



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VICTOR BRENO FAUSTINO BEZERRA

**ANÁLISES MORFOFISIOLÓGICAS DO DESENVOLVIMENTO
RADICULAR E CAULINAR DE CULTIVARES DE *Vigna unguiculata* [L.] Walp.
DURANTE ESTRESSE HÍDRICO**

FORTALEZA

2022

VICTOR BRENO FAUSTINO BEZERRA

**ANÁLISES MORFOFISIOLÓGICAS DO DESENVOLVIMENTO
RADICULAR E CAULINAR DE CULTIVARES DE *Vigna unguiculata* [L.] Walp.
DURANTE ESTRESSE HÍDRICO**

Trabalho de conclusão de curso apresentando ao Programa de Graduação em Ciências Biológicas, modalidade Bacharelado, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Área de concentração: Fisiologia Vegetal; Bioquímica.

Orientador: Murilo Siqueira Alves

FORTALEZA

2022

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)

B469a Bezerra, Victor Breno Faustino.
Análises morfofisiológicas do desenvolvimento radicular e caulinar de cultivares de *Vigna unguiculata* [L.] Walp. durante estresse hídrico / Victor Breno Faustino Bezerra. – 2022.
41 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Murilo Siqueira Alves.
Coorientação: Profa. Dra. Letícia dos Anjos .

1. Déficit hídrico. 2. Tolerância. 3. Potencial hídrico. 4. Padrão radicular. 5. Biomassa. I. Título.
CDD 570

VICTOR BRENO FAUSTINO BEZERRA

ANÁLISES MORFOFISIOLÓGICAS DO DESENVOLVIMENTO
RADICULAR E CAULINAR DE CULTIVARES DE *Vigna unguiculata* [L.] Walp.
DURANTE ESTRESSE HÍDRICO

Trabalho de conclusão de curso apresentando ao Programa de Graduação em Ciências Biológicas, modalidade Bacharelado, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Área de concentração: Fisiologia Vegetal; Bioquímica.

Orientador: Murilo Siqueira Alves

Aprovado em 08/12/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Murilo Siqueira Alves (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Letícia dos Anjos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Danny Alexander Camargo León
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Murilo Siqueira Alves, pela excelente orientação e por sempre me incentivar a buscar pelo conhecimento e melhorar como pessoa.

Aos convidados da Banca examinadora, Profa. Dra. Leticia dos Anjos e Msc. Danny Alexander Camargo León, pelo tempo e esforço para colaborações e sugestões do presente trabalho.

Aos estudantes do Laboratório de Sinalização Celular de Plantas (LABSIN), Ana Carolina Moreira da Costa, Jochuan Israel Bezerra do Nascimento, Otávio Hugo Aguiar Gomes, Axel Jhoanantam Oliveira Lima, Alex Martins de Aguiar, Érica Monik Silva Roque, Felipe de Castro Texeira, João Victor, Gabriela Matos e Carolina Carvalho.

Aos meus colegas e estudantes do Curso de Ciências Biológicas 2018.1 que ingressaram comigo, que me ajudaram a crescer como indivíduo intelectual e social, e a ver diferente pontos de vistas.

A minha namorada Taís Bentemüller, que em momentos difíceis e também nos bons atuou como meu ponto de referência como pessoa, para sempre melhorar e ser carinhoso com as outras pessoas.

A minha família, em especial aos meus pais, Renata Faustino dos Santos Bezerra e José Luciano Bezerra Júnior, e minha avó, Maria Valdete Faustino da Silva, que estiveram em todos os momentos da minha vida como porto seguro, e me tornaram em grande parte o que sou hoje.

E a Universidade Federal do Ceará e ao ensino público, e nesse caso mais especificamente o superior, que permitiram que pessoas como eu, e outros milhares, pudessem almejar e alcançar o sonho do ensino superior de qualidade em um país ainda tão desigual.

RESUMO

Atualmente, com as mudanças climáticas e as consequentes alterações dos balanços hídricos em diversas regiões do planeta, está se tornando cada vez mais necessária a busca e o entendimento de espécies adaptadas a essas condições adversas. Uma dessas condições é o déficit hídrico, onde regiões como o Nordeste brasileiro, uma das maiores áreas secas habitadas do mundo, vem gradativamente mais encontrando períodos alongados de seca, prejudicando e ameaçando o modo de vida de diversas pessoas. Desse modo, dentre as espécies cultivadas o feijão-caupi é uma espécie de elevado interesse tecnológico, social, nutricional e ecológico, tendo em vista sua conhecida capacidade de tolerante a seca e altas temperaturas. E assim como outras espécies, *Vigna unguiculata* [L.] Walp. possui diversos cultivares definidos e com suas características de interesse escolhida. Dentre esses cultivares há indivíduos considerados tolerantes ao déficit hídrico enquanto outros susceptíveis. O feijão-caupi é conhecido como uma espécie tolerante a seca, entretanto, há lacunas sobre a relação desses mecanismos e os aspectos morfofisiológicos desses cultivares com essa tolerância. Assim, o presente trabalho teve como objetivo entender a relação e proporção de biomassa produzida e alocada nas porções caulinar e radicular dos cultivares de feijão-caupi, e sua relação com o déficit hídrico. Para isso foram selecionados dois cultivares de feijão-caupi considerados tolerante (Pingo-de-Ouro-1,2) e suscetível (Santo Inácio) ao déficit hídrico pela literatura. De tal modo que, ao final do experimento foi possível observar que ambos apresentam desempenhos semelhantes sob mesmas condições. Bem como, foi possível relatar uma relação interessante no cultivar considerado susceptível e seus padrões de volume radicular, teor de água relativo e o seu potencial hídrico. Enquanto os parâmetros de massa fresca e seca e a alocação de biomassa demonstram uma alteração principalmente no padrão radicular, provavelmente pelo padrão de produção de raízes secundárias no cultivar suscetível, demonstrando um maior conteúdo relativo de água, em comparação ao cultivar considerado tolerante. Já os parâmetros de trocas gasosas reforçam o estado de déficit hídrico e um mecanismo de regulação estomática para um uso mais eficiente da água, além de um possível dano do aparato fotossintético, devido abaixas leituras de ETR_{II} e $\Delta F/Fm'$, somados a alta concentração intracelular de CO_2 , bem como uma baixa transpiração, fotossíntese e condutância estomática. Desse modo, trazendo novas perspectivas no estudo desses cultivares e os mecanismos de tolerância ao déficit hídrico tão característico a essa espécie vegetal.

Palavras-chave: Déficit hídrico; Tolerância; Potencial hídrico; Padrão radicular; Biomassa

ABSTRACT

Currently, with climate change and the consequent alterations in the water balances in various regions of the planet, it is becoming increasingly necessary to search for and understand species adapted to these adverse conditions. One of these conditions is the water deficit, where regions such as the Brazilian Northeast, one of the largest dry inhabited areas in the world, is gradually encountering longer periods of drought, damaging and threatening the livelihood of several people. Thus, among the cultivated species, the cowpea is a species of high technological, social, nutritional and ecological interest, in view of its known capacity to tolerate drought and high temperatures. And like other species, *Vigna unguiculata* [L.] Walp. has several cultivars defined and with their characteristics of interest chosen. Among these cultivars there are individuals considered tolerant to water deficit while others are susceptible. The cowpea is known as a drought tolerant species, however, there are gaps on the relationship of these mechanisms and the morpho-physiological aspects of these cultivars with this tolerance. Thus, the present work aimed to understand the relationship and proportion of biomass produced and allocated in the stem and root portions of the cultivars of cowpea, and its relationship with water deficit. For this, two cultivars of cowpea bean considered tolerant (Pingo-de-Ouro-1,2) and susceptible (Santo Inácio) to water deficit by the literature were selected. In such a way that, at the end of the experiment it was possible to observe that both presented similar performances under the same conditions. It was also possible to report an interesting relationship between the susceptible cultivar and its patterns of root volume, relative water content and water potential. While the parameters of fresh and dry mass and biomass allocation demonstrated a change mainly in the root pattern, probably due to the pattern of secondary root production in the susceptible cultivar, showing a higher relative water content, compared to the cultivar considered tolerant. The parameters of gas exchange reinforce the state of water deficit and a mechanism of stomatal regulation for a more efficient use of water, as well as a possible damage of the photosynthetic apparatus, due to low readings of ETR_{II} and $\Delta F/F_m'$, added to a high intracellular concentration of CO_2 , as well as a low transpiration, photosynthesis and stomatal conductance. Thus, bringing new perspectives in the study of these cultivars and the mechanisms of tolerance to water deficit so characteristic of this plant species.

Keywords: Water deficit; Tolerance; Water potential; Root pattern; Biomass

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1 Escolha da espécie modelo.....	10
1.2 Resposta ao estresse ambiental.....	11
1.3 Objetivo principal.....	14
1.4 Objetivos específico.....	14
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1 Fornecimento das cultivares, cultivos das plantas e medição dos parâmetros de crescimento das plantas de feijão-caupi.....	15
2.2 Medidas de trocas gasosas.....	15
2.3 Potencial hídrico.....	16
2.4 Avaliação da peroxidação lipídica e extravasamento de eletrólitos.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4. CONCLUSÃO.....	30

1. Introdução

1.1 Escolha da espécie modelo

O atual sistema de produção global contribuiu para a elevação das emissões de gases de efeito estufa (GEE), com destaque para o dióxido de carbono (CO₂), principal subproduto da queima de combustíveis fósseis, como caso do carvão mineral, óleo e gás natural, as fontes de energia tradicionais (A DYATLOV; DIDENKO; A IVANOVA; SOSHNEVA; KULIK, 2020). Esse crescimento afeta diretamente as condições climáticas globais e regionais, acarretando na elevação da temperatura média do planeta, culminando no fenômeno denominado aquecimento global (AL-GHUSSAIN, 2018). Entretanto, essas alterações climáticas não se limitam ao aumento da temperatura somente, influenciando no regime de pluviosidade regional, acentuando a ocorrência de inundações ou períodos de seca intensa (AYANLADE *et al.*, 2018; FRAME *et al.*, 2020).

No Brasil, principalmente na região Nordeste do país, que engloba as regiões secas mais populosas do mundo, é possível observar o impacto das mudanças climáticas através dos anos (MARENGO, TORRE, ALVES, 2017). Um exemplo são os longos períodos de seca, que eram comuns, mas vêm se tornando mais frequentes e prolongados, como consequência de mudanças nas dinâmicas do ciclo da água (STERN, 2007). Além disso, esses fatores somam-se a outros problemas já existentes, agravando-os. Como a desertificação, que vem se expandindo em várias regiões do país, intensificando questões sociais como a insegurança alimentar (ALPINO; MAZOTO; BARROS; FREITAS, 2022).

