura 29: Análise de principais componentes (PC1 e PC2) do perfil metabólico de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 28 dias após a semeadura da cultivar TVu 2331 (A) sob condições controle (TVu-C), de estresse salino (TVu-NaCl) e após sete dias de recuperação do estresse (TVu-R) e da cultivar Pitiúba (B) sob condições controle (PIT-C), de estresse salino (PIT-NaCl) e após sete dias de recuperação do estresse (PIT-R).

A análise do mapa de calor do perfil metabolômico das folhas de plantas de feijão-caupi cultivares TVu 2331 e Pitiúba sob tratamento de recuperação (Figura 30), revelou quais metabólitos foram diferencialmente afetados pela remoção das plantas de ambas cultivares, das condições estressantes e deixadas por sete dias em condições controle. Para a cultivar TVu 2331 (Figura 30A), oito metabólitos apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos de recuperação e salino, foram eles: ácido glicólico, ácido adípico, guanidina, beta alanina, ácido láctico, questose, inositol e valina. Enquanto na cultivar Pitiúba (Figura 30B), 10 metabólitos apresentaram diferenças significativas, são eles: ácido láctico, ribose-5-fosfato, ácido ascórbico, prolina, ornitina, maltose, ácido adípico, ácido malônico, maltotriose e ácido glucônico.

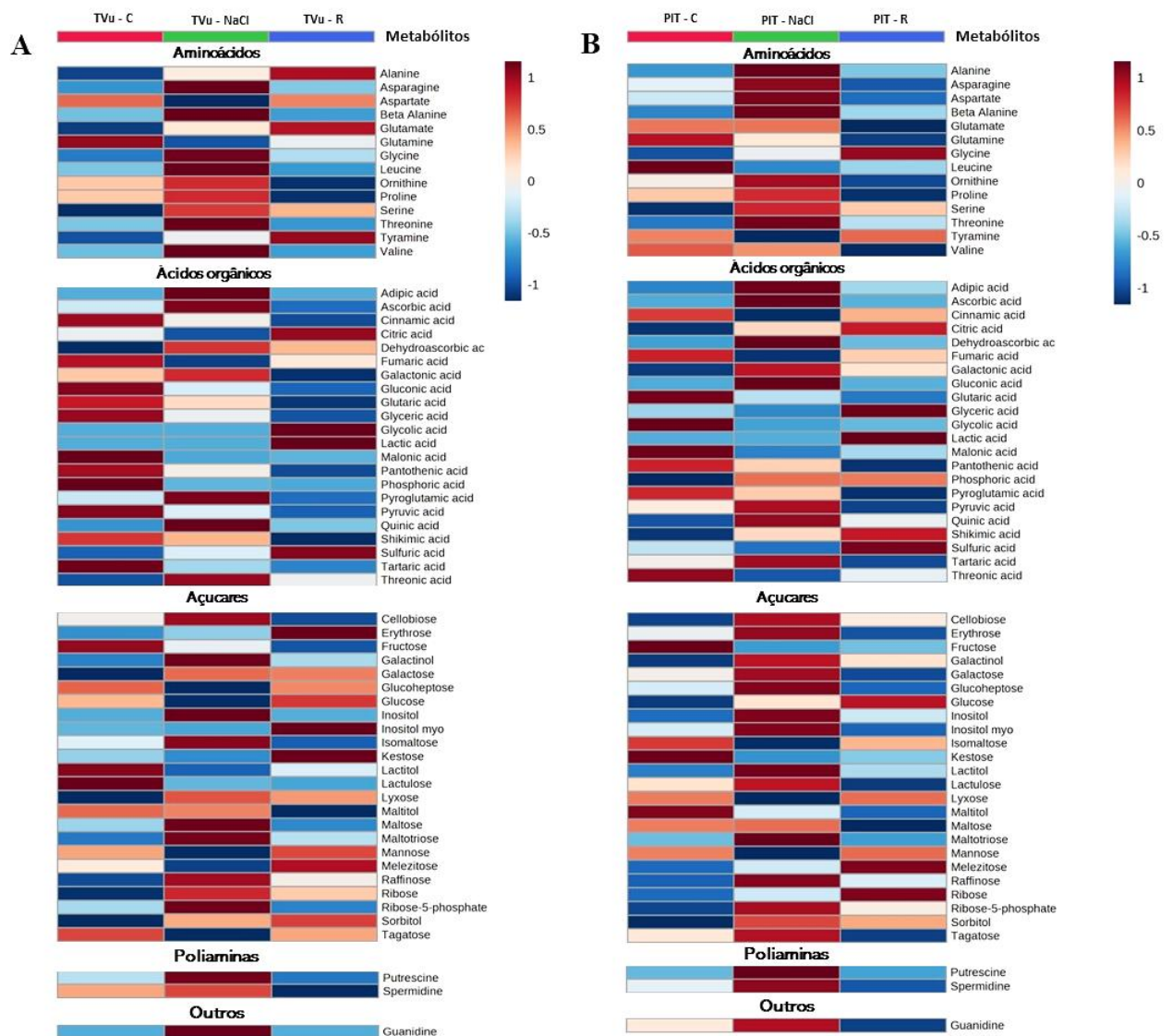


Figura 30: Mapa de calor dos perfis metabólicos de folhas de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), com 28 dias após a semeadura, cultivar TVu 2331 (A) sob condições controle (TVu-C), de estresse salino (TVu-NaCl) e após 7 dias de recuperação do estresse (TVu-R) e cultivar Pitiúba (B) sob condições controle (PIT-C), de estresse salino (PIT-NaCl) e após 7 dias de recuperação do estresse (PIT-R).

6.8 Atividade de enzimas do metabolismo das poliaminas: diamina oxidase e poliamina oxidase

A salinidade afetou diferencialmente as atividades das enzimas diamina oxidase (DAO), relacionada ao catabolismo da putrescina (Put), e da poliamina oxidase (PAO), relacionada ao catabolismo da espermina (Spm) e espermidina (Spd), em folhas de feijão-caupi de ambas as cultivares analisadas. De forma geral, a DAO apresentou maior atividade que a PAO, em ambas cultivares (Figura 31).

Na cultivar TVu 2331, a atividade da DAO não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos controle e salino, em nenhum dos tempos de análise (Figura 31A). Além, disso essa atividade mostrou-se decrescente ao longo do desenvolvimento das plantas. Já na cultivar Pitiúba, diferentemente do observado na cultivar TVu 2331, a salinidade aumentou de forma significativa a atividade da DAO, em todos os dias analisados, com exceção do 14º DAS (Figura 31B). Os aumentos foram de 203, 104 e 105%, aos 7, 21 e 28 DAS, respectivamente.

A salinidade, quando comparada ao tratamento controle, também aumentou significativamente a atividade da PAO, em ambas as cultivares estudadas (Figura 31C e D). Entretanto, embora o comportamento enzimático tenha sido semelhante, uma vez que ambas as cultivares apresentaram incrementos na atividade nos mesmos dias (7 e 21 DAS), a cultivar Pitiúba apresentou maior aumento, quando comparada com a cultivar TVu 2331. Os aumentos foram de 70 e 950% para TVu 2331, e 4980 e 1778% para Pitiúba, aos 7 e 21 DAS, respectivamente.

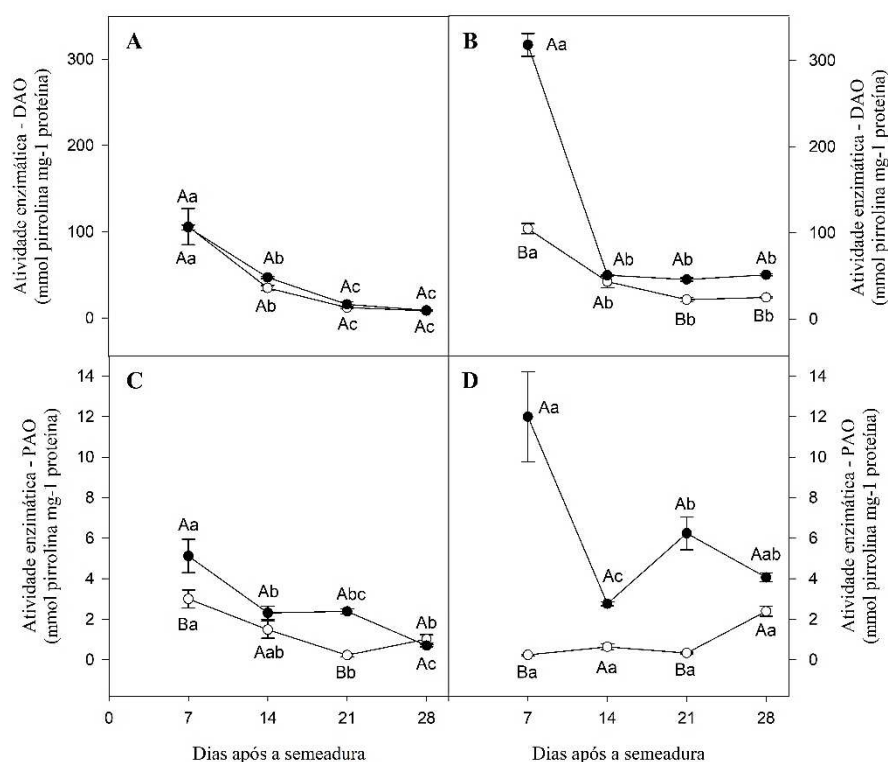


Figura 31: Atividade das enzimas diamina oxidase (DAO) e poliamina oxidase (PAO) em tecidos foliares de plantas de feijão caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A e C) e Pitiúba (B e D) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

As plantas da cultivar TVu 2331, após o tratamento de recuperação apresentaram alterações significativas na atividade da PAO, que atingiu valor similar ao encontrado nas plantas sob condições controle (Figura 32A). Em comparação às plantas que permaneceram sob estresse salino, as plantas dessa cultivar aumentaram sua atividade enzimática em 122%. Já na cultivar Pitiúba, não foi evidenciada alteração significativa para a atividade da PAO nas plantas submetidas ao tratamento de recuperação (Figura 32A), não sendo evidenciada diferença significativa entre as plantas desse tratamento e as plantas sob estresse salino.

Com relação à atividade da DAO nas plantas de feijão-caupi após o tratamento de recuperação do estresse, observou-se que as cultivares apresentaram comportamentos diferentes. Enquanto a cultivar TVu 2331 apresentou atividades da DAO diferentes para os três tratamentos, a cultivar Pitiúba apresentou comportamento diferencial entre os tratamentos (Figura 32B). Quando submetidas ao tratamento de recuperação, as plantas dessa cultivar, em comparação com as plantas sob condição estressantes, reduziram sua atividade em 36,7%.

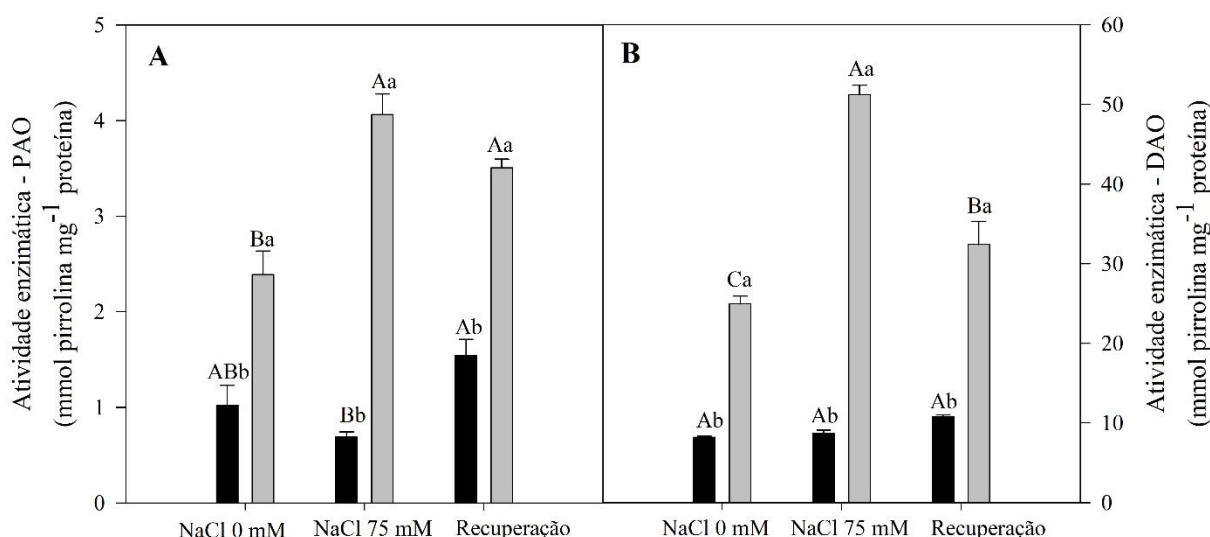


Figura 32: Atividade das enzimas diamina oxidase (DAO) e poliamina oxidase (PAO) em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 28 dias da semeadura, cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza), sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM) e com 7 dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e letras minúsculas comparam às médias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

6.9 Teores das poliaminas livres e conjugadas solúveis e insolúveis

A análise do conteúdo das PAs nos tecidos foliares revela que existe uma tendência dessas moléculas de apresentar incrementos em seus conteúdos nos dias iniciais de estresse salino, com posterior redução com o desenvolvimento fenológico das cultivares. Os teores de

cada PA, bem como os das formas conjugadas com que elas são encontradas, foram analisados separadamente.