Estima-se que até 2050, o tamanho da população humana associada às dificuldades na produção agrícola colocará em risco a segurança alimentar, como resultado do mal uso da terra e alterações climáticas (FAO, 2018). De modo que, torna-se cada vez mais necessário entender os aspectos molecular e fenotípicos da resposta ao déficit hídrico em cultivares de interesse agrônômico. Tais condições favorecem cultivos como a *Vigna unguiculata*, devido seu baixo custo, elevada resistência e alta produtividade agrícola.

A *Vigna unguiculata*, popularmente conhecida como feijão-caupi, feijão-de-corda, feijão-fradinho ou feijão massacar, é uma espécie pertencente à família Fabaceae (EMBRAPA, 2016). O feijão-caupi é altamente adaptado a regiões tropicais, cultivado principalmente no continente africano, parte da Ásia e na América do Sul (DURAIPIANDIAN; POORANI; ABIRAMI; ANUSHA, 2022). No Brasil, a produção da cultivar se dá principalmente nas regiões nordeste, norte e centro-oeste (EMBRAPA, 2016). Essa cultivar possui características de interesse como elevada tolerância ao déficit hídrico, baixo custo de produção e alto valor

nutricional, o que permite que essa seja uma possível resposta à urgente demanda agrícola global (DURAIPANDIAN; POORANI; ABIRAMI; ANUSHA, 2022).

A utilização de *Vigna unguiculata* como cultivar modelo é uma alternativa atrativa, pois a mesma pode vir a se tornar uma saída possível para os problemas de escassez hídrica, pobreza do solo e insegurança alimentar (EMBRAPA, 2016).

Seu cultivo é altamente adaptado aos climas tropical e subtropical (CARVALHO; LINO-NETO; ROSA; CARNIDE, 2017; GONÇALVES; GOUFO; BARROS; DOMÍNGUEZ-PERLES; TRINDADE; ROSA; FERREIRA; RODRIGUES, 2016). Característico por sua tolerância à escassez hídrica, a *V. unguiculata* possui relevante valor social, econômico, nutricional e ecológico, além da capacidade de fixar nitrogênio disponível no solo, aumentando sua fertilidade (EMBRAPA, 2016; MARTINS *et al.*, 2003). Este exemplar é altamente cultivado no continente africano, parte da Ásia e na América do Sul, principalmente nas regiões nordeste, norte e centro-oeste (EMBRAPA, 2016). No Brasil, o feijão-caupi representa uma cultura de presença considerável no agronegócio, sobretudo na região nordeste do país (CONAB, 2022), sendo um candidato eficaz no combate a deficiências nutricionais que ocorrem no país (e.g. ferro e zinco) (PEREIRA *et al.*, 2014).

O interesse crescente no cultivo de *Vigna unguiculata*, é justificado por seu valor nutricional, elevado em aminoácidos essenciais, carboidratos, fibra alimentar e outros macro e micronutrientes que sugerem uma cobertura total de certos requisitos nutricionais da dieta humana (GONÇALVES; GOUFO; BARROS; DOMÍNGUEZ-PERLES; TRINDADE; ROSA; FERREIRA; RODRIGUES, 2016). Possuindo alto conteúdo nutritivo de todas as partes da planta, consumido como grãos secos, grãos verdes, vagens ou folhas (CARVALHO; LINO-NETO; ROSA; CARNIDE, 2017). Associado a isso, *Vigna unguiculata*, tem sido amplamente estudada com relação a tolerância em diferentes condições de déficit hídrico (CARVALHO; CASTRO; MOUTINHO-PEREIRA; CORREIA; EGEA-CORTINES; MATOS; ROSA; CARNIDE; LINO-NETO, 2019; JAYAWARDHANE *et al.*, 2022; GOMES; RODRIGUES; ANTÓNIO; RODRIGUES; LEITÃO; BATISTA-SANTOS; NHANTUMBO; MASSINGA; RIBEIRO-BARROS; RAMALHO, 2020). As características citadas, permitem com que o feijão-caupi seja um agente que alia interesses tanto econômicos como ecológicos, uma vez que estresses abióticos que são em grande parte influenciados por problemáticas ambientais vigentes - como seca e estresses relacionados a temperatura e mudanças climáticas - representam limitações bastante consideráveis na produtividade e sustentabilidade em culturas de *V. unguiculata* (OMOMOWO; BABALOLA, 2021).

Apesar de não ser um considerado um organismo modelo, nos últimos o feijão-caupi se tornou objeto de pesquisa em diversos trabalhos de áreas multi-ômicas que são chave para o melhor entendimento de sua fisiologia, a posteriori possibilitando a utilização de técnicas biotecnológicas de melhoramento vegetal mais avançadas em suas vias de produção agrícola (OMOMOWO; BABALOLA, 2021). Esses trabalhos contam com estudos genômicos que incluem genoma de referência (LONARDI *et al.*, 2019), bem como estudos de expressão gênica em diferentes órgãos (YAO; JIANG; HUANG; TORRES-JEREZ; CHANG; ZHANG; UDVARDI; LIU; VERDIER, 2016) que contribuem com uma gama de dados de acesso livre que ainda não foram totalmente explorados.

1.2 Resposta a estresses ambientais

O estresse abiótico vindo sendo uma área de estudo de interesse a muito tempo, e a seca é o principal estresse desse tipo estudado mundialmente, visando principalmente o aumento ou manutenção da produtividade mesmo durante o período de estresse através de cruzamentos (CATTIVELLI; RIZZA; BADECK; MAZZUCOTELLI; MASTRANGELO; FRANCA; MARÈ; TONDELLI; STANCA, 2008). Como exemplo, o feijão-caupi, comentando anteriormente, nas condições de plena rega tem a capacidade de produzir mais de 1000 kg de grão por ha⁻¹, entretanto quando em condição de seca essa produtividade cai para 360kg, agravado quando ocorre antes do período de pré-floração (BASTOS; NASCIMENTO; SILVA; FREIRE FILHO; GOMIDE, 2011; NASCIMENTO; BASTOS; ARAÚJO; FREIRE FILHO; SILVA, 2011). A capacidade de lidar com a situação de seca presente no ambiente pode ser enfrentada pelos organismos vegetais de três formas distintas: fuga da seca, evitando a seca ou então sendo tolerante a seca (MITRA, 2001), entretanto geralmente os mecanismos utilizados são uma combinação e cooperação desses.

O mecanismo de fuga compreende a capacidade do indivíduo vegetal de completar seu ciclo de vida (fenológico) antes que as condições do solo e de disponibilidade de água se apresentem de forma crítica, assim há como respostas os mecanismos de floração e maturação precoce, plasticidade durante o desenvolvimento e remobilização dos assimilados pré-antítese (AGBICODO *et al.*, 2009; MITRA, 2001). Enquanto ao mecanismo de evitar a seca seria a capacidade da planta de manter um conteúdo consideravelmente alto potencial hídrico em seus tecidos, mesmo em uma condição de déficit hídrico, essa manutenção do turgor geralmente se dá pelo aumento da profundidade do sistema radicular somado a uma maior eficiência da absorção de água e pela redução da evapotranspiração pela menor absorção de radiação (enrolamento foliar ou dobramento) (AGBICODO *et al.*, 2009). E a tolerância a seca seria a

capacidade das plantas de suportar com uma baixo potencial hídrico o déficit hídrico, geralmente por meio da manutenção do turgor por manutenção do potencial osmótico pela acumulação de solutos, aumento da elasticidade celular e diminuição do tamanho celular e resistência do protoplasma – tolerância a dissecação- (AGBICODO; FATOKUN; MURANAKA; VISSER; VAN DER, 2009).

No feijão-caupi geralmente o traço relacionado a sua capacidade de suportar a seca é a sua capacidade de maturação precoce em diversas variedades, sendo umas das características de escape a seca de maior importância, onde a maturação em um período de 60-70 dias permite a produtividade rápida e em diversas formas de arranjo de cultivo, além de ser um possível mecanismo para o escape de infestação de insetos (EHLERS; HALL, 1997). Para o entendimento do processo de tolerância à seca em caupi foram realizados diversos estudos para entender as respostas a esse estresse, alguns mecanismos principais foram fechamento estomático, cessamento do crescimento – ou crescimento lento- e ajuste osmótico (CHAVES, 1991; DE CARVALHO, 2008). As plantas de feijão-caupi de cultivares tolerantes são conhecidas por serem vegetais com uma sensibilidade estomatal elevada e com o crescimento reduzido, além de outros cultivares com capacidade de permitir uma sobrevivência prolongada e com uma capacidade de recuperação maiores possuem três estratégias comum entre eles, que seria uma regulação estomática, com uma abertura parcial, controle osmótico e a mobilização seletiva, que é refletida pela mudança morfológica entre as folhas mais velhas em relação a mais novas (PARRY; FLEXAS; MEDRANO, 2005; CARVALHO; LAFFRAY; LOUGUET, 1998; AGBICODO; FATOKUN; MURANAKA; VISSER; VAN DER, 2009; WARREN; ARANDA; CANO, 2011).

Além disso, dentre todos os mecanismos anteriormente comentados, a porção radicular possui um papel chave na tolerância ao estresse hídrico dos cultivares resistentes. Tendo em vista que características como profundidade e densidade são vitais para a tolerância a seca (CHLOUPEK; DOSTÁL; STĚDA; PSOTA; DVOŘÁČKOVÁ, 2010). Bem como, o ajuste osmótico radicular se apresenta importante para as plantas sob condições de déficit hídrico, já que a absorção de nutrientes e água do solo podem ser prejudicados (STASOVSKI; PETERSON, 1991). Assim, o sistema radicular vegetal é de grande importância já que possuir uma capacidade responsiva e adaptativa muito alta do ponto de vista ambiental, com os seus aspectos morfológicos, fisiológicos e de crescimento, altamente relacionados ao genótipo dos indivíduos e das condições presentes (WASAYA; ZHANG; FANG; YAN, 2018). De tal forma, que o entendimento da arquitetura do sistema radicular é fundamental tendo em vista como é afetado amplamente por diversos fatores (temperatura do solo; humidade; nutrientes), o que

afeta diretamente o crescimento vegetal, que junto com suas características (plasticidade morfológica; gravitropismo) podem definir o uso mais ou menos eficiente da água das espécies vegetais (BAO; AGGARWAL; ROBBINS; STURROCK; THOMPSON; TAN; THAM; DUAN; RODRIGUEZ; VERNOUX, 2014; ROBBINS; DINNENY, 2015; MANAVALAN; GUTTIKONDA; NGUYEN; SHANNON; NGUYEN, 2009; LYNCH, 2007; UGA; SUGIMOTO; OGAWA; RANE; ISHITANI; HARA; KITOMI; INUKAI; ONO; KANNO, 2013; FORDE, 2009). Que somados a traços como o comprimento da raiz principal, proliferação de raízes secundárias e seu comprimento, e o comprimento celular das raízes laterais, por exemplo, irão definir a capacidade de absorção de água do solo e sua manutenção, podendo se apresentar como mecanismo em situações de déficit hídrico (FORDE, 2014; WALCH-LIU; IVANOV; FILLEUR; GAN; REMANS; FORDE, 2005; CHIMUNGU; BROWN; LYNCH, 2014; REWALD; EPHRATH; RACHMILEVITCH, 2010).