Quanto aos teores foliares de Put em sua forma livre, a avaliação da exposição das plantas à salinidade revelou a ocorrência de um comportamento contrastante entre as plantas da cultivar TVu 2331 e as da cultivar Pitiúba (Figura 33A e B). Aos 7 DAS, ambas as cultivares não apresentaram diferenças significantes entre os teores de Put livre nas plantas do controle e as da condição salina. Entretanto, nessas condições, enquanto a cultivar TVu 2331 aumentou expressivamente os teores da diamina na forma livre, entre 7 e 14 DAS, a cultivar Pitiúba apresentou redução (Figura 33A e B). Além disso, na cultivar TVu 2331 o estresse salino em comparação com o tratamento controle, aumentou significativamente em 227 e 503% os níveis de Put na forma livre, aos 14 e 21 DAS, respectivamente. Esses valores, foram bem maiores que os observados para a cultivar Pitiúba. Todavia, ao final do período experimental, as plantas de ambas as cultivares modificaram seus teores de Put livre de tal forma, que não havia diferença significativa entre as expostas à salinidade e as sob a condição controle.

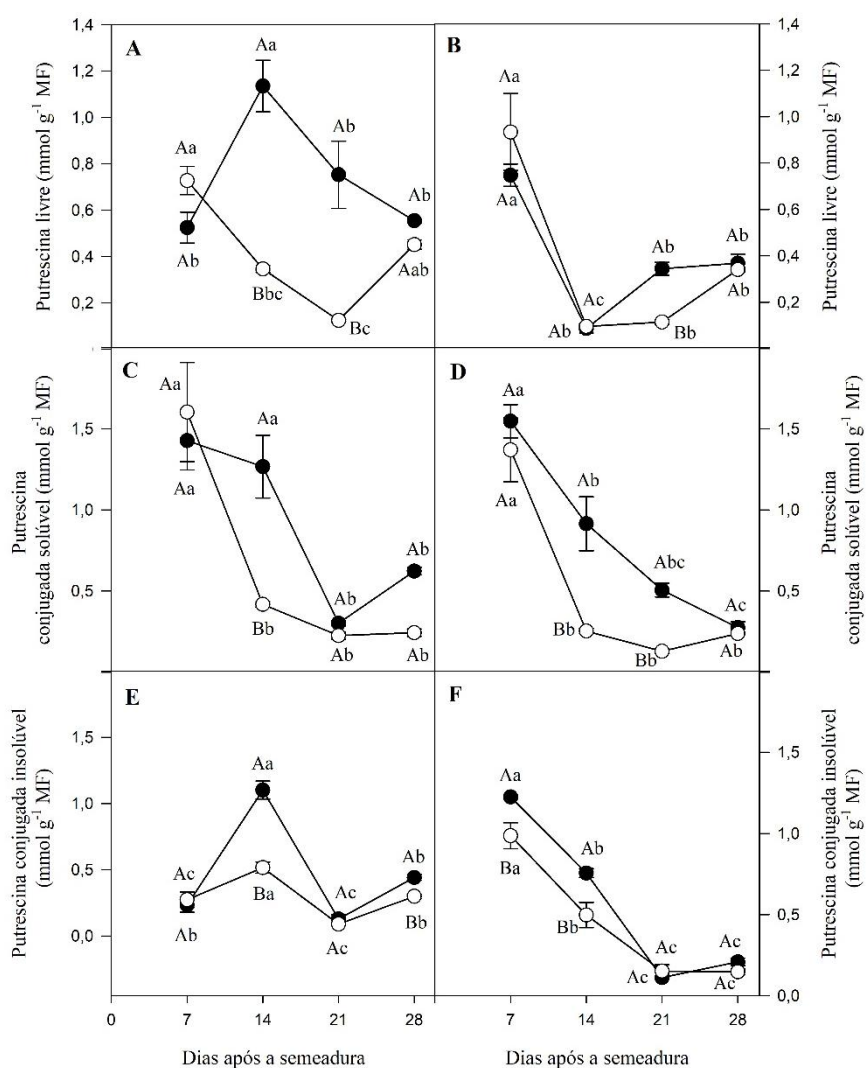


Figura 33: Teores de putrescina livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E, respectivamente) e Pitiúba (B, D e F, respectivamente) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●) aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Já os teores foliares de Put conjugada solúvel mostraram-se decrescentes com os dias após a semeadura, tanto sob condições controle quanto de salinidade nas duas cultivares (Figura 33C e D). Contudo, os teores dessa poliamina conjugada nas plantas sob salinidade foram maiores que os apresentados nas plantas controle, aos 14 e 28 DAS para a cultivar TVu 2331, com aumentos de 202 e 155%, respectivamente, e aos 14 e 21 DAS para a cultivar Pitiúba, com aumentos de 260 e 291%, respectivamente.

A forma conjugada insolúvel da Put apresentou comportamento semelhante ao observado para a forma livre. Enquanto a cultivar TVu 2331, em comparação as plantas expostas ao tratamento controle, apresentou aumento de 371% nos períodos iniciais (do 7º ao 14º DAS) de exposição ao estresse, a cultivar Pitiúba reduziu em 38% seus níveis de Put na forma conjugada insolúvel (Figura 33E e F). Entretanto, aos 21 DAS, ambas as cultivares apresentaram valores similares aos encontrados para o tratamento controle, não havendo diferença significativa entre os dois tratamentos. Ao final do período de exposição ao estresse apenas as plantas da cultivar TVu 2331 apresentaram aumento significativo no teor de Put conjugada insolúvel sob condição salina, sendo esse aumento de 47,6%.

Quanto ao conteúdo foliar de Spd na forma livre, os resultados mostraram que, na cultivar TVu 2331, foram maiores no tratamento salino que no controle, aos 7, 14 e 21 DAS (Figura 34). Os aumentos foram de 66,7, 27,3 e 24,2%, aos 7, 14 e 21 DAS, respectivamente. Aos 28 DAS não foram observadas diferenças estatísticas significantes entre as plantas sob salinidade e as submetidas ao tratamento controle. Por outro lado, a cultivar Pitiúba apresentou comportamento distinto (Figura 34B). Nos dias iniciais da exposição ao estresse, as plantas controle dessa cultivar apresentaram valores de Spd livre menores que os encontrados nas plantas sob condição estressante, entretanto, entre 14 e 21 DAS, as plantas sob salinidade apresentaram aumento de 186% dessa poliamina na forma livre, mantendo-se essa diferença significativa até o final do período experimental, aos 28 DAS.

A análise do conteúdo da forma conjugada solúvel da Spd revelou uma redução significativa em seus teores nas plantas submetidas ao tratamento controle da cultivar Tvu 2331, entre 7 e 14 DAS (Figura 34C). Já nas plantas sob estresse salino, foi observado aumento, para o mesmo período. Nesta cultivar, os níveis de Spd livre apresentaram redução entre 14 e 21

DAS, com posterior estabilização até final do período experimental, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos controle e salino, aos 28 DAS (Figura 34C). Para a cultivar Pitiúba, a modulação do conteúdo de Spd conjugada solúvel, tanto do tratamento controle quanto do tratamento estressante, apresentaram o mesmo comportamento. Aumentaram entre 7 e 14 DAS, e reduziram de forma gradativa com o desenvolvimento das plantas do 14º ao 28º DAS (Figura 34D). Entretanto, o conteúdo de Spd nessa forma, foi maior nas plantas sob condição salina, durante todos os dias analisados. Essa diferença a mais foi de 48, 99, 139 e 358% aos 7, 14, 21 e 28 DAS, respectivamente.

A Spd conjugada insolúvel foi modulada diferencialmente entre os tratamentos salino e controle, porém apenas nas plantas da cultivar Tvu 2331 (Figura 34E). Nessa cultivar, o estresse salino aumentou significativamente os teores dessa poliamina na forma conjugada insolúvel em 315, 1322 e 262% aos 7, 21 e 28 DAS, respectivamente. Para a cultivar Pitiúba não foram observadas diferenças significativas nos teores de Spd conjugada insolúvel entre os tratamentos ou entre os dias analisados (Figura 34F).

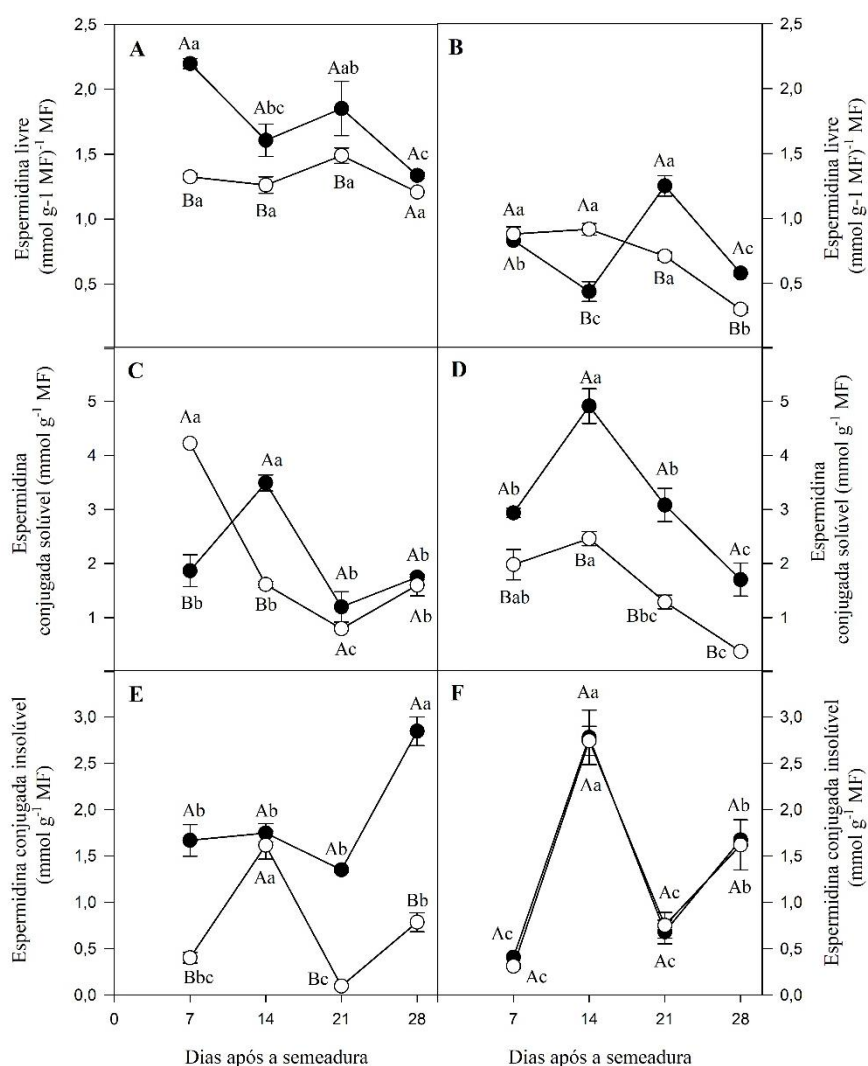


Figura 34: Teores de espermidina livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E, respectivamente) e Pitiúba (B, D e F, respectivamente) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●) aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Os teores foliares de Spm na forma livre, na cultivar TVu 2331, foram maiores em condições salinas aos 7 e 21 DAS, com aumentos de 105% e 242%, respectivamente (Figura 35A). Por outro lado, nos demais dias de avaliação, os teores dessa poliamina conjugada foram semelhantes aos observados nas plantas sob condição controle (Figura 35A). Já na cultivar Pitiúba foi observado aumento gradativo no conteúdo dessa poliamina conjugada até os 21 DAS, para ambos os tratamentos, sem ocorrência de diferença significativa entre eles (Figura 35B). Ao final do período experimental, aos 28 DAS, o teor de Spm conjugada manteve-se constante para as plantas sob tratamento salino, enquanto para as plantas sob condição controle houve uma redução. Aos 28 DAS o conteúdo de Spm conjugado foi 100% maior em condições salinas (Figura 35B).