Desse modo, como em condições distintas de déficit hídrico as cultivares irão apresentar seu padrão de biomassa caulinar e radicular? É esperado que em condições controladas as plantas de feijão-caupi apresentem um enfoque de biomassa na sua porção subterrânea para a exploração de uma maior disponibilidade hídrica, afim de garantir sua sobrevivência. Onde é de se esperar que o cultivar considerado resistente pela literatura (Pingo-de-Ouro-1,2) apresente padrões melhores em comparação ao susceptível (Santo Inácio). (SANTOS; LIMA; MORGADO, 2010; NASCIMENTO; BASTOS; ARAÚJO; FREIRE FILHO; SILVA, 2011).

1.3 Objetivo principal

Assim, o presente trabalho teve como objetivo entender a relação e proporção de biomassa produzida e alocada nas porções caulinar e radicular dos cultivares de feijão-caupi, e sua relação com o déficit hídrico.

1.4 Objetivos específicos

Dessa forma, o experimento visou medir parâmetros de crescimento, como comprimento caulinar e radicular, afim de entender como se deu o desenvolvimento vegetal durante o período de déficit hídrico. Além desses parâmetros, avaliar o padrão radicular, principalmente a produção de raízes secundárias na relação volumétrica. Bem como, aferir os parâmetros de trocas gasosas e fotoquímicos, para entender a regulação e resposta ao estresse abiótico do aparato fotossintético. Junto com a avaliação de danos celulares, como por meio dos métodos de extravasamento de eletrólitos e espécies reativas do ácido tiobarbitúrico, para compreender a tolerância entre os cultivares e sua possível relação com os parâmetros fotossintéticos. Medir os parâmetros de trocas gasosas (transpiração foliar; assimilação líquida de CO₂; concentração

intracelular de CO₂; condutância estomática) e fotoquímicos (fluxo de elétrons para fotossistema II e rendimento quântico efetivo do fotossistema II). Além de avaliar e padronizar a metodologia de medição do potencial hídrico foliar, para confirmação do mecanismo de tolerância dos cultivares e validação do déficit hídrico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Fornecimento das cultivares, cultivos das plantas e medição dos parâmetros de crescimento das plantas de feijão-caupi

As cultivares foram fornecidas pelo Laboratório de Análise de Sementes (LASA), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza (Brasil), sendo essas a Pingo de Ouro 1,2 e a Santo Inácio, depositados em banco de germoplasma, onde foram utilizados para o fornecimento de sementes e condução de experimentos. A escolha desses cultivares se deram devido a sabida intolerância a seca do cultivar de Santo Inácio em contra partida da tolerância de Pingo de Ouro 1,2 (SANTOS; LIMA; MORGADO, 2010; NASCIMENTO; BASTOS; ARAÚJO; FREIRE FILHO; SILVA, 2011).

As sementes foram germinadas em vasos contendo 2,5L de substrato que foi preenchido em uma proporção de 1:1, vermiculita e solo (Terral®). Durante o período de crescimento, as plantas de feijão se encontraram em condição de casa de vegetação, com um fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro), umidade relativa de 70% e temperatura média de 35°/36°C. Para a padronização de crescimento, coleta das amostras e tratamento dos cultivares de Feijão-Caupi foi levado em consideração a medida de capacidade de campo (FC %) dos vasos.

Para simular o fenômeno do déficit hídrico, foram utilizados três grupos para o experimento, referente a cada condição de déficit, definidos através das suas capacidades de campo, de acordo com os trabalhos de Carvalho, Castro, Moutinho-Pereira, Correia, Egea-Cortines, Matos, Rosa, Carnide e Lino-Neto (2019), Torres-Franklin *et al.* (2007) e Nair, Abraham e Jaya (2008), sendo esses: FC 75% (controle), FC 25% e FC 0%. Esses grupos continham 4 replicatas biológicas cada, assim gerando um fatorial de: 2 cultivares x 4 replicatas biológicas x 3 tratamentos (75%FC; 25%FC; 0%) = 24 plantas de feijão ao total. Para a estimativa dos valores de capacidade de campo dos vasos foi então utilizado um vaso de mesmo volume que utilizado para o crescimento das plantas de feijão (2,5L), que foram então pesadas após serem deixadas para secar até ter sua massa estabilizada, definida como 0%, e em contrapartida 100% foi definida ao adicionar água no vaso previamente seco até que atingisse

sua capacidade de campo – início do gotejamento. Assim, o conteúdo de água foi estimado através do cálculo formulado:

Conteúdo de água = Peso do vaso 100% - Peso do vaso 0%;

$FC = ((\text{Peso do vaso em } X\% - 2,5 \text{ Kg de solo}) / \text{Conteúdo de água}) * 100.$

Visando um maior controle da capacidade de campo aferida e o déficit hídrico aplicado, os vasos foram pesados diariamente até o fim do experimento – onde os valores estabelecidos para os tratamentos podendo varia em uma faixa de no máximo 200 mL de água. Além disso, o estresse foi planejado como prolongado para o déficit hídrico, assim após as plantas terem atingido o estágio vegetativo V2 se iniciou o cessar da rega, onde a partir da primeira semana o bloco do tratamento FC25% e FC0% atingiram a capacidade de 25%. Assim, o tratamento FC25% foi irrigado apenas para a manutenção da sua capacidade dentro da faixa especulada, enquanto FC0% foi deixada para que o conteúdo de água no solo continuasse a diminuir até atingir 0% na última semana.

Para a comparação dos parâmetros de crescimento dos cultivares Pingo de Ouro 1,2 e o Santo Inácio foram medidos os parâmetros de comprimento radicular (cm planta⁻¹), comprimento de parte aérea (cm planta⁻¹), massa fresca e seca de raiz (g planta⁻¹), massa fresca e seca de parte aérea (g planta⁻¹), volume radicular (cm³ planta⁻¹), e a relação parte aérea/radicular (%). Apenas o parâmetro de comprimento de parte aérea foi medido a cada dois dias, enquanto todas as outras medidas foram realizadas ao final do experimento, tendo em vista de se tratarem de coletas destrutivas.

2.2 Medidas de trocas gasosas

Para a determinação do estresse hídrico foram realizadas análises visando a confirmação de mudanças dos parâmetros fisiológicos. Para tal, foi utilizado o equipamento IRGA LI-6400XT (Li-Cor, Lincon, NE, EUA), um analisador de gás infravermelho portátil, para medições de trocas gasosas e parâmetros fotossintéticos. Para tal a pressão parcial de CO₂ e a temperatura da câmara foram mantidas à 38 Pa e 28°C. O IRGA foi empregado para as análises de parâmetros de trocas gasosas, no caso da condutância estomática (gS), índice de transpiração (*E*), concentração intracelular de CO₂ (C_i) e fotossíntese líquida (A), através de medições pontuais no último dia de coleta. Para que a abertura estomática fosse maximizada 10% da taxa de densidade do fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) de luz azul, como proposto por Flexas, A Diaz-Espejo, Berry, Cifre, Galmes, Kaldenhoff, Medrano e Ribas-Carbo (2007) e para os parâmetros de trocas gasosas e fotossíntese foram utilizadas as equações demonstradas por Von Caemmerer e Farquhar (1981). A concentração do PPFD utilizada na câmara do IRGA foi de 1500 μmol m⁻² s⁻¹. Os cálculos utilizados para os parâmetros foram:

$$E = (F(W_s - W_r))/100S(1000 - W_s);$$

Onde para calcularmos a taxa de transpiração foliar, dada em mol H₂O m⁻² s⁻¹, são utilizados a fração molar de vapor d'água no IRGA da amostra (W_s ; mmol H₂O mol ar⁻¹), fração molar de vapor d'água no IRGA de referência (W_r ; mmol H₂O mol ar⁻¹) e a taxa molar de fluxo de ar que entra na câmara (F ; μmol s⁻¹).

$$A = (F(C_r - C_s((1000 - W_r)/(1000 - W_s)))/100S);$$

Para o cálculo de assimilação líquida de CO₂ (A), dada por μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, utilizando-se dos parâmetros fração molar no IRGA de referência (C_r ; μmol CO₂ mol ar), fração molar de CO₂ no IRGA da amostra (C_s ; μmol CO₂ mol⁻¹ ar), a fração molar de vapor d'água no IRGA da amostra (W_s ; mmol H₂O mol ar⁻¹), fração molar de vapor d'água no IRGA de referência (W_r ; mmol H₂O mol ar⁻¹) e a área foliar (S ; cm²).

$$gtc = ((1)/(1/gtw) + (kf/gbw));$$

$$kf = ((k^2 + 1)/(k + 1)^2);$$

$$gtw = (E(1000 - (W_l + W_s/2))/(W_l - W_s));$$

Para o cálculo da condutância estomática (g_s), dado em mol CO₂ m⁻² s⁻¹, ou condutância total de CO₂ (gtc), por meio da utilização dos parâmetros de condutância total a vapor d'água (gtw ; mol H₂O m⁻² s⁻¹), a razão estomática (kf), e a condutância da camada limítrofe de vapor d'água (gbw ; mol H₂O m⁻² s⁻¹). Para a estimativa da razão estomática foi calculado com base na estimativa K da fração das condutâncias estomáticas entre os dois lados da folha. Enquanto a condutância total a vapor d'água (mol H₂O m⁻² s⁻¹) foi estimada utilizando os parâmetros da taxa de transpiração foliar (E), previamente calculador, da fração molar de vapor d'água no IRGA da amostra (W_s), e pela fração molar de vapor d'água dentro da folha (W_l ; mmol H₂O mol ar⁻¹).

$$C_i = ((gtc - (E/2)) * C_s - A) / (gtc + (E/2))$$

A concentração intracelular de CO₂ (C_i), fornecida em μmol CO₂ mol⁻¹ ar, pela relação dos parâmetros de condutância total de CO₂ (gtc ; mol CO₂ m⁻² s⁻¹), taxa de transpiração (E), fração molar de CO₂ no IRGA da amostra (C_s ; μmol CO₂ mol⁻¹ ar) e pela assimilação líquida de CO₂ (A ; dada por μmol CO₂ m⁻² s⁻¹).