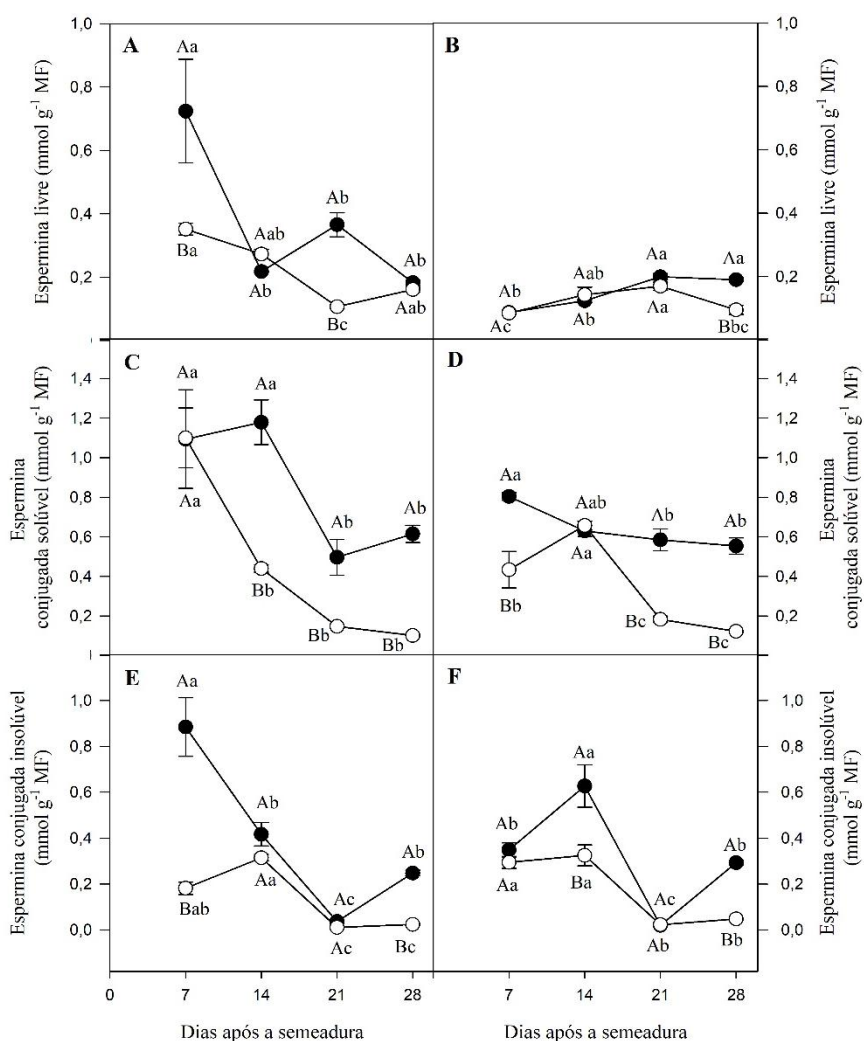


Figura 35: Teores de espermina livre, conjugada solúvel e conjugada insolúvel em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A, C e E, respectivamente) e Pitiúba (B, D e F, respectivamente) sob condições controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●) aos 7, 14, 21 e 28 após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Para a forma conjugada solúvel da Spm, a salinidade proporcionou valores maiores em comparação com o tratamento controle, para ambas as cultivares, em três dos quatro tempos de avaliação (Figura 35C e D). Para a cultivar Tvu 2331, os aumentos foram de 168, 236 e 503% aos 14, 21 e 28 DAS, respectivamente; e de 85, 218 e 350% aos 7, 21 e 28 DAS, respectivamente, para a cultivar Pitiúba.

Os teores foliares de Spm conjugada insolúvel nas plantas de feijão-caupi das duas cultivares sob condições controle tiveram comportamentos similares durante o desenvolvimento (Figura 35E e F). Contudo, em condições de estresse salino os comportamentos foram diferentes; enquanto as plantas da cultivar Tvu 2331 apresentaram redução significativa nos teores de espermina insolúvel do 7º ao 14º DAS, nesse mesmo período as da cultivar Pitiúba aumentaram. Daí até os 21 DAS, os teores dessa poliamina insolúvel nas plantas sob salinidade decresceram de forma similar em ambas as cultivares, quando em seguida aumentaram até o 28º DAS. Em condições de estresse, os teores dessa poliamina conjugada insolúvel foram superiores ao do controle aos 7 e 28 DAS para Tvu 2331 e aos 14 e 28 DAS para Pitiúba, sendo nos demais dias iguais (Figura 35, E e F).

Os teores foliares das diversas formas de poliaminas também foram determinados após período de 7 dias de recuperação do estresse salino, os quais foram comparados aos valores encontrados nas plantas sob condições controle e de estresse (Figura 36). Na cultivar Tvu 2331, após recuperação do estresse, os teores de Put, Spd e Spm nas formas livres aumentaram fortemente em relação aos das plantas controle ou de estresse (Figura 36A, D e G). De forma semelhante, na cultivar Pitiúba, também foram observados aumentos significativos em relação aos outros dois tratamentos. Para a cultivar Tvu 2331, em comparação com as plantas sob estresse salino, os aumentos foram de 31, 60 e 208% para Put, Spd e Spm, respectivamente, enquanto na cultivar Pitiúba os aumentos foram de 20, 55 e 51%.

Com relação às formas conjugadas solúveis das Pas, na cultivar Tvu 2331, o tratamento de recuperação causou aumento significativo, em relação ao tratamento salino, apenas no conteúdo de Put solúvel (Figura 36B). Já para a cultivar Pitiúba, sob o mesmo tratamento, foi notado um aumento tanto em Put, quanto em Spd (Figura 36B e E). Por outro lado, não foram observadas alterações significativas no conteúdo de Spm conjugada solúvel,

para ambas as cultivares (Figura 36H). Os aumentos observados nas plantas do tratamento de recuperação, com relação aos teores da forma conjugada solúvel da Put, foram de 18 e 133%, para Tvu 2331 e Pitiúba, respectivamente; e 64% para a Spd nas plantas da cultivar Pitiúba.

Para as formas conjugadas insolúveis, nota-se comportamento contrastante, entre o comportamento dos teores de Put conjugada, e o das outras duas Pas conjugadas, Spd e Spm (Figura 36C, F e I). No tratamento de recuperação, em relação ao salino, a Put conjugada insolúvel apresentou incremento significativo em ambas as cultivares analisadas (Figura 36C). Os aumentos foram de 47% para Tvu 2331 e 41% para Pitiúba. Já as formas conjugadas insolúveis da Spd e Spm, na cultivar Tvu 2331, quando submetidas ao tratamento de recuperação, tiveram seus teores reduzidos em 35 e 36%, respectivamente (Figura 36F e I), porém na cultivar Pitiúba, não foram observadas diferenças significativas para os teores de Spd entre os três tratamentos (Figura 36F). Já para Spm conjugada insolúvel houve uma redução de 36% em seus teores, em relação ao tratamento salino (Figura 36I).

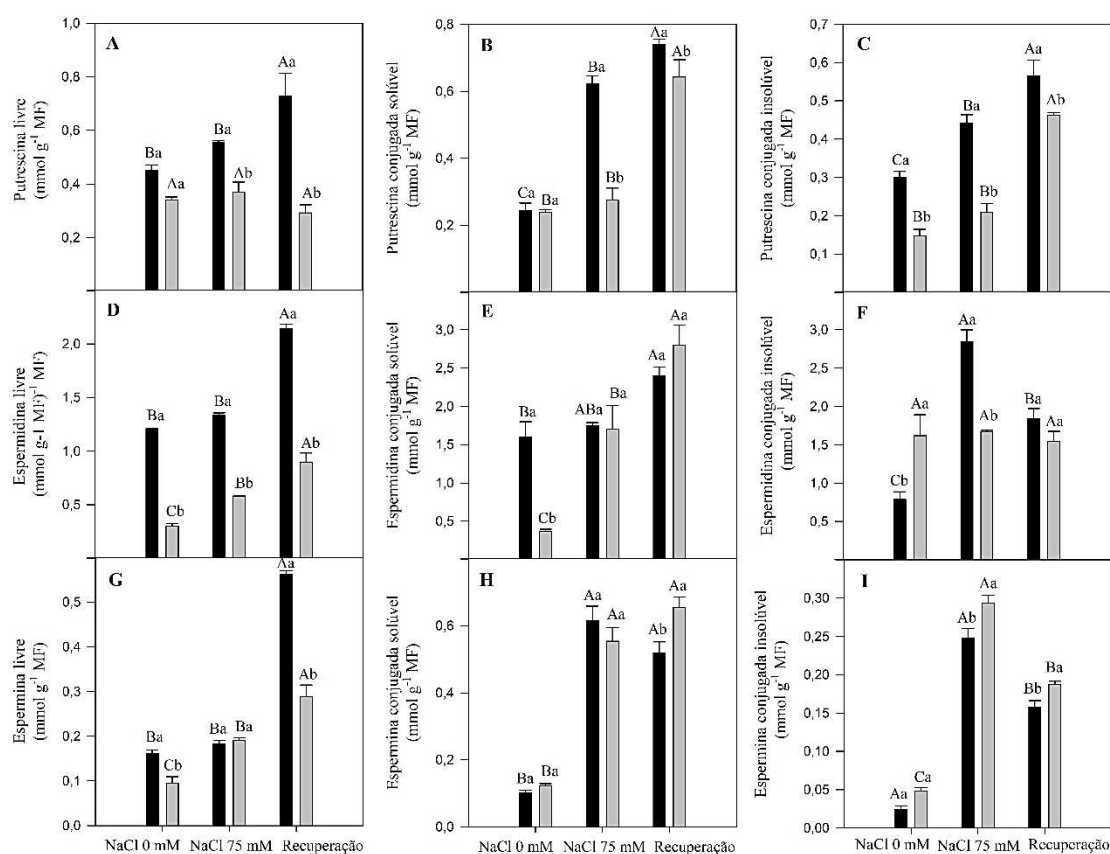


Figura 36: Teores de putrescina, espermidina e espermina, nas formas livre (A, D e G), conjugada solúvel (B, E e H) e conjugada insolúvel (C, F e I) de tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 28 dias após a semeadura, cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza) sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (75mM NaCl) e com 7 dias após a recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às medias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

De maneira geral, os teores foliares de poliaminas totais nas plantas de ambas as cultivares foram maiores nas submetidas ao tratamento salino, em comparação às plantas do controle (Figura 37). Para a cultivar TVu 2331, os aumentos foram de 78, 110 e 78%, aos 14, 21 e 28 DAS, respectivamente; e para Pitiúba, 22, 39, 95 e 77% aos 7, 14, 21 e 28 DAS.

Além disso, foi observado mesmo comportamento nos teores das Pas totais (Put + Spd + Spm) durante o desenvolvimento das plantas de ambas as cultivares, tanto para tratamento salino quanto para o tratamento controle (Figura 37). Ou seja, para o tratamento salino, foi observado incremento significativo entre 7 e 14 DAS, com redução gradativa entre os 14 e 28 DAS. Já para o tratamento controle, não se observou acúmulo inicial, mas redução gradativa nos teores das Pas, em paralelo com o desenvolvimento das culturas (dos 7 aos 28 DAS). Cabe destacar que, entre 21 e 28 DAS, houve uma diferença marcante entre as cultivares com relação aos teores de PAs: enquanto a cultivar Tvu apresentou aumento nos teores de PAs totais, a Pitiúba continuou a mostrar uma diminuição nesse período. Este comportamento foi evidenciado tanto no tratamento de estresse salino, quanto na condição controle.

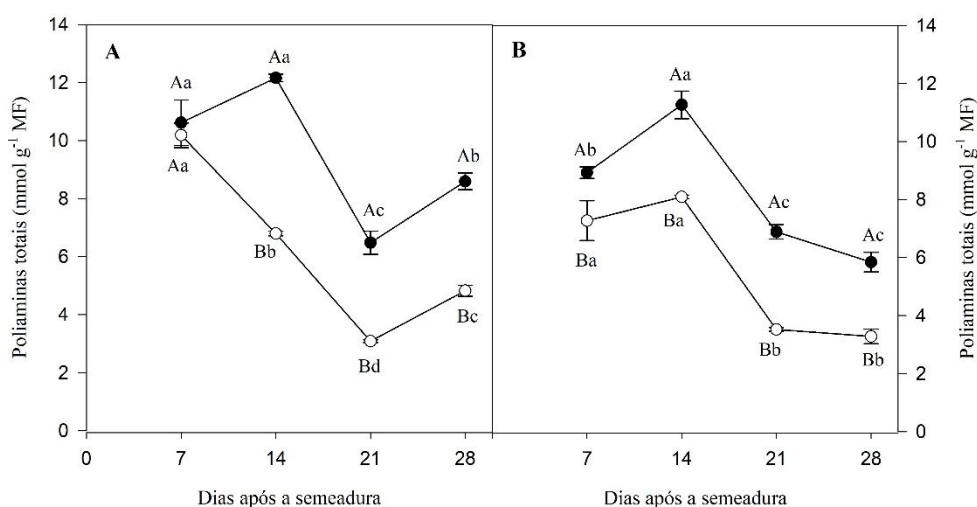


Figura 37: Teores de poliaminas totais em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), cultivares TVu 2331 (A) e Pitiúba (B) sob condições de controle (NaCl 0 mM; ○) e de estresse salino (NaCl 75 mM; ●) aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos para cada dia, e as letras minúsculas comparam as médias entre os dias, no mesmo tratamento. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

Após 7 dias de recuperação do estresse, os teores foliares de Pas totais foram os mesmos que em condições salinas, para a cultivar Tvu 2331, porém, maiores em 32,9% que em condições salinas (Figura 38). Por sua vez, os conteúdos de PAs totais nos tecidos foliares foram maiores em condições salinas que em condições controle, para ambas as cultivares.