Enquanto os parâmetros de fluorescências referentes a clorofila a foram realizados segundo Schreiber, Bilger, Schulze e Caldwell (1994). Onde os cálculos empregados foram:

$$\Delta F/Fm' = (Fm' - F_s)/Fm';$$

Onde para o cálculo do rendimento quântico efetivo do fotossistema II (YII) foram adotados sendo Fm' e F_s representando o estado máximo e estável de fluorescência das plantas adaptadas à luz, respectivamente, obtidos após a emissão de um pulso saturante de luz.

$$ETR = (YII) * (PAR) * (0,874) * (0,5);$$

A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi obtida pelo produto dos fatores da produção de quantum do PSII (YII), medidas da radiação fotossinteticamente ativa (PAR), coeficiente de absorção da folha, e fração de luz absorvida pelo complexo antena do PSII (BELAPART; CASTRO; GIROTTI; NASCIMENTO; PICOLI JUNIOR; SIMÕES, 2013).

2.3 Potencial hídrico

O potencial hídrico foliar (ψ_{WF}) foi aferido por meio método da câmara de pressão (SCHOLANDER; BRADSTREET; HEMMINGSEN; HAMMEL, 1965), a medição ocorreu as 4:00, visando o máximo do fechamento estomático. Para que as leituras das coletas realizadas possuíssem uma menor variância, foram então aplicadas as modificações sugeridas por Rodriguez-Dominguez, Forner, Martorell, Choat, Lopez, Peters, Pfautsch, Mayr, Carins-Murphy e McAdam (2022). Desse modo, as folhas ao serem coletadas foram rapidamente colocadas no interior de um saco com vedação (*ziplock*), anteriormente preenchido com ar, e então gentilmente comprimido na direção da saída do saco para que as pressões internas do tecido vegetal fossem se igualando. Após esse procedimento as amostras foram então armazenadas em sacos de coloração preta para evitar qualquer tipo de influência da luz externa no fenômeno de abertura estomática. Além disso, esses sacos foram colocados em isopor com baterias de gelos para manter uma baixa temperatura, evitando a evapotranspiração e a manutenção dos tecidos. Assim, após toda as coletas, as amostras foliares foram deixadas durante o período de 7h para a realização das leituras na câmara de pressão – tempo obtido após diversos testes com os cultivares, que apresentou uma melhor estabilidade.

2.4 Avaliação da peroxidação lipídica e extravasamento de eletrólito

O material vegetal coletado seguiu para a utilização nas análises subsequentes. A avaliação da peroxidação lipídica, foi quantificada através do teor de malondialdeído (MDA), por meio do método das espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) (CARVALHO; CASTRO; MOUTINHO-PEREIRA; CORREIA; EGEEA-CORTINES; MATOS; ROSA; CARNIDE; LINO-NETO, 2019; LORETO; VELIKOVA, 2001; HEATH; PACK, 1986). Para cada planta (controle e tratamento) foi retirada uma alíquota contendo 70 mg de massa de folha fresca, esse material vegetal foi homogenizado em 5mL de ácido tricloroacético (TCA) 0.1% (w/v), com o auxílio de almofariz e pistilo. O homogeneizado foi então transferido para um tubo Falcon de 50 mL e centrifugado à 12.000g (rcf) por 15 min a 25°C. Seguidamente, 0,5 mL do sobrenadante foi adicionado a uma solução de 1 mL de TCA 20% (w/v) e ácido

tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (w/v) e incubado em banho-maria, por 30 min a temperatura de ebulição, visando a aceleração da reação, e deixadas para resfriar a temperatura ambiente. As amostras foram então centrifugadas a 10.000g por 5 min, e a absorbância do sobrenadante medido em dois pontos, à 532nm e em 600 nm, o ponto de absorção não específica, no espectrofotômetro, onde ao final foi realizada a diferença ($|\lambda_{600}-\lambda_{532}|$) para a aferição da concentração de MDA.

Outro parâmetro utilizado para avaliar o estresse foi o extravasamento de eletrólitos em folha, para aferir o dano de membrana das células vegetais derivados do tratamento. A análise foi realizada como descrito por Lima Neto, Lobo, Martins, Fontenele e Silveira (2014), onde foi destacado 20 discos foliares de 1 cm de diâmetro por indivíduos e tratamento, que foram então submersos em água deionizada no interior de tubos de ensaio, e ficaram onde ficarão sob agitação por um período de 16 h (*overnight*) à temperatura ambiente. Após esse período foi realizada a primeira medição da condutividade da solução (L1), e em seguida os fragmentos, ainda em solução, foram conduzidos a banho-maria e fervidos à 95°C durante 1h e resfriados até atingirem 25 °C novamente, assim sendo realizada a segunda leitura (L2). Para estimar o extravasamento de eletrólitos (EL%) foi então utilizada a relação: $[EL = (L1/L2) * 100]$.

2.5 Análises estatísticas

Os experimentos foram dispostos em um delineamento inteiramente aleatorizado, com o crescimento de plantas foi representada por 4 indivíduos. Dados dos parâmetros de crescimento, fisiológicos, e os ensaios bioquímicos, foram comparados usando o *One-Way* análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de variância estatística paramétrico de Tukey ($\rho \geq 0,05$) pela comparação entre as médias dos tratamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Afim de entender a correlação dos diferentes tratamentos de estresse hídrico e como os padrões de crescimento em cultivares de feijão-caupi irão se apresentar as plantas foram submetidas a diferentes condições de déficit hídrico, ademais visando entender os seus perfis morfofisiológicos. Para além dos padrões de estresse e a tolerância ao déficit, o estudo foi focado principalmente no entendimento da produção e alocação da biomassa produzida em suas porções caulinar e radicular. Tendo em vista o potencial ecofisiológico de *Vigna unguiculata*, com a sua capacidade de fixação do nitrogênio atmosférico, do seu sistema subterrâneo, através do processo simbiótico com bactérias fixadoras de nitrogênio (gênero *Rhizobium*), que se apresentam na forma de nódulos, bem como a capacidade de crescimento em solos pobres

nutrientes, por exemplo (CARVALHO; LINO-NETO; ROSA; CARNIDE, 2017). Também considerando a importância dessa espécie cultivada em torno dos fatores sociais e econômicos que a tornam essenciais para alguns modelos de vida (VARELA *et al.*, 2016; SOUSA; SILVA; A BASTOS; ROCHA, 2015).

Assim, os dois cultivares, Pingo-de-Ouro 1,2 (Po), considerado tolerante ao déficit hídrico, e Santo Inácio (Si), considerado intolerante, foram submetidos a três condições de disponibilidade hídrica distintas: FC75%, FC25% e FC0%. Essas condições, já utilizadas na literatura com antes já comentado, visou demonstrar a modulação dos parâmetros de crescimento em seus padrões caulinares e radiculares, além da capacidade de tolerar ao decorrer do tempo o déficit hídrico dos diferentes cultivares. Após a germinação das plantas de feijão-caupi o crescimento de parte aérea dos cultivares foi medido durante 20 dias após 2 semanas da germinação – estabelecimento do estágio V2. Inicialmente, é facilmente observável que todos os cultivares de todos os tratamentos apresentam um crescimento da parte aérea semelhantes, mas a partir do 16º dia após parada da rega (APR) – aproximadamente 20 dias do desenvolvimento vegetal - há uma clara diferença entre tratamentos. Entretanto, o parâmetro de crescimento acabou se manifestando igual nos cultivares sob mesmas condições de tratamento de déficit hídrico (Figura 1g). Esse padrão é algo comum às plantas de feijão, como já comentado anteriormente, devido ao mecanismo de crescimento lento após o início do estresse hídrico (AGBICODEO; FATOKUN; MURANAKA; VISSER; VAN DER, 2009). Ao se aproximar do final do período vegetativo, é possível observar uma grande variação entre e dentro dos cultivares. Isso se dá ao hábito desses serem prostrados próximo ao período de pré-floração, assim há um alongamento de forma não homogênea da porção caulinar dos cultivares, mas em geral suas médias são coincidentes (Figura 1g). Logo, à primeira vista, utilizando os parâmetros de crescimento não é possível ver uma diferença do desenvolvimento vegetal entre essas cultivares, mesmo que na literatura seja dito que as plantas do cultivar Santo Inácio sejam mais susceptíveis ao estresse hídrico em relação ao Pingo-de-Ouro 1,2, considerado tolerante (SANTOS; LIMA; MORGADO, 2010; NASCIMENTO; BASTOS; ARAÚJO; FREIRE FILHO; SILVA, 2011; RIVAS; FALCÃO; RIBEIRO; MACHADO; PIMENTEL; SANTOS, 2016). Dessa forma, através da observação e quantificação desse parâmetro de crescimento é possível ser reafirmada a estratégia de tolerância – aqui na realidade o mecanismo de evitação da seca - comum a ambos, na condição impostas sob os cultivares, da desaceleração do seu desenvolvimento (AGBICODEO; FATOKUN; MURANAKA; VISSER; VAN DER, 2009). Para confirmar essa afirmação e haver um melhor entendimento da resposta morfofisiológica dos cultivares, outros parâmetros de crescimento vegetal e bioquímicos foram aferidos.