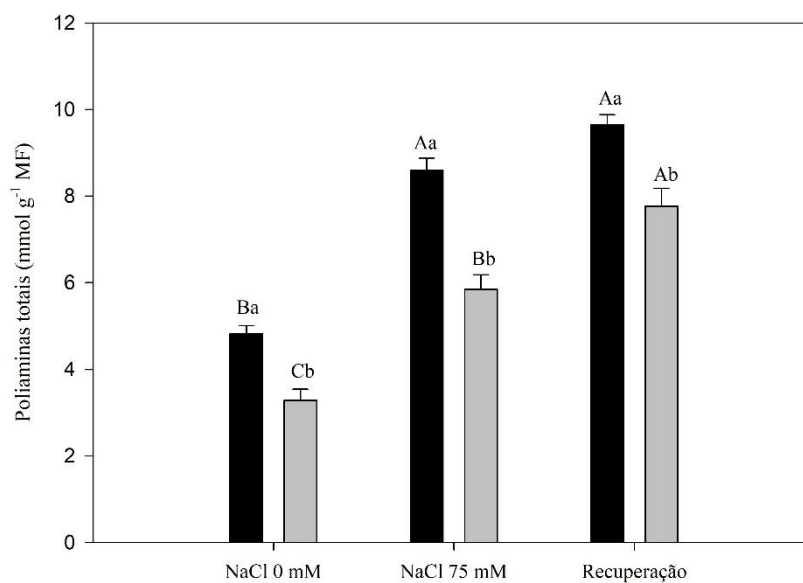


Figura 38: Teores de poliaminas totais em tecidos foliares de plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), aos 28 dias após a semeadura, cultivares TVu 2331 (barra preta) e Pitiúba (barra cinza) sob condições controle (NaCl 0 mM) e de estresse salino (NaCl 75 mM) e com 7 dias de recuperação do estresse. Letras maiúsculas comparam os valores das médias entre os tratamentos dentro de cada cultivar, e as letras minúsculas comparam às medias dos tratamentos entre os cultivares. Médias com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com $p < 0,05$. As barras verticais indicam o erro padrão, $n=5$.

7 DISCUSSÃO

7.1 Diferenças fenotípicas e fisiológicas entre as cultivares de feijão-caupi quanto a tolerância e capacidade de recuperação do estresse salino

Conforme foi observado, tanto Tvu 2331 quanto Pitiúba, sentiram os efeitos negativos do tratamento salino nos parâmetros biométricos de crescimento, como a área foliar e a produção de biomassa das plantas (Figuras 4 e 6), cujos efeitos são bem estabelecidos na literatura científica (Petretto *et al.*, 2019; Tanveer *et al.*, 2020; Çatav; Surgun-Acar; Zemheri-navruz, 2021; Javed *et al.*, 2022; Tourajzadeh *et al.*, 2023). Entretanto, de acordo com os resultados, diferente do que foi inicialmente proposto com bases na literatura (Costa *et al.*, 2003; Praxedes *et al.*, 2010; Abreu *et al.* 2014), fenotipicamente não foram notadas grandes diferenças que atestassem com exatidão qual das cultivares estudadas, se Tvu 2331 ou Pitiúba, possuía maior ou menor grau de tolerância à salinidade. Ainda que tenham sido observadas maiores reduções na área foliar da cultivar Tvu 2331 durante os dias desenvolvimento, o que talvez possa indicar uma maior dificuldade adaptativa desta cultivar ao tempo de exposição ao estresse salino, aos 28 DAS, final do experimento, não existiram grandes diferenças entre as duas cultivares. Além disso, para as análises de biomassa seca, as plantas de ambas cultivares só começaram a demonstrar quedas significantes após 21 dias de exposição ao estresse (Figura 6). Este comportamento deve-se ao fato de que o crescimento e as respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas variarem de acordo com a duração do estresse salino (Pompeiano *et al.*, 2017) e dependerem da fase de crescimento (Ludwiczak *et al.*, 2023). Todavia, assim como foi observado na área foliar das plantas, ao final do período experimental não existiram diferenças expressivas entre as reduções de massa e não houve diferenças quanto à capacidade de recuperação do estresse entre as cultivares estudadas.

Essas respostas morfológicas inesperadas nos parâmetros de crescimento, podem estar associadas a alta eficiência da maquinária fotossintética encontrada em ambas as cultivares, uma vez que as taxas de assimilação de carbono não foram afetadas pela salinidade até o 21º dia de experimento, apresentando inclusive maior taxa fotossintética nas plantas sob salinidade após 28 dias de exposição ao estresse (Figura 8). Em geral, as plantas têm sua taxa fotossintética reduzida sob estresse salino (Parida; Das, 2005; Yan *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2021; Ali *et al.*, 2022) entretanto, as plantas consideradas tolerantes ou adaptadas à salinidade, nessas condições, aumentam a taxa de assimilação de CO₂ e a eficiência instantânea de carboxilação (Hnilickova *et al.*, 2021; Praxedes *et al.*, 2022). Resultados semelhantes foram encontrados em

TVu 2331 e Pitiúba. Esse comportamento de maior eficiência de carboxilação nas plantas de ambas as cultivares sob estresse salino, foi confirmada pelo tratamento de recuperação (Figura 10F).

A alta concentração de sal no solo diminui o potencial hídrico e torna mais difícil para as plantas absorverem água (Lu; Fricke, 2023). Desta forma, visando reduzir a perda de água, as plantas tendem a reduzir a condutância estomática, e consequentemente as taxas transpiratórias, sendo provavelmente a primeira defesa da planta contra uma alta concentração de sais (Brugnoli; Lauteri, 1991). Este comportamento adaptativo foi observado tanto para Tvu 2331, quanto para Pitiúba (Figura 9A e B). Como consequência da redução na condutância estomática, a relação C_i/C_a também foi reduzida sob salinidade, indicando que a entrada de CO_2 nos estômatos foi afetada, para ambas as cultivares (Figura 9C e D). Entretanto, isto só ressalta de forma mais clara, a alta eficiência da maquinaria fotossintética dessas cultivares, uma vez que mesmo com menor captação de CO_2 pelos estômatos, a fotossíntese não foi limitada. Modificações nos elementos relacionados à difusão influenciam na condução do CO_2 das cavidades subestomáticas até os sítios de carboxilação, preservando as taxas fotossintéticas, mesmo em situações de baixa condutância estomática (Trabelsi *et al.*, 2019). Com exceção da fotossíntese líquida, que não foi afetada pelo tratamento salino, após tratamento de recuperação, ambas as cultivares foram capazes de reestabelecer seus parâmetros a valores similares aos encontrados nas plantas sob tratamento controle, reafirmando a similaridade entre essas cultivares quanto as respostas ao estresse salino.

A alta eficiência fotossintética das cultivares sob estresse salino está associada diretamente a eficiência quântica efetiva do fotossistema II ($\phi PSII$), uma vez que o PSII com sua estrutura multiprotéica é um dos componentes da maquinaria fotossintética que mais suporta o “peso” dos estresses abióticos (Gururani; Venkatesh; Tran, 2015). Desta forma, o funcionamento do PSII pode ser monitorado pelos índices de fluorescência da clorofila *a*, que incluem os parâmetros $\phi PSII$, ETR e qP, que representam a distribuição total de energia no centro de reação fotoquímica do PSII (Tsai *et al.*, 2019). Os valores mais altos registrados para ϕPII , ETR e qP nas plantas submetidas ao tratamento salino (Figura 11) “conversam” entre si, e indicam que as plantas de ambas as cultivares submetidas a essa condição, tiveram sua capacidade de converter a energia luminosa em energia química ($\phi PSII$) modulada positivamente, através da maior eficiência em transportar os elétrons provindos da fotólise da molécula de água (ETR) e da otimização da absorção de luz (qP). Além disso, segundo Pradhan *et al* (2018), em seus estudos conduzidos com arroz, esses parâmetros possibilitaram distinguir os genótipos com base na sua sensibilidade ao estresse salino. Cultivares apresentando melhores

índices, apresentavam melhor tolerância ao sal. Em nosso estudo, para estes parâmetros, de forma geral, houve um melhor desempenho da cultivar TVu 2331. Por outro lado, a cultivar Pitiúba apresentou aumento nesses parâmetros em todos os dias analisados, indicando que esta cultivar foi sensível ao estresse de forma mais precoce se comparada a cultivar TVu 2331, que necessitou de maior tempo de exposição para que pudesse modular esses parâmetros. Entretanto, a cultivar Pitiúba apresentou melhor recuperação (Figura 12).

Além da fotossíntese, o potencial osmótico celular foi outro parâmetro fisiológico importante que também foi alterado pelo estresse salino. Os valores mais negativos para o potencial osmótico sob salinidade, observados em ambas as cultivares (Figura 13), estão relacionados com a capacidade que as plantas têm em acumular metabólitos osmoprotetores ou íons no vacúolo, que tendem a manter a homeostase osmótica das células e consequentemente o turgor celular (Blum, 2017). Conforme aumentam as concentrações dos íons Na^+ nos tecidos foliares (Figura 17), as plantas tendem a acumular mais osmorreguladores, na tentativa de evitar a perda de água para o meio extracelular e mitigar o estresse iônico e osmótico causado por esse íon (Munns; Gilliam, 2015). Comportamento semelhante também foi observado em plantas, como quinoa (Cai; Gao, 2020), milho (Tang *et al.*, 2019), trigo (Kumari *et al.*, 2023) e feijão (Sofy; Elhswat; Alshaal, 2020).

Estes fatores em conjunto, também possuem influência na redução do peso seco sob condições de estresse salino através do desvio de energia dos processos de crescimento para excluir a absorção de Na^+ , e sintetizar esses solutos compatíveis (Amorim *et al.*, 2023).

Além do maior acúmulo de osmoprotetores em resposta à salinidade, as plantas de ambas as cultivares também apresentaram aumento nos teores de MDA (Figura 19), o que sugere maior peroxidação dos lipídios de membrana. A cultivar Pitiúba, em relação à cultivar TVu 2331, apresentou maiores teores tanto de íons Na^+ quanto de MDA (Figuras 18 e 19). Estes valores parecem estar relacionados, uma vez que após 28 dias de exposição ao estresse, apenas a cultivar Pitiúba apresentou diferenças significativas entre os tratamentos controle e salino para os valores de MDA. Estes resultados relacionam-se ao fato dos íons Na^+ em excesso promoverem acúmulo excessivo de espécies reativas de oxigênio (EROS), que perturbam a homeostase redox e promovem danos às membranas (Kapoor *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017;; Mansoor *et al.*, 2022).

Desta forma, semelhantemente aos parâmetros morfológicos, as análises fisiológicas (bem como dos seus potenciais de recuperação) demonstraram semelhanças entre as cultivares estudadas quanto as respostas ao estresse salino, indicando a necessidade de uma investigação mais aprofundada quanto ao estabelecimento da existência de tolerância

diferencial entre TVu 2331 e Pitiúba. Esta necessidade de mais estudos é atestada pela existência de trabalhos que mostram TVu 2331 como sendo tolerante (Maia, 2012; Lima, 2017), e outros que afirmam que a tolerância a salinidade é característica intrínseca da cultivar Pitiúba (Costa *et al.*, 2003; Praxedes *et al.*, 2010; Abreu *et al.*, 2014). É possível, por outro lado, que os resultados diferentes se devam às diferenças nas condições ambientais nas quais os experimentos são conduzidos (Filho *et al.*, 2016), bem como do tempo de exposição das plantas ao estresse e/ou doses de sal diferentes.

7.2 Metabólitos diferencialmente acumulados em folhas de feijão-caupi em resposta à salinidade

Metabólitos pertencentes às mais diversas classes demonstram relevância fundamental nos mecanismos subjacentes à tolerância à salinidade (Al Kharusi *et al.*, 2021). Sob condição salina, as plantas regulam de forma positiva ou negativa uma ampla gama de metabólitos, os quais desempenham funções protetoras e impedem os efeitos nocivos da salinidade (Kumari *et al.*, 2015).

O tratamento salino alterou o perfil metabólico de ambas as cultivares em todos os dias analisados (Figuras 22, 24, 26 e 28). As classes químicas que tiveram significativamente mais metabólitos diferencialmente modulados foram os açúcares, os ácidos orgânicos e os aminoácidos. Sob salinidade, os açúcares apresentaram modulação positiva em ambas as cultivares estudadas, alinhando-se com observações prévias que destacaram essa resposta como uma adaptação ao estresse salino (Sui *et al.*, 2015; Hossain *et al.*, 2017; Al Kharusi *et al.*, 2019; Bouras *et al.*, 2021; Rostampour *et al.*, 2023). Segundo Saddhe, Manuka e Penna (2021), em condições estressantes os açúcares desempenham um papel crucial na percepção e sinalização do estresse, e têm um papel essencial na orquestração de respostas adaptativas, incluindo ajuste osmótico, neutralização de EROs e manutenção do status de energia celular.

Dentre os açúcares que foram modulados positivamente pela salinidade, destacam-se o lactitol, na cultivar Pitiúba (presente em todos os dias analisados), rafinose e maltotriose, comuns para as duas cultivares estudadas, aos 14 e 21 DAS (Figuras 24 e 26). Aumentos no conteúdo de lactitol em condições salinas também foi observado em culturas, como a soja (Lu *et al.*, 2013), a batata (Chourasia *et al.*, 2021) e o milho (Joshi *et al.*, 2021). Polióis, como o lactitol, sorbitol, manitol, xilitol e maltitol, além de atuarem como solutos compatíveis e osmoprotetores, também agem como compostos eliminadores de EROs (gupta *et al.*, 2014). Em adição ao lactitol, a rafinose também auxilia a planta na tentativa de manter o equilíbrio

osmótico e antioxidante. Segundo Liu *et al* (2021), os oligossacarídeos da família da rafinose desempenham papel importante nos mecanismos regulatórios de tolerância ao estresse abiótico. George *et al* (2018), sugerem que o papel fundamental desses oligossacarídeos, tais como o galactinol e a rafinose na tolerância ao estresse salino, se dá possivelmente através da osmoproteção e eliminação dos radicais livres hidroxis. O acúmulo de maltotriose, em condições de salinidade, também foi observado por Wang *et al* (2023), através de análise do transcriptoma e metaboloma, sendo observado aumento na expressão de genes relacionados às vias de síntese desse açúcar, e que seriam regulados positivamente sob estresse salino. Segundo Da Costa *et al.* (2022), a maltotriose é gerada como um subproduto da ação da β -amilase, o qual por meio de reações enzimáticas pode ser transformado em maltose e glicose. Portanto, a maltotriose está diretamente associada ao metabolismo dos carboidratos, desempenhando um papel essencial no fornecimento de energia durante situações de estresse.

Por outro lado, diferente do comportamento observado para os açúcares, os ácidos orgânicos não demonstraram uniformidade no padrão de regulação, em ambas as cultivares e nos dias analisados. Sendo o padrão de modulação, positiva ou negativa, definido pela via a qual o ácido está relacionado. Por exemplo, enquanto os ácidos cinâmico, fumárico e treônico são modulados negativamente, os ácidos ascórbicos e adípico são modulados positivamente, em resposta a salinidade.

O ácido cinâmico está diretamente relacionado ao metabolismo dos fenilpropanóides e ao processo de lignificação (Kahn; Durst, 2000; Rossi *et al.*, 2016; Marchiosi *et al.*, 2020). Desta forma, uma redução nos teores de ácido cinâmico quando as plantas estão sob condições salinas pode sugerir uma diminuição na produção desses compostos derivados desse ácido. Entretanto, segundo Calzone *et al* (2023), sob estresse salino, as plantas podem “eliminar” a necessidade de reajuste nos teores de fenilpropanóides, caso os níveis constitutivos de fenólicos/polifenólicos sejam adequados para lidar com as alterações ambientais. Quanto às reduções nos teores de ácido fumárico, resultados semelhantes também foram observados em estudos conduzidos por Kusuda *et al* (2015) e Anzano *et al* (2021). Por se tratar de um intermediário metabólico do ciclo do ácido cítrico, esses resultados indicam que este ciclo foi afetado pelo estresse salino (Guo *et al.*, 2015). Já o ácido treônico atua como um intermediário do metabolismo do ascorbato, sendo sua redução relacionada ao aumento nos níveis de ácido ascórbico. Essa relação está associada à intensificação da ativação da via do ascorbato como resposta ao estresse salino (Françoso, *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2018). Segundo Igamberdiev e Eprintsev (2016), além de funções específicas, os ácidos orgânicos desempenham papéis cruciais na manutenção do equilíbrio redox, na produção e consumo de ATP, no suporte de

gradientes protônicos e iônicos nas membranas, bem como na acidificação de espaços extracelulares.

O grupo dos aminoácidos foi aquele com menos metabólitos diferencialmente modulados em ambas as cultivares (Figuras 22, 24, 26 e 28). Para essa classe, foi observado aumento significativo em seus teores em resposta ao tratamento salino. De acordo com Planchet e Limami (2015), em resposta a restrições ambientais o metabolismo dos aminoácidos desempenha um importante papel regulador e sinalizador, atuando como precursores de metabólitos associados ao metabolismo energético, e de numerosos metabólitos secundários, que têm diversas funções no crescimento das plantas e nas respostas adaptativas a diversos estresses. Wu *et al* (2020) apontam o acúmulo de aminoácidos livres como estratégia crucial para aumentar a tolerância ao estresse salino. Dentre os aminoácidos que apresentaram aumentos significativos em tecidos de folhas de plantas de feijão-caupi, destacam-se a β -alanina e a ornitina (devido a frequência desses metabólitos entre os cultivares e os dias analisados).

Segundo Parthasarathy, Savka e Hudson (2019), a β -alanina pode atuar diretamente ou indiretamente na fisiologia e defesa das plantas contra diversos estresses. Ela pode ser convertida em β -alanina betaína, que desempenha funções protetoras adicionais, como na tolerância aos sais e na formação de homoglutationa, que pode ser crucial para o processo de fixação de nitrogênio. Já o aumento em ornitina, pode estar relacionado com a osmoproteção, através da síntese de prolina (Da Rocha *et al.*, 2012) ou na biossíntese de PAs (Anwar *et al.*, 2018), haja vista sua ação como precursora. Esse resultado corrobora com o aumento das PAs observado nas plantas sob salinidade (Figura 37).

Pelo tratamento de recuperação do estresse salino das plantas de feijão-caupi, foi possível observar que os açúcares e os aminoácidos que haviam aumentado sob tratamento salino tiveram seus teores reduzidos em comparação aos das plantas sob salinidade (Figura 30). Segundo Batista-Silva *et al* (2019), ao retornarem a condições de crescimento mais favoráveis, as plantas reprogramam seu metabolismo, transitando de um estado de sobrevivência para um de crescimento ativo. Portanto, não apenas as adaptações metabólicas às condições de estresse, mas também a eficácia na retomada do crescimento após a liberação do estresse influenciaram o desenvolvimento das plantas.

Um outro resultado bastante interessante observado no tratamento de recuperação, foi a presença do ácido láctico, que foi identificado apenas para esta condição (Figura 30), sugerindo assim a ligação desse metabólito com a capacidade de recuperação das plantas de ambientes estressantes. Entretanto, não há na literatura trabalhos que tenham estudado a função e o metabolismo do ácido láctico nessas condições de recuperação das plantas do estresse salino,

destacando a necessidade de investigações adicionais para compreender totalmente o papel desse ácido nesse contexto.

7.3 Catabolismo e modulação do conteúdo endógeno das poliaminas em cultivares de feijão-caupi sob estresse salino

Em geral, as análises feitas durante o período experimental evidenciaram que o tratamento salino promoveu aumento nos teores das poliaminas Put, Spd e Spm em ambas as cultivares (Figuras 31, 32 e 33), resultado corroborado pelo grande aumento no conteúdo de poliaminas totais nas folhas de ambas cultivares sob estresse salino, em relação ao controle (Figura 35). Estes resultados corroboram com os estudos conduzidos por Li *et al* (2022), em 37 genótipos de trevo branco, que também relataram acúmulo significativos no total de PAs nos genótipos tolerantes ao sal, e diminuição significativa nos genótipos sensíveis, em comparação com condições normais. Da mesma forma, Li *et al* (2017), atestaram que o estresse salino aumentou os níveis de Spd, Spm e Put nas formas conjugadas solúveis e insolúveis em cultivares da gramínea *Zoysia* (*Zoysia japonica* Steud.).

Em alguns dias, não foram notadas disparidades notáveis nos níveis de PAs livres em plantas sujeitas ao tratamento controle, em comparação com aquelas sob condições de salinidade (Figuras 31, 32 e 33). Este comportamento pode ser atribuído ao aumento significativo das PAs em outras formas, seja na forma conjugada solúvel ou insolúvel, durante esses dias. Segundo Mustafavi *et al* (2018), a formação de PAs conjugadas é proposta como um elemento essencial na regulação dos níveis de PAs livres, controlando a concentração intracelular, e pode contribuir de maneira indireta para o desenvolvimento e regulação da tolerância à estresses abióticos.

Tanto em TVu 2331, quanto em Pitiúba sob estresse salino, a Spd (na forma livre e/ou conjugada) foi a PA que apresentou maiores teores entre as estudadas, com valores variando entre 0 e 5 mmol g⁻¹ MF, enquanto Put e Spm livres e/ou conjugadas exibiram teores variando entre 0 e 1,5 mmol g⁻¹ MF (Figuras 31, 32 e 33). Em TVu 2331, a ausência de diferença significativa entre os tratamentos salino e controle para a atividade da DAO (Figura 29A) e o aumento significativo da atividade da PAO, indicam que o maior acúmulo da Spd foi causado pela oxidação de Spm. Já em Pitiúba, tanto DAO quanto PAO apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, sugerindo que o aumento de Spd para esta cultivar foi regulado devido a oxidação tanto de Put quanto de Spm (Tavladoraki; Cona; Angelini, 2016; Upadhyay *et al.*, 2021).

O equilíbrio entre a síntese e a oxidação das PAs é um processo fisiológico fundamental e complexo para as plantas sob condições normais e de estresse (Antoniou *et al.*, 2021). Segundo Pang *et al* (2007), níveis elevados de Spd, em detrimento de Put, apresentam correlação com a resposta das plantas à salinidade durante períodos prolongados de estresse salino. Resultados semelhantes a estes também foram observados por Roychoudhury, Basu e Sengupta (2011), em plantas de arroz sob estresse salino, nas quais o *pool* de Put foi direcionado para a síntese de Spd, relacionando o aumento de Spd com a conversão de Put. Segundo Wu *et al* (2022), plantas de *Arabidopsis* superexpressando o gene da PAO, *CsPAO2*, foram eficientes na conversão reversa de Spd, proporcionando uma maior relação (Spd + Spm)/Put e consequentemente ajudando as plantas a tolerar à salinidade.

Na cultivar Pitiúba, com exceção de Put livre, Spd e Spm conjugadas insolúveis (Figura 34A, F e I) e de Spd e Spm conjugadas insolúveis em TVu 2331 (Figura 34F e I), todas as outras formas das PAs mantiveram ou aumentaram seus teores endógenos após o período de 7 dias de recuperação do estresse salino. Em conjunto, esse comportamento culminou na manutenção, no caso da cultivar TVu 2331, e aumento, no caso da cultivar Pitiúba, dos teores de PAs totais nas plantas submetidas ao tratamento de recuperação.

O aumento nos níveis de poliaminas mesmo após a remoção das plantas da condição salina sugere que o estresse pode induzir alterações duradouras na regulação das PAs. Segundo Khan *et al* (2022), quando as plantas são submetidas a um tratamento de estresse leve ou subletal, e podendo se recuperar do estresse, elas formam uma “memória”. Daí, a exposição prolongada das plantas de feijão-caupi de ambas as cultivares ao estresse salino pode ter agido como *priming*, e as plantas podem ter modulado seus níveis de PAs de forma prolongada, permitindo que otimizem suas respostas a exposições subsequentes (Minocha; Majumdar; Minocha, 2014).

Ademais, por mais que os resultados observados na modulação do conteúdo das PAs frente ao tratamento de recuperação sejam interessantes, a literatura disponível ainda carece de informações que esclareçam de maneira clara essa relação. Portanto, a compreensão completa dessa interação requer investigações adicionais e estudos mais aprofundados.