Além do crescimento caulinar anteriormente medido, ao final do experimento foram coletadas e particionadas as porções caulinares e radiculares (Figura 2). Os parâmetros de massa fresca caulinar ao serem medidos possibilitaram observar que na condição controle (75%FC) a massa fresca de ambos os cultivares se apresentarem semelhantes, reforçando a afirmação de um crescimento igual de ambos os cultivares previamente afirmado (Figura 2b). O mesmo pode ser reafirmado ao compararmos a massa desses cultivares na condição de tratamento 25%FC, não havendo uma discrepância entre os cultivares, apenas uma, esperada, diminuição da massa das condições 25% e 0% em comparação ao controle. Demonstrando essa parada no crescimento pela massa fresca (teor relativo de água e biomassa) menor e constante, variando devido as disponibilidades hídricas diferentes em cada tratamento. Para além da partição e medição da massa fresca caulinar, também foi avaliada a massa seca da porção aérea, afim de entender a produção de biomassa entre os cultivares e as condições de disponibilidade hídrica distintas. Foi possível notar que o padrão anteriormente observado se repete, com a massa seca da condição controle se apresenta maior que a condição 25%FC e 0%, como esperado, em todos os cultivares (Figura 2a). Além disso, é possível ver que o perfil de massa fresca também é repetido aqui, apenas com a análise de biomassa no caso, demonstrando uma produção semelhante entre os cultivares em mesmas condições de disponibilidade hídrica (Figura 2a). O que tornar uma observação interessante, tendo em vista que na literatura os cultivares teriam capacidade de tolerar ao déficit hídrico distintas, devido a capacidades de regulação do aparato fotossintético distinto, além de uma fotoproteção, como no caso no conteúdo de clorofila, que já foi confirmado menor em Santo Inácio em condições de estresse (BASTOS; NASCIMENTO; SILVA; FREIRE FILHO; GOMIDE, 2011; RIVAS; FALCÃO; RIBEIRO; MACHADO; PIMENTEL; SANTOS, 2016). Assim, objetivando confirmar se de fato houve alteração dos parâmetros de trocas gasosas e do aparato fotoquímico, mas sem as alterações de parâmetros de crescimento, foram realizadas as medições com o analisador de gás infravermelho (IRGA).

Desse modo, as medições dos parâmetros de trocas gasosas e de eficiência fotossintética ao final do experimento (20 APR) reforçam o estado de estresse hídrico sob os cultivares (Tabela 1), já indicados pelos dados previamente apresentados de biomassa caulinar. Ao compararmos a taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) entre os cultivares, apenas as condições controles apresentaram assimilação de CO₂ para a fotossíntese, confirmado pela transpiração, que se apresenta substancial apenas nessas condições. Já as plantas sob as condições de déficit hídrico 25% e 0%, apresentaram índice fotossintético zero e com os índices de transpiração (E) baixos, indicando o fechamento estomático total das plantas nas condições

de estresse (principalmente nas plantas sob condições severas). Esses indicadores podem ser uma forma de explicar a estagnação das plantas sob condições 0% até o final da coleta, onde a capacidade de transpiração dos cultivares sob estresse diminuíram consideravelmente em relação ao controle, e dessa forma, a difusão de CO₂ foram praticamente interrompidas, levando a queda da A, ao visar uma maior eficiência do uso da água (BASTOS; NASCIMENTO; SILVA; FREIRE FILHO; GOMIDE, 2011; KAISER, 1987; FERRAZ; MELO; SUASSUNA; BRITO; FERNANDES; NUNES JÚNIOR, 2012). Reforçando o mecanismo de tolerância mencionado, com a estagnação do crescimento, somado a uma fina regulação da evapotranspiração, tudo isso somado a uma mudança dos ângulos das folhas (Figura 1) visando diminuir a exposição à radiação solar e, como consequência, a evapotranspiração foliar (DALASTRA; ECHER; GUIMARÃES; HACHMANN; INAGAKI, 2014). A baixa condutância estomática (*g_S*) dos cultivares nas condições de estresse explica a baixa taxa de assimilação de CO₂, devido a fotoinibição pelo baixo fornecimento de CO₂, bem como sua relação da condutividade com o parâmetro de transpiração foliar, para um uso da água mais eficiente (PARRY; FLEXAS; MEDRANO, 2005; LAWLOR, 2002). Essa redução de *g_S* e de E, junto com o crescimento da concentração intracelular de CO₂, podem ser reflexo do aumento de dano oxidativo ao aparato fotossintético das plantas de caupi, que se apresenta ainda mais significativo na condição 0% (Tabela 1) (ZHANG; JIANG; LI; CAO, 2014).

Como é sabido, o déficit hídrico, devido ao fechamento estomático e a realização da fotorrespiração, promove a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), a exemplo do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e óxido nítrico (NO) (FERRARI; PAZ; SILVA, 2015). Essas moléculas em níveis elevados podem gerar danos oxidativos, levando ao dano das membranas celulares e de organelas, gerando a perda da permeabilidade seletiva das membranas ou ao fenômeno de fotoinibição, por exemplo (FERRARI; PAZ; SILVA., 2015; SMIRNOFF, 1993; CARVALHO, 2008; CARVALHO; CASTRO; MOUTINHO-PEREIRA; CORREIA; EGEEA-CORTINES; MATOS; ROSA; CARNIDE; LINO-NETO, 2019). Outros fatores que demonstraram uma queda da eficiência fotossintética das plantas sob a condição déficit hídrico são os parâmetros fotoquímicos medidos (Tabela 1), mais especificamente a eficiência do fluxo de elétrons do fotossistema (ETR), nesse caso do fotossistema II, e o rendimento efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m$). Novamente, igual aos parâmetros analisados de trocas gasosas, aqui nos parâmetros fotoquímicos, foi possível observar uma diminuição significativa no ETRII, somado também a queda do parâmetro do rendimento efetivo do fotossistema II. Esse resultado provavelmente se dá pela diminuição da concentração da clorofila em plantas em estado de seca, somado ao acréscimo de C_i, refletindo, novamente em

danos ao aparato fotossintético, ocasionado ao tratamento com déficit hídrico das plantas (BASTOS; NASCIMENTO; SILVA; FREIRE FILHO; GOMIDE, 2011; GUO; LI; LIU; BAI; XUE; ZHANG, 2003).

Dessa forma, para sabermos se a alteração dos parâmetros fotossintéticos e fotoquímicos se devem às alterações nas membranas causados pelo estresse aos cultivares, foram realizados testes para avaliar esses danos. A presença do dano às membranas e tecidos é reforçada pela análise das espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARs), por meio da quantificação do malonaldeído (MDA) nos três tratamentos. No cultivar Pingo-de-Ouro 1,2 em todas as condições a concentração de malonaldeído se apresentou estável, indicando um menor estresse oxidativo, tendo em vista sua concentração de MDA estável, demonstrando um baixo nível de peroxidação lipídica (Figura 4^a). Isso em contrapartida ao cultivar Santo Inácio, que já na condição 25%FC demonstrou uma acentuada elevação no conteúdo de malonaldeído foliar, que se manteve na condição de estresse severo, indicando um possível dano oxidativo sendo causado nos tecidos foliares (CARVALHO; CASTRO; MOUTINHO-PEREIRA; CORREIA; EGEA-CORTINES; MATOS; ROSA; CARNIDE; LINO-NETO, 2019; HEATH; PACK; 1986) (Figura 4^a). O que é reforçado pelos dados do extravasamento de eletrólitos que demonstram que os tecidos vegetais das cultivares em condição de 0%FC reforçam a instabilidade das membranas pelo dano sofrido pelo déficit hídrico, podendo comprometer a integridade celular e suas funções (LIMA NETO; LOBO; MARTINS; FONTENELE; SILVEIRA, 2014) (Figura 4b).

Além dos parâmetros para avaliar o dano celulares e sua integridade de membrana, também foi avaliado o potencial hídrico foliar (ψ_{wf}), visando a confirmação do estado de déficit hídrico dos cultivares (Figura 5). A quantificação do potencial hídrico do sistema xilemático vegetal é uma ótima forma de validar e avaliar a progressão e estado de seca sobre o espécime vegetal, bem como é uma forma de avaliar a condição no organismo vegetal por inteiro (TURNER, 1981). Além da manutenção do potencial hídrico na planta sobre estresse de seca demonstra a capacidade do cultivar/espécie vegetal de tolerar o déficit hídrico (AGBICODO; FATOKUN; MURANAKA; VISSER; VAN DER, 2009; LEVITT, 1972). Para isso, então foi realizada a quantificação desses parâmetros em ambos os cultivares em todas as condições de tratamento. Dentro do grupo do cultivar Pingo-de-Ouro 1,2 é possível perceber que a condição de 25%FC não apresenta um acréscimo da pressão de forma expressiva em relação ao que foi avaliado do controle, demonstrando uma indicação de tolerância ao déficit hídrico desse cultivar, corroborando os dados anteriores, tendo em vista apenas uma diferença estatística ao compararmos a condição 75%/25%FC com a 0%FC, que já indica um aumento da pressão

hidrostática negativa, entretanto nada considerado grave ou letal. (Figura 5). Entretanto, no cultivar Santo Inácio não há uma graduação da diminuição da pressão hidrostática, onde seu potencial hídrico apresenta um decréscimo que se estabiliza ao se aproximar da condição 0%, mas que ainda não representa um potencial de estresse hídrico considerável. Vale comentar que a pressão hidrostática foliar quantificada nos cultivares Feijão-Caupi apresentam grandes diferenças entre seus tratamentos, entretanto a pressão considerada fatal para essa espécie de -1,8 MPa (entretanto com medições de até -2,5 MPa tendo sido aferidas) (BOYER, 1978). Assim, mesmo o cultivar mais suscetível ainda apresentou uma pressão hidrostática foliar inferior a esses valores, demonstrando ainda um período adicional de seca necessário para o chamado “ponto de murcha permanente fisiológico” ou pressão fatal, onde não há como a planta se recuperar da embolia sofrida nos vasos e impedindo o transporte de solutos (TURK; HALL, 1980; BOYER, 1978). No entanto, vale ressaltar que essa diferença nas dinâmicas do aumento da pressão hídrica foliar entre os cultivares podem configurar um potencial mecanismo de tolerância a seca do cultivar Pingo-de-Ouro-1,2, tendo em vista a pouca variação do controle, em comparação a Santo Inácio que houve uma queda acentuada da pressão, podendo significar o início de casos de embolismos xilêmáticos e um futuro caso de murcha permanente, demonstrando uma maior suscetibilidade do cultivar, como já comentado (LENS; TIXIER; COCHARD; SPERRY; JANSEN; HERBETTE, 2013; KURSAR; ENGELBRECHT; BURKE; TYREE; OMARI; GIRALDO, 2009). Infelizmente, não foi possível corroborar esses dados tendo em vista a intensidade do estresse que pouco afetou o potencial hídrico, como uma seca intensa deveria, assim necessitando mais experimentos futuros e com novas abordagens para a obtenção desse resultado.