9 CONCLUSÕES

Apesar da ausência de diferenças fenotípicas aparentes entre TVu 2331 e Pitiúba, ambas demonstraram alta eficiência fotossintética mesmo sob condição salina. A análise dos parâmetros aos 7, 14, 21 e 28 DAS ajuda a entender como se dá a aclimação fisiológica, bioquímica e metabólica das plantas quando estas desenvolvem-se em ambientes estressantes. A manutenção da assimilação de CO₂, a redução na condutância estomática, o acúmulo de osmólitos e os teores aumentados das poliaminas sugerem estratégias de resposta e aclimação ao estresse. A análise metabólica destaca a importância dos açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos na aclimação das duas cultivares ao estresse salino. Além disso, o aumento significativo das PAs na forma livre, conjugada solúvel e insolúvel, indica um papel crucial desses metabólitos na “luta” das plantas em aclimatar-se ao estresse. A presença do ácido láctico apenas nos perfis metabólicos das plantas sob tratamento de recuperação, sugere a relação crucial deste metabólito nesse processo. Entretanto, a função específica do ácido láctico nesse contexto requer investigações adicionais, pois não foi encontrado na literatura disponível explicações direta para sua presença durante a recuperação do estresse salino em plantas de feijão-caupi. O padrão de recuperação, com destaque para os níveis duradouros de PAs após a cessação do estresse, sugere uma possível relação entre as PAs e a "memória do estresse" das plantas, que pode ter influência em respostas subsequentes. No entanto, existe a necessidade de pesquisas mais aprofundadas, para que se possa entender quais os mecanismos moleculares e/ou bioquímicos envolvidos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. *et al.* Characterizing soil salinity in irrigated agriculture using a remote sensing approach. **Physics and chemistry of the Earth**, Parts A/B/C, [s.l.], v. 55, p. 43-52, 2013.
- ABDENNOUR, M. A. *et al.* Geochemical characterization of the salinity of irrigated soils in arid regions (Biskra, SE Algeria). **Acta Geochim**, n. 40, [s.l.], p. 234–250, 2021.
- AKHTER, N. *et al.* Salt ions mediated changes in biochemical and anatomical characteristics of Brassica napus can be countered with Moringa Leaf extract. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 156, p. 352-364, 2023.
- AL KHARUSI, L. *et al.* Comparative metabolic profiling of two contrasting date palm genotypes under salinity. **Plant Molecular Biology Reporter**, [s.l.], v. 39, p. 351-363, 2021.
- AL KHARUSI, L. *et al.* Comparative water relations of two contrasting date palm genotypes under salinity. **International Journal of Agronomy**, [s.l.], v. 2019, p. 1-16, 2019.
- AL-MUSHHIN, Amina AM. Interactive effect of potassium and spermidine protects growth, photosynthesis and chlorophyll biosynthesis in Vigna angularis from salinity induced damage by up-regulating the tolerance mechanisms. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, [s.l.], v. 50, n. 1, p. 12607-12607, 2022.
- ALCÁZAR, R. *et al.* Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. **Biotechnology letters**, [s.l.], v. 28, n. 23, p. 1867-1876, 2006.
- ALEXIEVA, V. *et al.* The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, [s.l.], v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.
- ALGHAMDI, S. S. *et al.* Biochemical and molecular characterization of cowpea landraces using seed storage proteins and SRAP marker patterns. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 74-82, 2019.
- ALI, L. *et al.* Growth, photosynthesis and antioxidant enzyme modulations in broccoli (Brassica oleracea L. var. italica) under salinity stress. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 148, p. 104-111, 2022.
- ALKHARABSHEH, H. M. *et al.* Field crop responses and management strategies to mitigate soil salinity in modern agriculture: A review. **Agronomy**, [s.l.], v. 11, n. 11, p. 2299, 2021.
- ALMEIDA, W. S. D. *et al.* Identificação de genótipos de feijão-caupi tolerantes à salinidade avaliados por meio de método multivariado. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 41, p. 1884-1889, 2011.
- AMORIM, T. L. *et al.* Resistant rootstocks mitigate ionic toxicity with beneficial effects for growth and photosynthesis in grapevine grafted plants under salinity. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 317, p. 112053, 2023.
- ANTONIOU, C. *et al.* Involvement of polyamine metabolism in the response of Medicago truncatula genotypes to salt stress. **Plants**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 269, 2021.

ANWAR, A. *et al.* Biological roles of ornithine aminotransferase (OAT) in plant stress tolerance: present progress and future perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 11, p. 3681, 2018.

ANZANO, A. *et al.* Plant metabolomics in biotic and abiotic stress: a critical overview. **Phytochemistry Reviews**, [s.l.], p. 1-22, 2021.

ASIJA, S. *et al.* Polyamines and Their Crosstalk with Phytohormones in the Regulation of Plant Defense Responses, **J Plant Growth Regul.** [s.l.], 2022.

ASKARI, M. *et al.* Exogenous melatonin application stimulates growth, photosynthetic pigments and antioxidant potential of white beans under salinity stress. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 160, p. 219-228, 2023.

BAI, X. *et al.* Effects of moderate soil salinity on osmotic adjustment and energy strategy in soybean under drought stress. **Plant physiology and biochemistry**, [s.l.], v. 139, p. 307-313, 2019.

BANIASADI, F; SAFFARI, V. R; MOUD, A. A. M. Physiological and growth responses of *Calendula officinalis* L. plants to the interaction effects of polyamines and salt stress. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 234, p. 312-317, 2018.

BAO, A. K. *et al.* Co-expression of xerophyte *Zygophyllum xanthoxylum* ZxNHX and ZxVP1-1 enhances salt and drought tolerance in transgenic *Lotus corniculatus* by increasing cations accumulation. **Functional Plant Biology**, [s.l.], v. 41, p. 203-214, 2014.

BARROS, J. R. A. *et al.* Selection of cowpea cultivars for high temperature tolerance: physiological, biochemical and yield aspects. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [s.l.], v. 27, p. 29-38, 2021.

BATISTA-SILVA, W. *et al.* The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. **Plant, cell & environment**, [s.l.], v. 42, n. 5, p. 1630-1644, 2019.

BENITO, B. *et al.* The twins K⁺ and Na⁺ in plants. **Journal of plant physiology**, [s.l.], v. 171, n. 9, p. 723-731, 2014.

BENJAMIN, J. J. *et al.* Metabolomic insights into the mechanisms underlying tolerance to salinity in different halophytes. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 135, p. 528-545, 2019.

BLUM, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. **Plant, cell & environment**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 4-10, 2017.

BIONDI, S. *et al.* The polyamine “multiverse” and stress mitigation in crops: A case study with seed priming in quinoa. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 304, p. 111292, 2022.

BOURAS, H. *et al.* How phosphorus fertilization alleviates the effect of salinity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) productivity and quality. **Agronomy**, [s.l.], v. 11, n. 8, p. 1491, 2021.

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRUGNOLI, E; LAUTERI, M. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-halophytes. **Plant physiology**, [s.l.], v. 95, n. 2, p. 628-635, 1991.
- BUFFAGNI, V. *et al.* Metabolomics and lipidomics insight into the effect of different polyamines on tomato plants under non-stress and salinity conditions. **Plant Science**, [s.l.], v. 322, p. 111346, 2022.
- ÇATAV, Ş. S; SURGUN-ACAR, Y; ZEMHERI-NAVRUZ, F. Physiological, biochemical, and molecular responses of wheat seedlings to salinity and plant-derived smoke. **South African Journal of Botany**, v. 139, p. 148-157, 2021.
- CAI, Z-Q; GAO, Q. Comparative physiological and biochemical mechanisms of salt tolerance in five contrasting highland quinoa cultivars. **BMC plant biology**, v. 20, n. 1, p. 1-15, 2020.
- CALZONE, A. *et al.* Significance of phenylpropanoid pathways in the response of two pomegranate cultivars to salinity and ozone stress. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 208, p. 105249, 2023.
- CHEN, D. *et al.* Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 9, p. 1945, 2019.
- CHOUDHARY, S. *et al.* Cellular responses, osmotic adjustments, and role of osmolytes in providing salt stress resilience in higher plants: Polyamines and nitric oxide crosstalk. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 42, n. 2, p. 539-553, 2023.
- CHOURASIA, K. *et al.* Salinity stress in potato: Understanding physiological, biochemical and molecular responses. **Life**, [s.l.], v. 11, n. 6, p. 545, 2021.
- CONAB. SAFRA 2021/22. Décimo segundo levantamento. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso realizado em 26 de novembro de 2022.
- CORWIN, D. L. Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. **European Journal of Soil Science**, [s.l.], v. 72, n. 2, p. 842-862, 2021.
- CORWIN, D. L; SCUDIERO, E. Review of soil salinity assessment for agriculture across multiple scales using proximal and/or remote sensors. **Advances in agronomy**, [s.l.], v. 158, p. 1-130, 2019.
- COSTA, P. H. A. *et al.* Growth and organic and inorganic solute contents in NaCl-stressed cultivars of *Vigna unguiculata*. **Brazilian Journal of Botany**, [s.l.], v. 26, p. 289-297, 2003.

CZARNOCKA; KARPIŃSKI, S. Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.l.], v. 122, p. 4-20, 2018.

CZÉGÉNY, G; RÁCZ, A. Phenolic peroxidases: Dull generalists or purposeful specialists in stress responses?. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 280, p. 153884, 2023.

DALIAKOPOULOS, I. N. *et al.* The threat of soil salinity: A European scale review. **Science of the total environment**, [s.l.], v. 573, p. 727-739, 2016.

DA COSTA, M. V. J. *et al.* Comparative metabolite profiling of rice contrasts reveal combined drought and heat stress signatures in flag leaf and spikelets. **Plant Science**, [s.l.], v. 320, p. 111262, 2022.

DA ROCHA, I. M. A. *et al.* Exogenous ornithine is an effective precursor and the δ -ornithine amino transferase pathway contributes to proline accumulation under high N recycling in salt-stressed cashew leaves. **Journal of plant physiology**, [s.l.], v. 169, n. 1, p. 41-49, 2012.

DA SILVA MATOS, M. K. *et al.* The WRKY transcription factor family in cowpea: Genomic characterization and transcriptomic profiling under root dehydration. **Gene**, [s.l.], v. 823, p. 146377, 2022.

DA SILVA, A. C. *et al.* Cowpea: A Strategic Legume Species for Food Security and Health. In: Legume Seed Nutraceutical Research. **IntechOpen**. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/62227>. Acesso realizado em 26 de novembro de 2022.

DA SILVA, T. I. *et al.* Spermine reduces the harmful effects of salt stress in *Tropaeolum majus*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 687-696, 2022.

DAS, K; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in environmental science**, [s.l.], v. 2, p. 53, 2014.

DE ABREU, C. E. B. *et al.* Proteomic analysis of salt stress and recovery in leaves of *Vigna unguiculata* cultivars differing in salt tolerance. **Plant cell reports**, [s.l.], v. 33, n. 8, p. 1289-1306, 2014.

DESOKY, E. S.M. *et al.* Fennel and ammi seed extracts modulate antioxidant defence system and alleviate salinity stress in cowpea (*Vigna unguiculata*). **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 272, 109576, 2020.

DU, H. *et al.* Conjugated polyamines in root plasma membrane enhanced the tolerance of plum seedling to osmotic stress by stabilizing membrane structure and therefore elevating H⁺-ATPase activity. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 12, p. 812360, 2022.

DUAN, J. *et al.* Exogenous spermidine affects polyamine metabolism in salinity-stressed *Cucumis sativus* roots and enhances short-term salinity tolerance. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 165, p. 1620-1635, 2008.

ELSAYED, A. I. *et al.* Polyamines mitigate the destructive impacts of salinity stress by enhancing photosynthetic capacity, antioxidant defense system and upregulation of calvin cycle-related genes in rapeseed (*Brassica napus* L.). **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 29, n. 5, p. 3675-3686, 2022.

ELSAYED, A. I. *et al.* S. Enhancing antioxidant systems by exogenous spermine and spermidine in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to salt stress. **Functional Plant Biology**, [s.l.], v. 45, n. 7, p. 745-759, 2018.

FANG, W. *et al.* Exogenous spermidine promotes γ -aminobutyric acid accumulation and alleviates the negative effect of NaCl stress in germinating soybean (*Glycine max* L.). **Foods**, [s.l.], v. 9, n. 3, p. 267, 2020.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, [s.l.], v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FILHO, W. S. S. *et al.* Melhoramento genético e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; GOMES-FILHO, E. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza, INCT Sal, 2016, p. 261-274.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATIONS OF THE UNITED NATIONS. **FAO DATABASE**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso realizado em 26 de novembro de 2022.

FRANÇOSO, C. F. Reações metabólicas a tratamentos osmóticos e térmicos em sementes de *Eugenia brasiliensis* e *E. pyriformis* (Myrtaceae). São Paulo, 2017. 154p. **Tese de doutorado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente**, 2017.

FRAUDONTALI, I. *et al.* Plant copper amine oxidases: key players in hormone signaling leading to stress-induced phenotypic plasticity **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 22, n. 10, p. 5136, 2021.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**, Embrapa Meio-Norte: Teresina, p. 84, 2011.

GEORGE, S. *et al.* Drought and salt stress in *Macrotyloma uniflorum* leads to common and specific transcriptomic responses and reveals importance of raffinose family oligosaccharides in stress tolerance. **Gene Reports**, [s.l.], v. 10, p. 7-16, 2018.

GHASSEMI, S; RAEI, Y. Evaluation of ion content, productivity and essential oil quality of garlic under saline conditions and biochar and polyamine treatments. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l.], v. 96, p. 103720, 2021.

GERLIN, L; BAROUKH, C; GENIN, S. Polyamines: double agents in disease and plant immunity. **Trends in Plant Science**, [s.l.], v. 26, n. 10, p. 1061-1071, 2021.