Além dos parâmetros foliares, também foi avaliado e quantificado o perfil subterrâneo dos cultivares, já que o desenvolvimento radicular e seus perfis de crescimentos distintos podem explicar as diferentes respostas dos cultivares as mesmas condições de tratamentos (MATSUI; SINGH; 2003; CHLOUPEK; DOSTÁL; STŘEDA; PSOTA; DVOŘÁKOVÁ, 2010). O comprimento radicular entre os cultivares, mesmo comparando com as cultivares sob a condição de déficit hídrico severo apresentaram um crescimento igual (Figura 3e). Todavia, ao compararmos o volume radicular (Figura 3d) entre os cultivares, é possível observar que o volume da porção subterrânea de Santo Inácio se apresenta significativamente maior em comparação a Pingo-de-Ouro 1,2 na condição controle, enquanto entre os tratamentos 0% e 75% ambos os cultivares apresentam um perfil semelhante. Esse aumento do volume no cultivar Santo Inácio explica bastante o perfil de massa fresca e seca encontrado anteriormente mencionado, já que é um padrão que demanda grandes quantidades

de biomassa alocada, o que permite uma maior exploração do solo por água e nutrientes, sendo uma resposta para o padrão de massa caulinar encontrada (ZOBEL, 2005). Claro, também confirma um padrão de maior produtividade de raízes secundárias no cultivar Santo Inácio em comparação a Pingo-de-Ouro-1,2.

Quanto à massa fresca radicular, foi possível observar que na condição controle o cultivar Santo Inácio se apresentou com uma massa mais acentuada em comparação ao outro cultivar (Figura 2d), sendo devido muito pelo volume radicular acentuado como comentado, que garantiu uma maior captação de conteúdo de água do solo retido na porção radicular (ZHANG; WANG; ZOU; WU; KUČA, 2019). Algo interessante de se notar, que leva a um resultado oposto ao esperado, já que o potencial de Santo Inácio se apresenta menor, o que pela lógica deveria ser maior que Pingo-de-Ouro-1,2 devido ao aporte hídrico, algo a ser explorado futuramente. Assim, a massa se apresentou elevada devido à maior produção de raízes secundárias em relação a Po. Entretanto, nas condições de tratamento, moderada e severa, os cultivares apresentaram um padrão de massa radicular praticamente idêntico, demonstrando não haver diferença sob ambas as condições de estresse. E padrão mencionado se repetiu ao avaliarmos a massa seca radicular (Figura 2c).

Ademais, para entender melhor a relação entre a alocação de biomassa entre os cultivares comentada anteriormente ao final do experimento, foi feita a proporção massa seca radicular/massa seca da porção aérea ao final do desenvolvimento vegetal (Figura 6c). Ao compararmos esses cultivares, nas três condições de tratamento, foi possível observar apenas uma maior diferença de biomassa radicular produzida, em relação a caulinar, na condição moderada, onde o cultivar Santo Inácio se apresenta significativamente maior, ao contrário da condição controle e severa que possuem uma paridade observada. Porém, a relação massa seca/massa fresca apenas radicular (Figura 6b) apresenta um teor relativo de água maior em Pingo-de-Ouro 1,2 na condição 75%Fc, possivelmente devido ao enfoque de Santo Inácio na produção de raízes laterais e sua manutenção da água nesses tecidos, o que se altera ao observarmos os tratamentos, onde ambos possuem um perfil cada vez mais iguais, principalmente na condição 0%Fc. E, claro, sendo perceptível um aumento da relação massa seca/massa fresca radicular em ambos os cultivares em cada tratamento. Dessa forma, essas alterações nos parâmetros medidos podem ser correlacionadas em determinado ponto na produção e alocação de biomassa na porção aérea, onde é possível observar que o teor relativo de água no cultivar Pingo-de-Ouro-1,2 se apresenta menor, demonstrando uma tendência na maior produção de biomassa, enquanto ainda apresenta um potencial hídrico positivo e com poucas modificações. Enquanto em Santo Inácio, há um teor relativo de água, principalmente

na porção radicular, devido ao volume significativo produzido por esse cultivar na condição controle, entretanto apresenta a interessante medição de um potencial hídrico mais negativo, podendo ter alguma relação com os diferentes padrões encontrados. E claro, em todos os cultivares, quanto maior o déficit hídrico mais acentuada é a redução da massa das porções radicular e caulinares, bem como há uma diminuição clara dos potenciais hídricos, principalmente em Santo Inácio, possivelmente devido aos padrões anteriormente comentados.

É possível que a diferença pouco expressiva entre os cultivares, como foi discutido durante os resultados, se deu ao desenho experimental escolhido, acredito que futuramente poderia ser realizado período de déficit hídrico mais prolongado, até que se chegasse próximo ou de fato no ponto de murcha permanente, categorizando um estresse severo, ou então em uma condição que o estresse fosse ocasionado mais rapidamente ao invés de prolongado. Já que ao observarmos os padrões radiculares de ambos os cultivares é possível perceber um hábito mais pivotante do cultivar Pingo-de-Ouro-1,2, enquanto Santo Inácio apresenta um hábito mais focado no desenvolvimento de raízes secundárias, o que é observado nas condições controle do tratamento, além de um interessante padrão de potencial hídrico entre os cultivares e sua relação com o conteúdo relativo de água nos tecidos. Vale também ressaltar nas condições de déficit hídrico aplicado foi possível a mensuração e observação de parâmetros indicativos de estresse nos cultivares, entretanto, novamente, seria necessário a aplicação de uma forma diferente do estresse para condições mais severas do estresse.

Dessa forma, é possível perceber que durante o desenvolvimento vegetativo entre ambos os cultivares sob as condições de déficit hídrico aplicados, que dentre todos os parâmetros analisados, desde de fisiológicos, bioquímicos e fotoquímicos, poucos são os parâmetros que demonstraram uma diferença significativa indicando uma tolerância diferenciada entre Pingo-de-Ouro-1,2 e Santo Inácio. Como já foi demonstrado em alguns estudos voltados para parâmetros durante o período de floração e pré-floração e plântula entre os dois cultivares, tanto em condições controles como sob estresse (LIMA *et al.*, 2018; CARVALHO; CASTRO; MOUTINHO-PEREIRA; CORREIA; EGEA-CORTINES; MATOS; ROSA; CARNIDE; LINO-NETO, 2019; GONDIM, 2016; SANTOS; LIMA; MORGADO, 2010; NASCIMENTO; BASTOS; ARAÚJO; FREIRE FILHO; SILVA, 2011; RIVAS; FALCÃO; RIBEIRO; MACHADO; PIMENTEL; SANTOS, 2016). Entretanto, os parâmetros de conteúdo relativo de água, biomassa, padrão radicular/caulinar e potencial hídrico, lançam novas perspectivas sobre como os mecanismo de tolerância ao déficit hídrico podem se apresentar distintos nesses cultivares, e futuramente possam ser aplicados para aplicações práticas.

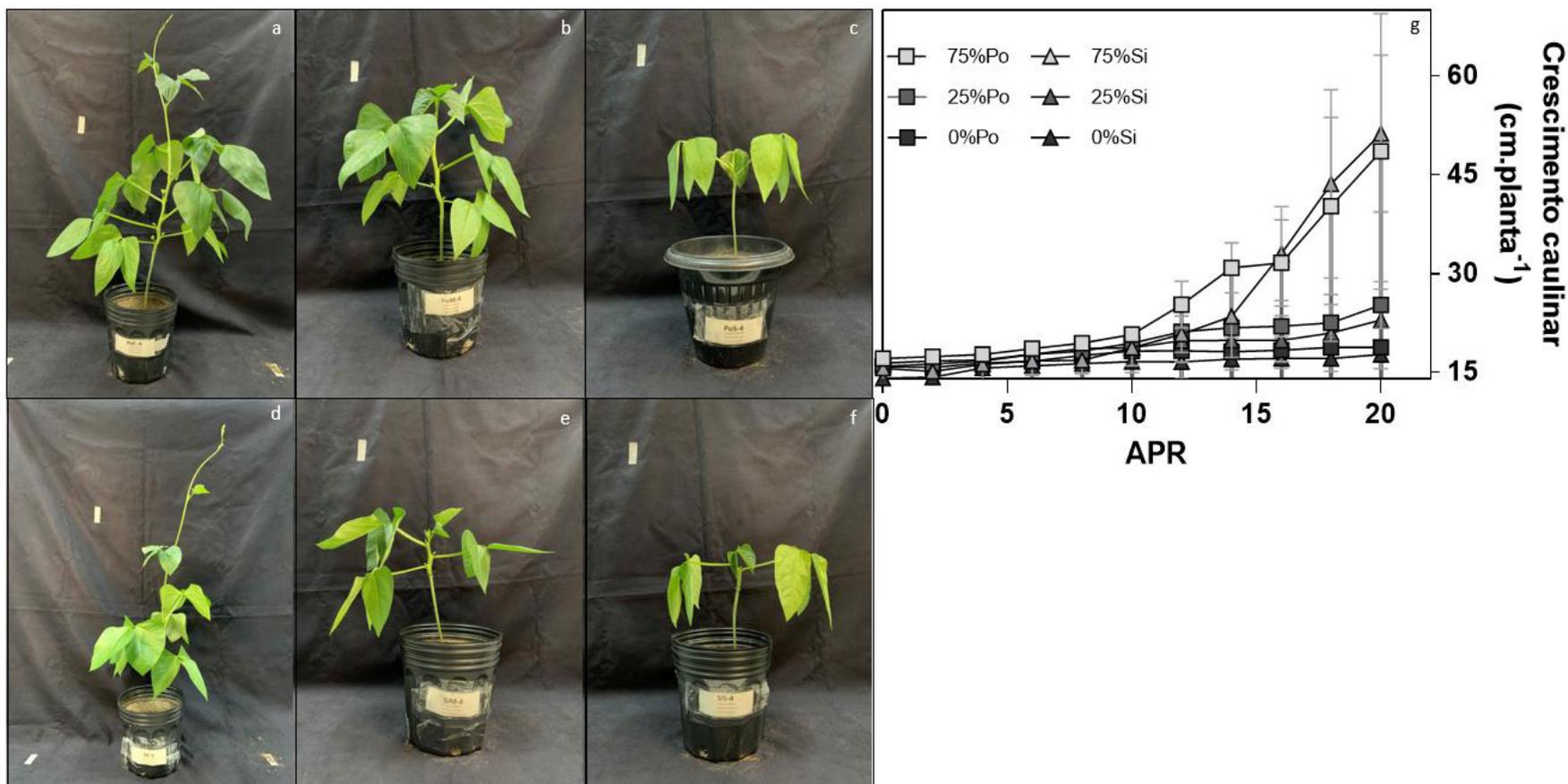


Figura 1. Plantas de feijão-caupi dos cultivares Pingo-de-Ouro-1,2 e Santo Inácio em vasos nas condições déficit hídrico 75%FC, 25%FC e 0%FC, respectivamente(a-f) ao final de um período de 20 dias após a parada da rega. Crescimento da parte aérea pelo período de 20 dias após o estabelecimento de plântula (g). Os valores representados indicam a média de quatro repetições independentes (\pm SE). Com as barras representando o erro padrão. Os traços brancos nas fotografias representam uma barra de 5cm para comparação. Os valores representados indicam a média de quatro repetições independentes (\pm SE).