GUO, R. *et al.* Comparative metabolic responses and adaptive strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress. **BMC plant biology**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 1-13, 2015.

- GUPTA, A. *et al.* Mechanistic insights of plant-microbe interaction towards drought and salinity stress in plants for enhancing the agriculture productivity. **Plant Stress**, [s.l.], v. 4, 100073, 2022.
- GUPTA, B; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International journal of genomics**, [s.l.], v. 2014, 2014.
- GURURANI, M. A; VENKATESH, J; TRAN, L. S. P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. **Molecular plant**, [s.l.], v. 8, n. 9, p. 1304-1320, 2015.
- HAI, X. *et al.* Foliar application of spermidine reduced the negative effects of salt stress on oat seedlings. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 13, p. 846280, 2022.
- HE, Y. *et al.* Rubisco decrease is involved in chloroplast protrusion and Rubisco-containing body formation in soybean (*Glycine max.*) under salt stress. **Plant physiology and biochemistry**, [s.l.], v. 74, p. 118-124, 2014.
- HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s.l.], v. 125, p. 385-395, 1968.
- HNILICKOVA, H. *et al.* Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. **Plants**, [s.l.], v. 10, n. 5, p. 845, 2021.
- HOLMSTEDT, B.; LARSSON, L.; THAM, R. Further studies on spectrophotometric method for the determination of amine oxidase activity. **Biochim Biophys Acta**. [s.l.], v. 48, p. 182–186, 1961.
- HONGNA, C. *et al.* Exogenous spermidine priming mitigates the osmotic damage in germinating seeds of *Leymus chinensis* under salt-alkali stress. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 12, p. 701538, 2021.
- HOPMANS, J. W. *et al.* Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity. **Advances in agronomy**, [s.l.], v. 169, p. 1-191, 2021.
- HOSSAIN, M. S. *et al.* Metabolite profiling at the cellular and subcellular level reveals metabolites associated with salinity tolerance in sugar beet. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 68, n. 21-22, p. 5961-5976, 2017.
- IGAMBERDIEV, A. U; EPRINTSEV, A. T. Organic acids: the pools of fixed carbon involved in redox regulation and energy balance in higher plants. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 7, p. 1042, 2016.
- ISLAM, M. A. *et al.* Putrescine, spermidine, and spermine play distinct roles in rice salt tolerance. **Journal of Integrative Agriculture**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 643-655, 2020.
- JASTRZAB, R. *et al.* Complexes of polyamines and their derivatives as living system active compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, [s.l.], v. 351, p. 32-44, 2017.

- JAVED, S. A. *et al.* Interactive effect of different salinity sources and their formulations on plant growth, ionic homeostasis and seed quality of maize. **Chemosphere**, [s.l.], v. 291, p. 132678, 2022.
- JOSHI, J. *et al.* A core metabolome response of maize leaves subjected to long-duration abiotic stresses. **Metabolites**, [s.l.], v. 11, n. 11, p. 797, 2021.
- KEBEDE, E; BEKEKO, Z. Expounding the production and importance of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Ethiopia. **Cogent Food & Agriculture**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 1769805, 2020.
- KAHN, R. A.; DURST, F. Function and evolution of plant cytochrome P450. **Recent advances in phytochemistry**, [s.l.], v. 34, p. 151-190, 2000.
- KAMIAB, F; TAVASSOLIAN, I; HOSSEINIFARAH, M. Biologia futura: the role of polyamine in plant science. **Biologia Futura**, [s.l.], v. 71, n. 3, p. 183-194, 2020.
- KAPOOR, R. T; HASANUZZAMAN, M. Exogenous kinetin and putrescine synergistically mitigate salt stress in *Luffa acutangula* by modulating physiology and antioxidant defense. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [s.l.], v. 26, p. 2125-2137, 2020.
- KAPOOR, D. *et al.* Redox homeostasis in plants under abiotic stress: role of electron carriers, energy metabolism mediators and proteinaceous thiols. **Frontiers in Environmental Science**, [s.l.], v. 3, p. 13, 2015.
- KHAN, A. *et al.* Thermo-priming mediated cellular networks for abiotic stress management in plants. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 13, p. 866409, 2022.
- KHOSHBAKHT, D.; ASGHARI, M. R.; HAGHIGHI, M. Influence of foliar application of polyamines on growth, gas exchange characteristics, and chlorophyll fluorescence in *Bakrarii citrus* under saline conditions. **Photosynthetica**, [s.l.], v. 56, p. 731–742, 2017.
- KIM, S. H. *et al.* Putrescine regulating by stress-responsive MAPK cascade contributes to bacterial pathogen defense in *Arabidopsis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 437, p. 502-508, 2013.
- KORBAS, A. *et al.* Spermidine Modify Antioxidant Activity in Cucumber Exposed to Salinity Stress. **Agronomy**, [s.l.], v. 12, n. 7, p. 1554, 2022.
- KOUTROULIS, A. G. *et al.* Impact of climate change on water resources status: A case study for Crete Island, Greece. **Journal of hydrology**, [s.l.], v. 479, p. 146-158, 2013.
- KUMARI, S. *et al.* Hydrogen sulfide modulates ascorbate-glutathione system, osmolytes production, nutrient content and yield responses under salt stress in wheat. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 160, p. 295-308, 2023.
- KUMARI, A. *et al.* Proteomics, metabolomics, and ionomics perspectives of salinity tolerance in halophytes. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 6, p. 537, 2015.

KUSUDA, H. *et al.* Ectopic expression of myo-inositol 3-phosphate synthase induces a wide range of metabolic changes and confers salt tolerance in rice. **Plant Science**, [s.l.], v. 232, p. 49-56, 2015.

LAMSAADI, N. *et al.* Exogenous silicon alleviates salinity stress in fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) by enhancing photosystem activities, biological nitrogen fixation and antioxidant defence system. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 159, p. 344-355, 2023.

LEE, D. H; KIM, Y. S; LEE, C. B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of plant physiology**, [s.l.], v. 158, n. 6, p. 737-745, 2001.

LI, H. *et al.* Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 8, p. 295, 2017.

LI, S. *et al.* The variation tendency of polyamines forms and components of polyamine metabolism in Zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) to salt stress with exogenous spermidine application. **Frontiers in Physiology**, [s.l.], v. 8, p. 208, 2017.

LI, Z. *et al.* Polyamine regulates tolerance to water stress in leaves of white clover associated with antioxidant defense and dehydrin genes via involvement in calcium messenger system and hydrogen peroxide signaling. **Frontiers in Physiology**, [s.l.], v. 6, p. 280, 2015.

LIMA, B. S. Tolerância de genótipos de *Vigna Unguiculata* ao estresse salino: integração de mecanismos moleculares, fisiológicos e bioquímicos. Tese de doutorado, **Universidade federal do Ceará**, centro de ciências, programa de pós-graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2017.

LISEC, J. *et al.* Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, [s.l.], v. 1, p. 387-96, 2006.

LIU, J. H. *et al.* Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 6, p. 827, 2015.

LIU, J. *et al.* Putrescine metabolism modulates the biphasic effects of brassinosteroids on canola and *Arabidopsis* salt tolerance. **Plant, Cell & Environment**, [s.l.], v. 43, n. 6, p. 1348-1359, 2020.

LIU, L. *et al.* Galactinol synthase confers salt-stress tolerance by regulating the synthesis of galactinol and raffinose family oligosaccharides in poplar. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 165, p. 113432, 2021.

LU, Y. *et al.* Comparative metabolomics in *Glycine max* and *Glycine soja* under salt stress to reveal the phenotypes of their offspring. **Journal of agricultural and food chemistry**, [s.l.], v. 61, n. 36, p. 8711-8721, 2013.

LU, Y; FRICKE, W. Salt Stress—Regulation of Root Water Uptake in a Whole-Plant and Diurnal Context. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 24, n. 9, p. 8070, 2023.

LUDWICZAK, A. *et al.* Growth Stage-, Organ-and Time-Dependent Salt Tolerance of Halophyte *Tripolium pannonicum* (Jacq.) Dobrocz. **Life**, [s.l.], v. 13, n. 2, p. 462, 2023.

MAIA, J. M. *et al.* Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, [s.l.], v. 26, p. 342-349, 2012.

MALAVOLTA, E. e VITTI, Godofredo César e OLIVEIRA, Sebastião Alberto de. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba, **POTAFOS**, 219p, 1997.

MANAA, A. *et al.* Salinity tolerance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) as assessed by chloroplast ultrastructure and photosynthetic performance. **Environmental and experimental botany**, [s.l.], v. 162, p. 103-114, 2019.

MANSOOR, S. *et al.* Reactive oxygen species in plants: from source to sink. **Antioxidants**, [s.l.], v. 11, n. 2, p. 225, 2022.

MANTOVANI, André. A method to improve leaf succulence quantification. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s.l.], v. 42, 1999.

MARCHIOSI, R. *et al.* Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. **Phytochemistry Reviews**, [s.l.], v. 19, p. 865-906, 2020.

MASOOD, A. *et al.* Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of Azolla (*Azolla pinnata* and *Azolla filiculoides*). **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 58, n. 1-3, p. 216-222, 2006.

MINOCHA, R; MAJUMDAR, R; MINOCHA, S. C. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 5, p. 175, 2014.

MUCHATE, N. S. *et al.* Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. **The Botanical Review**, [s.l.], v. 82, n. 4, p. 371-406, 2016.

MUKHOPADHYAY, R. *et al.* Salinity under climate change: Challenges for sustainable agriculture and food security. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 280, p. 111736, 2021.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New phytologist**, [s.l.], v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops—what is the cost? **New phytologist**, [s.l.], v. 208, n. 3, p. 668-673, 2015.

MUSTAFABI, S. H. *et al.* Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s.l.], v. 40, p. 1-19, 2018.

NAVAKOUDIS, E; KOTZABASIS, K. Polyamines: A bioenergetic smart switch for plant protection and development. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], p. 153618, 2022.

NKOMO, G. V; SEDIBE, M. M; MOFOKENG, M. A. Production constraints and improvement strategies of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes for drought tolerance. **International Journal of Agronomy**, [s.l.], v. 2021, p. 9, 2021.

OMOMOWO, O. I; BABALOLA, O. O. Constraints and prospects of improving cowpea productivity to ensure food, nutritional security and environmental sustainability. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 12, p. 751731, 2021.

PÁL, M. *et al.* Role of polyamines in plant growth regulation of Rht wheat mutants. **Plant physiology and biochemistry**, [s.l.], v. 137, p. 189-202, 2019.

PÁL, M; SZALAI, G; JANDA, T. Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. **Plant Science**, [s.l.], v. 237, p. 16-23, 2015.

PÁL, M. *et al.* Unfinished story of polyamines: Role of conjugation, transport and light-related regulation in the polyamine metabolism in plants. **Plant Science**, [s.l.], v. 308, p. 110923, 2021.

PANDA, A; RANGANI, J; PARIDA, A. K. Comprehensive proteomic analysis revealing multifaceted regulatory network of the xero-halophyte *Haloxylon salicornicum* involved in salt tolerance. **Journal of Biotechnology**, [s.l.], v. 324, p. 143-161, 2020.

PANG, X. M. *et al.* Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants. **Plant Stress**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 173-188, 2007.

PARTHASARATHY, A; SAVKA, M. A.; HUDSON, A. O. The synthesis and role of β -alanine in plants. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 10, p. 921, 2019.

PARIDA, A. K; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and environmental safety**, [s.l.], v. 60, n. 3, p. 324-349, 2005.

PETRETTO, G. L. *et al.* Effect of salinity (NaCl) on plant growth, nutrient content, and glucosinolate hydrolysis products trends in rocket genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 141, p. 30-39, 2019.

PLANCHET, É; LIMAMI, A. M. Amino acid synthesis under abiotic stress. In: Amino acids in higher plants. **Wallingford UK: CAB International**, [s.l.], p. 262-276, 2015

POMPEIANO, A. *et al.* Allocation pattern, ion partitioning, and chlorophyll a fluorescence in *Arundo donax* L. in responses to salinity stress. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, [s.l.], v. 151, n. 4, p. 613-622, 2017.

PRADHAN, B. *et al.* Distinction and characterisation of rice genotypes tolerant to combined stresses of salinity and partial submergence, proved by a high-resolution chlorophyll fluorescence imaging system. **Functional Plant Biology**, [s.l.], v. 46, n. 3, p. 248-261, 2018.

PRAXEDES, S. C; FERREIRA, T. M; GOMES-FILHO, E. Acúmulo de prolina e aminoácidos em cultivares de feijão caupi com tolerância diferencial à salinidade. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 22, n. 3, 2009.

PRAXEDES, S. S. C. *et al.* Photosynthetic Responses, Growth, Production, and Tolerance of Traditional Varieties of Cowpea under Salt Stress. **Plants**, [s.l.], v. 11, n. 14, p. 1863, 2022.

PUNIRAN-HARTLEY, N. *et al.* Salinity-induced accumulation of organic osmolytes in barley and wheat leaves correlates with increased oxidative stress tolerance: in planta evidence for cross-tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 83, p. 32-39, 2014.

QIAN, R. *et al.* Effect of exogenous spermidine on osmotic adjustment, antioxidant enzymes activity, and gene expression of *Gladiolus gandavensis* seedlings under salt stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 40, n. 4, p. 1353-1367, 2021.

RAKESH, B.; SUDHEER, W. N.; NAGELLA, P. Role of polyamines in plant tissue culture: An overview. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 145, n. 3, p. 487-506, 2021.

RAO, Y; PENG, T; XUE, S. Mechanisms of plant saline-alkaline tolerance. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], p. 153916, 2023.

RASBAND, W. ImageJ. **U. S. National Institutes of Health**, Bethesda, Maryland, USA, 1997

RATHINAPRIYA, P. *et al.* The protective effects of polyamines on salinity stress tolerance in foxtail millet (*Setaria italica* L.), an important C4 model crop. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [s.l.], v. 26, p. 1815-1829, 2020.

RAVELOMBOLA, W. *et al.* Evaluation of salt tolerance in cowpea at seedling stage. **Euphytica**, [s.l.], v. 217, 116, 2021.

RAVELOMBOLA, W. *et al.* Association analysis of salt tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) at germination and seedling stages. **Theoretical and applied genetics**, [s.l.], v. 131, n.1, p. 79-91, 2018.

RAZIQ, A. *et al.* Exogenous spermidine modulates polyamine metabolism and improves stress responsive mechanisms to protect tomato seedlings against salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 187, p. 1-10, 2022.

RECALDE, L. *et al.* Reactive oxygen species and nitric oxide are involved in polyamine-induced growth inhibition in wheat plants. **Protoplasma**, [s.l.], v. 255, p. 1295-1307, 2018.

ROESSNER, U. *et al.* Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems. **The Plant Cell**, [s.l.], v. 13, p. 11-29, 2001.

ROSSI, L. *et al.* Salt stress induces differential regulation of the phenylpropanoid pathway in *Olea europaea* cultivars Frantoio (salt-tolerant) and Leccino (salt-sensitive). **Journal of plant physiology**, [s.l.], v. 204, p. 8-15, 2016.

- ROSTAMPOUR, P. *et al.* Evaluation of osmoregulation and morpho-physiological responses of *Borago officinalis* under drought and salinity stress with equal osmotic potential. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s.l.], v. 106, p. 104567, 2023.
- ROYCHOUDHURY, A; BASU, S; SENGUPTA, D. N. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 168, n. 4, p. 317-328, 2011.
- SADDHE, A. A; MANUKA, R; PENNA, S. Plant sugars: Homeostasis and transport under abiotic stress in plants. **Physiologia plantarum**, [s.l.], v. 171, n. 4, p. 739-755, 2021.
- SAFDAR, H. *et al.* A review: Impact of salinity on plant growth. **Nature and Science**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 34-40, 2019.
- SAHA, J. *et al.* Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, [s.l.], v. 3, p. 21, 2015.
- SECKIN, B. *et al.* The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 69, n. 1, p. 76-85, 2010.
- SEIFI, H. S.; SHELP, B. J. Spermine differentially refines plant defense responses against biotic and abiotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 10, p. 117, 2019.
- SERNA, M. *et al.* A brassinosteroid analogue prevented the effect of salt stress on ethylene synthesis and polyamines in lettuce plants. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 185, p. 105-112, 2015.
- SHAO, J. *et al.* Versatile roles of polyamines in improving abiotic stress tolerance of plants. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 13, p. 1003155, 2022.
- SHARIFI, P; BIDABADI, S. S. Strigolactone could enhances gas-exchange through augmented antioxidant defense system in *Salvia nemorosa* L. plants subjected to saline conditions stress. **Industrial crops and products**, [s.l.], v. 151, p. 112460, 2020.
- SHOUKAT, S. *et al.* Exogenous application of sodium hydrosulfide and salicylic acid mitigate salinity stress in maize by regulating ionic balance, biochemical attributes, photosynthetic pigments and some key antioxidants. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 158, p. 393-404, 2023.
- SHU, S. *et al.* Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 63, p. 209-216, 2013.
- SHU, S. *et al.* Effects of salt stress on the structure and function of the photosynthetic apparatus in *Cucumis sativus* and its protection by exogenous putrescine. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 146, p. 285-296, 2012.

- SILVA, K. J. D.; ROCHA, M. M.; MENEZES JÚNIOR, J. A. N. Socioeconomia. In: BASTOS, E. A. (ed.) **A Cultura do Feijão-caupi no Brasil**, Embrapa Meio-Norte: Teresina, p. 6-12, 2016.
- SIMION, T. Breeding cowpea *Vigna unguiculata* L. Walp for quality traits. **Annals of Reviews and Research**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 555609, 2018.
- SINDHU, M. *et al.* Current advances and future directions in genetic enhancement of a climate resilient food legume crop, cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, [s.l.], v. 139, p. 429-453, 2019.
- SLAMA, I. *et al.* Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress, **Annals of Botany**, [s.l.], v. n.115, p.433–447, 2015.
- SOBIESZCZUK-NOWICKA, E. *et al.* Polyamines - A new metabolic switch: Crosstalk with networks involving senescence, crop improvement, and mammalian cancer therapy. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 10, p. 859, 2019.
- SOFY, M. R.; ELHAWAT, N; ALSHAAL, T. Glycine betaine counters salinity stress by maintaining high K⁺/Na⁺ ratio and antioxidant defense via limiting Na⁺ uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 200, p. 110732, 2020.
- SONG, J; WANG, B. Using euhalophytes to understand salt tolerance and to develop saline agriculture: Suaeda salsa as a promising model. **Annals of Botany**, [s.l.], v. 115, n. 3, p. 541-553, 2015.
- SUI, N. *et al.* Identification and transcriptomic profiling of genes involved in increasing sugar content during salt stress in sweet sorghum leaves. **BMC genomics**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 1-18, 2015.
- SUN, C; LI, X; GUO, J. Relationship between photosystem activity and ultraweak luminescence excitation in *Cerasus humilis* leaves under salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 196, p. 1032-1045, 2023.
- TAÏBI, K. *et al.* Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 105, p. 306-312, 2016.
- TAILOR, A; TANDON, R; BHATLA, S. C. Nitric oxide modulates polyamine homeostasis in sunflower seedling cotyledons under salt stress. **Plant signaling & behavior**, [s.l.], v. 14, n. 11, p. 1667730, 2019.
- TAKÁCS, Z. *et al.* The role of ethylene signalling in the regulation of salt stress response in mature tomato fruits: Metabolism of antioxidants and polyamines. **Journal of Plant Physiology**, [s.l.], v. 277, p. 153793, 2022.
- TANG, H. *et al.* Phosphorus limitation improved salt tolerance in maize through tissue mass density increase, osmolytes accumulation, and Na⁺ uptake inhibition. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 10, p. 856, 2019.

TANVEER, K. *et al.* Effect of salt stress on tomato plant and the role of calcium. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 43, n. 1, p. 28-35, 2020.

TAVLADORAKI, P; CONA, A; ANGELINI, R. Copper-containing amine oxidases and FAD-dependent polyamine oxidases are key players in plant tissue differentiation and organ development. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 7, p. 824, 2016.

TIBURCIO, A. F. *et al.* The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. **Planta**, [s.l.], v. 240, p. 1-18, 2014.

TOURAJZADEH, O. *et al.* Effect of Nano Biochar addition and deficit irrigation on growth, physiology and water productivity of quinoa plants under salinity conditions. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], p. 105564, 2023.

TRABELSI, L. *et al.* Impact of drought and salinity on olive water status and physiological performance in an arid climate. **Agricultural water management**, [s.l.], v. 213, p. 749-759, 2019.

TSAI, Y. C. *et al.* Chlorophyll fluorescence analysis in diverse rice varieties reveals the positive correlation between the seedlings salt tolerance and photosynthetic efficiency. **BMC plant biology**, [s.l.], v. 19, p. 1-17, 2019.

TYAGI, A. *et al.* Revisiting the role of polyamines in plant growth and abiotic stress resilience: mechanisms, crosstalk, and future perspectives. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 8, p. 5074-5098, 2023.

UPADHYAY, R. K. *et al.* Differential association of free, conjugated, and bound forms of polyamines and transcript abundance of their biosynthetic and catabolic genes during drought/salinity stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaves. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 12, p. 743568, 2021.

VAN BREUSEGEM; BAILEY-SERRES; MITTLER, R. Unraveling the tapestry of networks involving reactive oxygen species in plants. **Plant physiology**, [s.l.], v. 147, n. 3, p. 978-984, 2008.

XU, X. *et al.* Regulation of exogenous spermidine on the reactive oxygen species level and polyamine metabolism in *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb under copper stress. **Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 63, p. 251-258, 2011.

XU, J. *et al.* Polyamines are involved in GABA-regulated salinity-alkalinity stress tolerance in muskmelon. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 164, p. 181-189, 2019.

WANG, D. *et al.* Transcriptome and metabolome analysis reveals salt-tolerance pathways in the leaves and roots of ZM-4 (*Malus zumi*) in the early stages of salt stress. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 24, n. 4, p. 3638, 2023.

WANG, W. *et al.* Polyamine catabolism in plants: a universal process with diverse functions. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 10, p. 561, 2019.

- WANG, Y. *et al.* Gibberellin mediates spermidine-induced salt tolerance and the expression of GT-3b in cucumber. **Plant physiology and biochemistry**, [s.l.], v. 152, p. 147-156, 2020.
- WANG, Y. *et al.* Ethylene enhances seed germination and seedling growth under salinity by reducing oxidative stress and promoting chlorophyll content via ETR2 pathway. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 11, p. 1066, 2020.
- WANI, S. H. *et al.* Engineering salinity tolerance in plants: progress and prospects. **Planta**, [s.l.], v. 251, n. 4, p. 1-29, 2020.
- WASEEM, M; AHMAD, F. The phosphoenolpyruvate carboxylase gene family identification and expression analysis under abiotic and phytohormone stresses in *Solanum lycopersicum* L. **Gene**, [s.l.], v. 690, p. 11-20, 2019.
- WIN, K. T.; OO, A. Z. Genotypic difference in salinity tolerance during early vegetative growth of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) from Myanmar. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 4, n. 4, p. 449-455, 2015.
- WU, J. *et al.* CsPAO2 Improves Salt Tolerance of Cucumber through the Interaction with CsPSA3 by Affecting Photosynthesis and Polyamine Conversion. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 23, n. 20, p. 12413, 2022.
- WU, X. *et al.* Gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates salt damage in tomato by modulating Na⁺ uptake, the GAD gene, amino acid synthesis and reactive oxygen species metabolism. **BMC Plant Biology**, [s.l.], v. 20, p. 1-21, 2020.
- WU, Z. *et al.* Exogenous spermidine improves salt tolerance of pecan-grafted seedlings via activating antioxidant system and inhibiting the enhancement of Na⁺/K⁺ ratio. **Acta physiologiae plantarum**, [s.l.], v. 42, p. 1-13, 2020.
- YAMASAKI, H; COHEN, M. F. NO signal at the crossroads: polyamine-induced nitric oxide synthesis in plants? **Trends in Plant Science**, [s.l.], v. 11, n. 11, p. 522-524, 2006.
- YAN, F. *et al.* Exogenous melatonin alleviates salt stress by improving leaf photosynthesis in rice seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 163, p. 367-375, 2021.
- YAN, K. *et al.* Contrasting photosynthesis and photoinhibition in tetraploid and its autodiploid honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) under salt stress. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 6, p. 227, 2015.
- YANG, Z. *et al.* Photosynthetic regulation under salt stress and salt-tolerance mechanism of sweet sorghum. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 10, p. 1722, 2020.
- YUAN, Y. *et al.* Putrescine enhances salt tolerance of cucumber seedlings by regulating ion homeostasis. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 165, p. 70-82, 2019.
- ZARZA, X. *et al.* Polyamine oxidase 5 loss-of-function mutations in *Arabidopsis thaliana* trigger metabolic and transcriptional reprogramming and promote salt stress tolerance. **Plant, Cell & Environment**, [s.l.], v. 40, n. 4, p. 527-542, 2017.

ZHAO, L. *et al.* Metabolomics reveals the molecular mechanisms of copper induced cucumber leaf (*Cucumis sativus*) senescence. **Environmental science & technology**, [s.l.], v. 52, n. 12, p. 7092-7100, 2018.

ZHAO, S. *et al.* Regulation of plant responses to salt stress. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 22, n. 9, p. 4609, 2021.

ZHONG, M. *et al.* TGase regulates salt stress tolerance through enhancing bound polyamines-mediated antioxidant enzymes activity in tomato. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 179, p. 104191, 2020.

ZHOU, H. *et al.* Insights into plant salt stress signaling and tolerance. **Journal of Genetics and Genomics**, 2023.