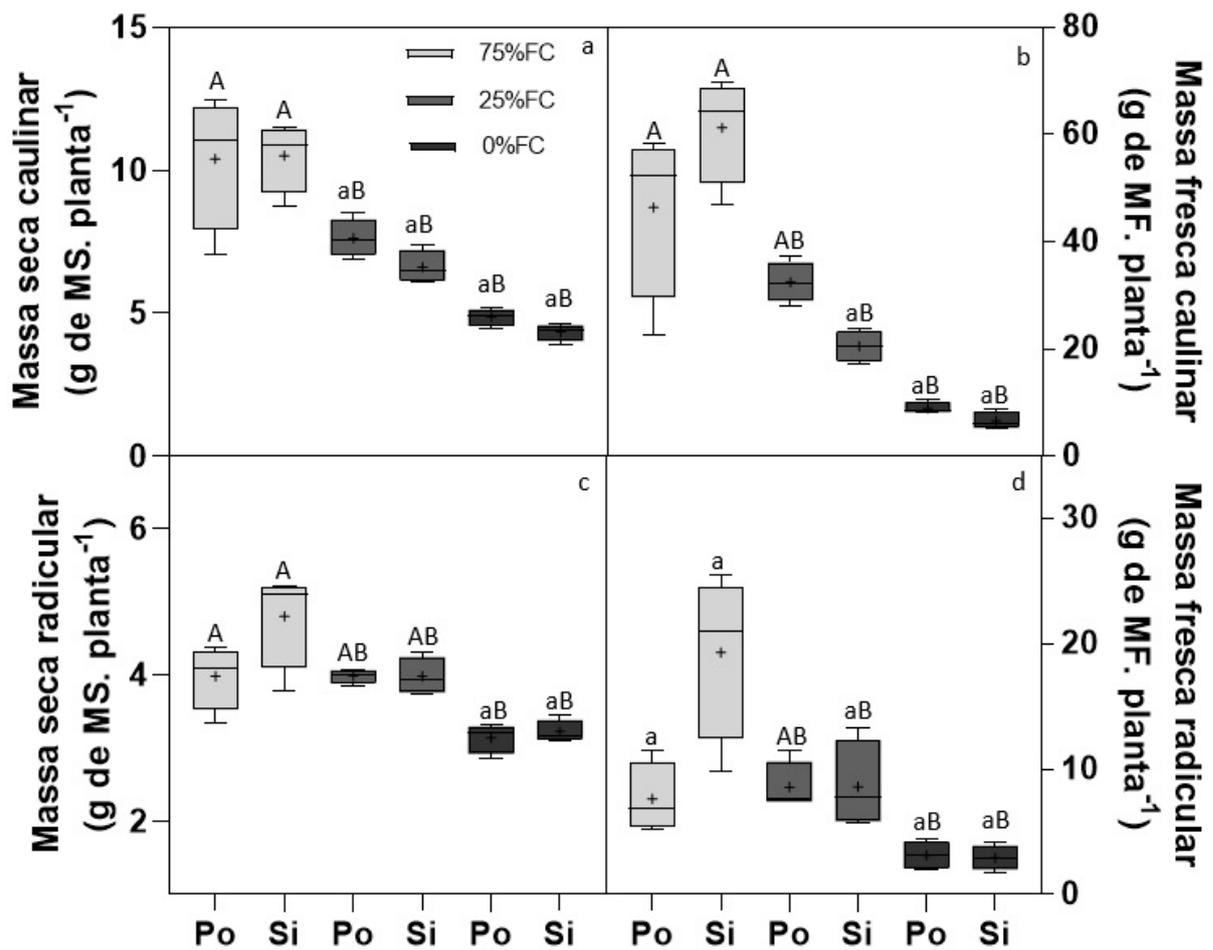


Figura 2. Gráficos de boxplot para a análise de dispersão de massa seca e fresca caulinar (a-b) e massa seca e fresca radicular (c-d) dos cultivares Pingo-de-Ouro-1,2 e Santo Inácio, respectivamente, sob as condições de déficit hídrico 75%FC, 25%FC e 0%FC. Os valores representados indicam um espaço amostral de repetições independentes ($n = 4$), com as barras demonstrando os valores máximos e mínimos, e com + simbolizando a média das amostras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre indivíduos em condições semelhantes de acordo com o Teste de Tukey, ao utilizar para comparação os valores de médias obtidas por quatro repetições diferentes de indivíduos em condições semelhantes, para a obtenção de significância estatística ($p \leq 0.05$) de acordo com o Teste de Tukey. A letra “a” simbolizando a significância estatística entre os tratamentos, enquanto a maiúscula a ausência de diferença. E a letra “b” enquanto a letra minúscula representa a significância entre os cultivares de mesmo tratamento, e a maiúscula a ausência de significância.

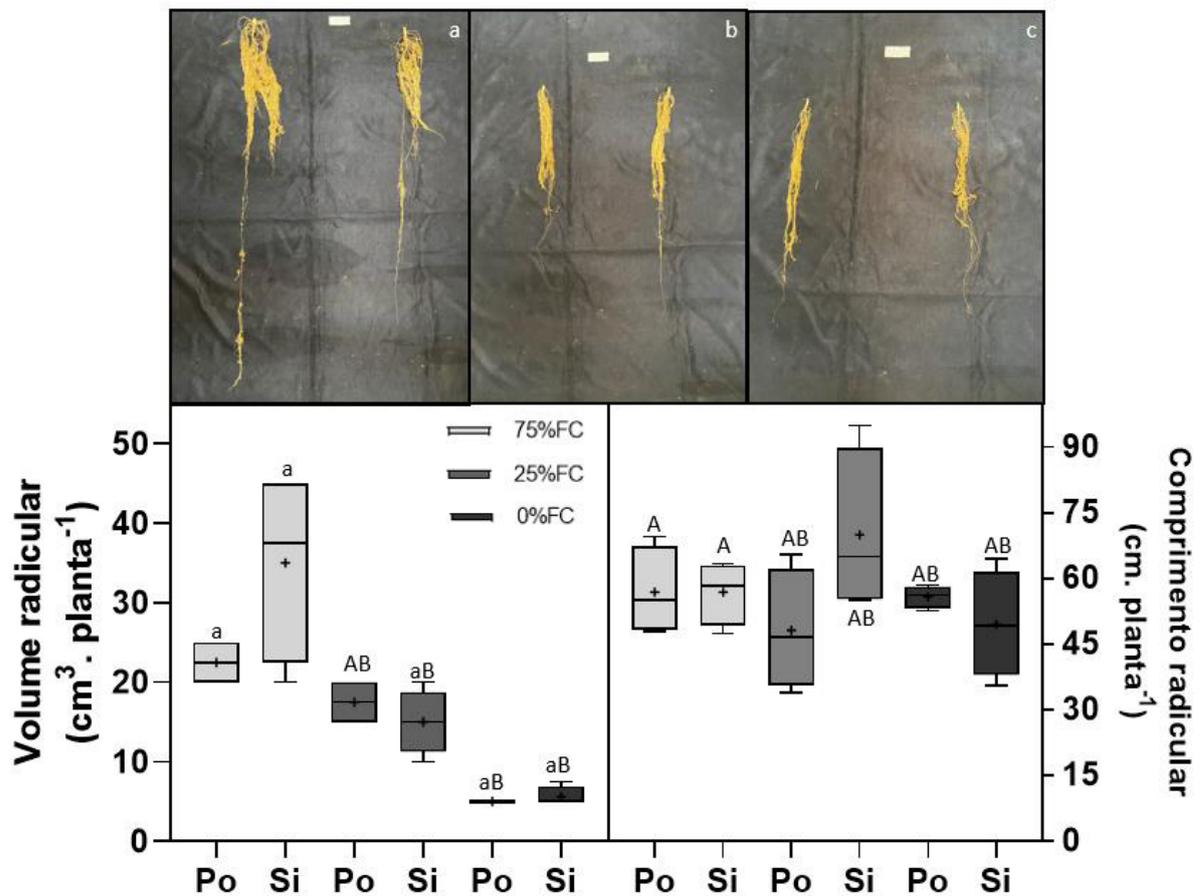


Figura 3. Raiz de plantas de feijão-caupi dos cultivares Santo Inácio (esquerda) e Pingo-de-Ouro-1,2 (direita) em vasos nas condições déficit hídrico 75%FC, 25%FC e 0%FC (a-c) ao final de um período de 30 dias de crescimento, respectivamente. E gráficos de bloxpot representando o crescimento e volume radicular dos cultivares nos diferentes tratamentos (d-e) ao final do período de 30 dias. Os valores representados indicam um espaço amostral de repetições independentes ($n = 4$), com as barras demonstrando os valores máximos e mínimos, e com + simbolizando a média das amostras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre indivíduos em condições semelhantes de acordo com o Teste de Tukey, ao utilizar para comparação os valores de médias obtidas por quatro repetições diferentes de indivíduos em condições semelhantes, para a obtenção de significância estatística ($p \leq 0.05$) de acordo com o Teste de Tukey. A letra “a” simbolizando a significância estatística entre os tratamentos, enquanto a maiúscula a ausência de diferença. E a letra “b” enquanto a letra minúscula representa a significância entre os cultivares de mesmo tratamento, e a maiúscula a ausência de significância.

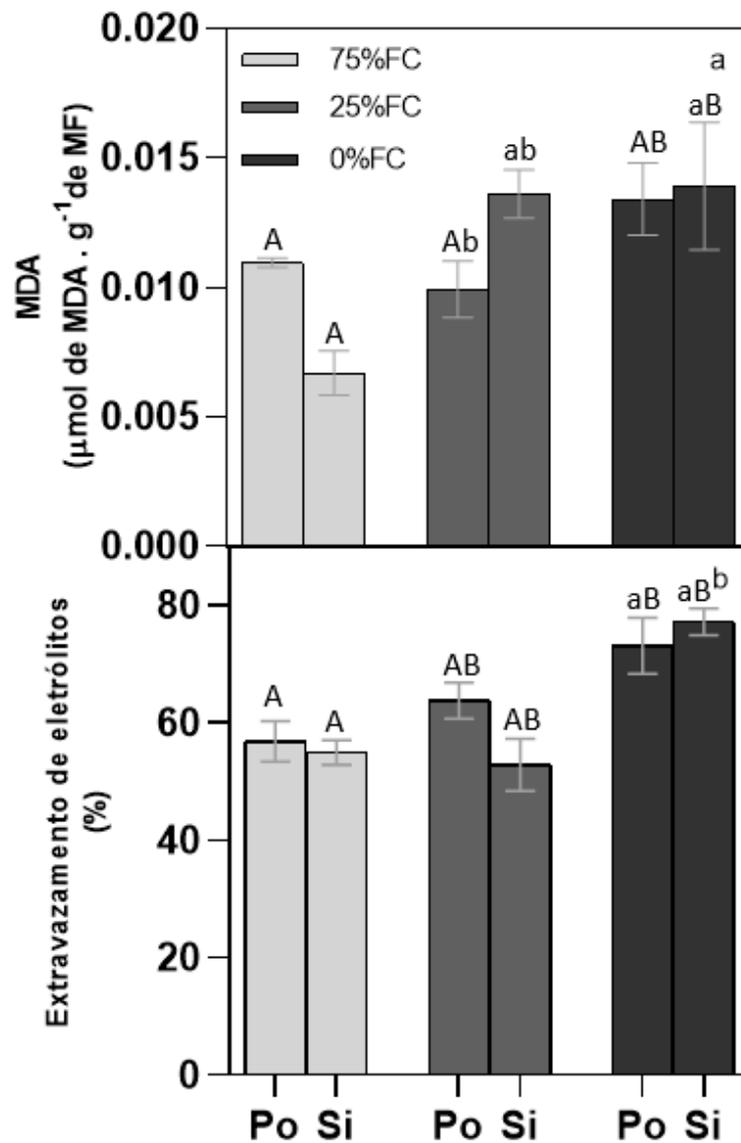


Figura 4. Gráficos de barras das médias representando as TBARS pela quantificação do MDA (a) e o extravasamento de eletrólitos (b) para a quantificação da integridade das membranas. Os valores representados no boxplot indicam um espaço amostral de repetições independentes ($n = 3$), com as barras demonstrando os valores máximos e mínimos, e com + simbolizando a média das amostras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre indivíduos em condições semelhantes de acordo com o Teste de Tukey, ao utilizar para comparação os valores de médias obtidas por quatro repetições diferentes de indivíduos em condições semelhantes, para a obtenção de significância estatística ($p \leq 0.05$) de acordo com o Teste de Tukey. A letra “a” simbolizando a significância estatística entre os tratamentos, enquanto a maiúscula a ausência de diferença. E a letra “b” enquanto a letra minúscula representa a significância entre os cultivares de mesmo tratamento, e a maiúscula a ausência de significância.

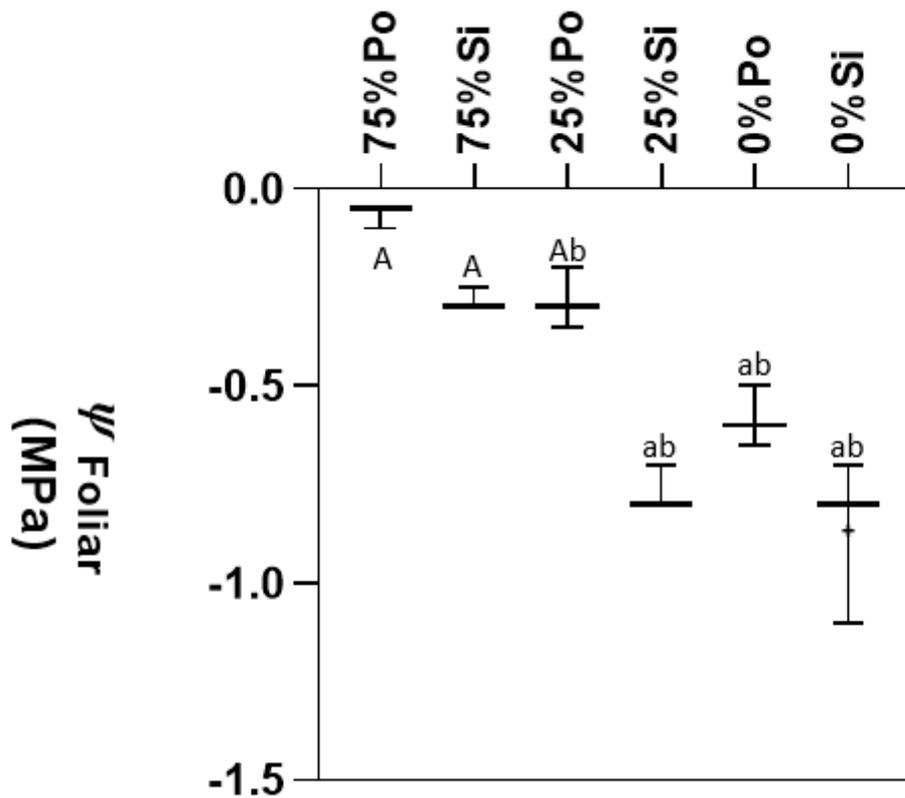


Figura 5. Gráfico de boxplot representando a dispersão dos dados coletados do potencial hídrico dos cultivares de feijão-caupi e seus respectivos tratamentos de déficit hídrico ao final do experimento (30 dias após a parada da rega). Os valores representados indicam um espaço amostral de repetições independentes ($n = 3$), com as barras demonstrando os valores máximos e mínimos, e com + simbolizando a média das amostras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre indivíduos em condições semelhantes de acordo com o Teste de Tukey, ao utilizar para comparação os valores de médias obtidas por quatro repetições diferentes de indivíduos em condições semelhantes, para a obtenção de significância estatística ($p \leq 0.05$) de acordo com o Teste de Tukey. A letra “a” simbolizando a significância estatística entre os tratamentos, enquanto a maiúscula a ausência de diferença. E a letra “b” enquanto a letra minúscula representa a significância entre os cultivares de mesmo tratamento, e a maiúscula a ausência de significância.

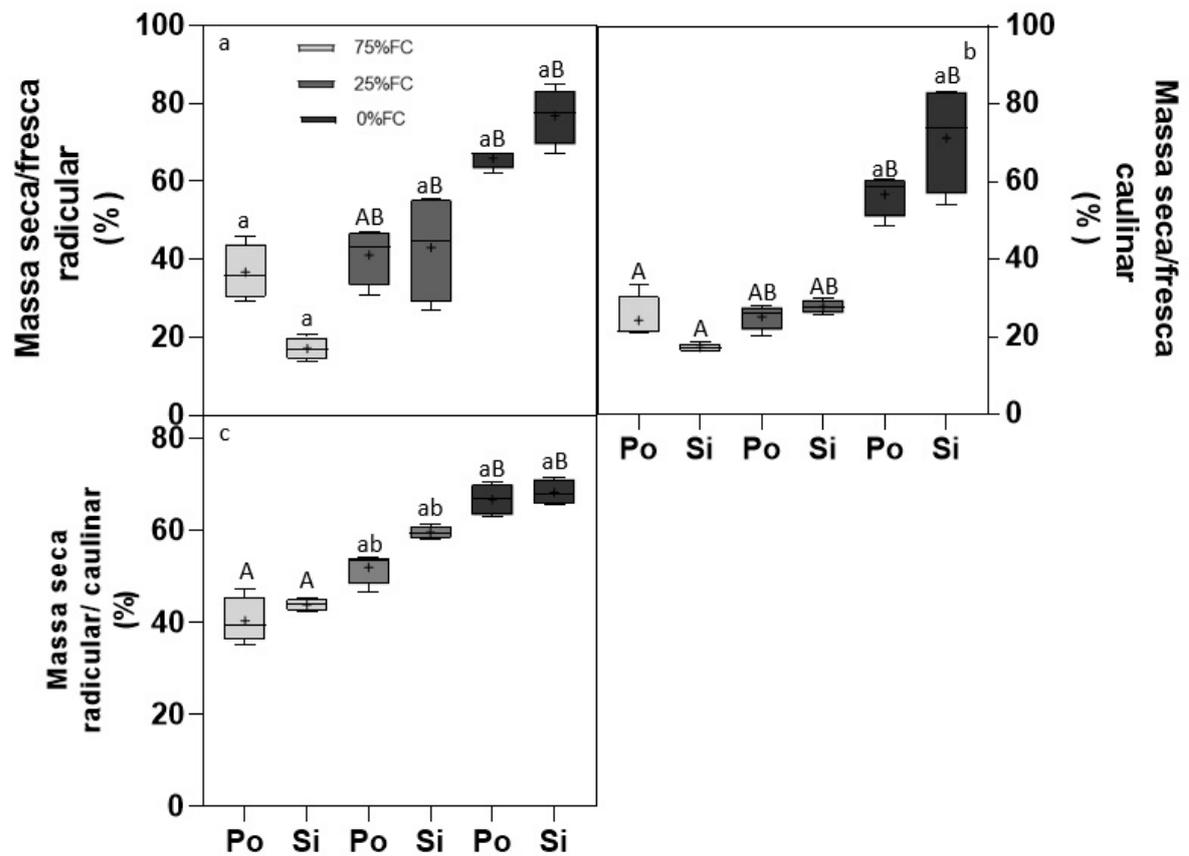


Figura 6. Gráficos de bloxplot representando a relação de massa seca/fresca das porções caulinar e radicular dos cultivares nos diferentes tratamentos (a-b) ao final do período de 30 dias. Boxplot para análise de dispersão da relação de alocação e biomassa entre massa seca radicular/massa seca caulinar (c). Os valores representados indicam um espaço amostral de repetições independentes ($n = 4$), com as barras demonstrando os valores máximos e mínimos, e com + simbolizando a média das amostras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre indivíduos em condições semelhantes de acordo com o Teste de Tukey, ao utilizar para comparação os valores de médias obtidas por quatro repetições diferentes de indivíduos em condições semelhantes, para a obtenção de significância estatística ($p \leq 0.05$) de acordo com o Teste de Tukey. A letra “a” simbolizando a significância estatística entre os tratamentos, enquanto a maiúscula a ausência de diferença. E a letra “b” enquanto a letra minúscula representa a significância entre os cultivares de mesmo tratamento, e a maiúscula a ausência de significância.

Tabela 1. Parâmetros de trocas gasosas medidas pelo analisador de gás infravermelho IRGA representando taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO₂(Ci) e transpiração foliar (E). Além, da medição de parâmetros do fotossistema II, como a taxa de transporte de elétrons (ETR) e a rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/Fm'$). Os valores representados indicam um espaço amostral de repetições independentes (n = 3), com a média das amostras. Letras diferentes indicam diferença significativa entre indivíduos em condições semelhantes de acordo com o Teste de Tukey, ao utilizar para comparação os valores de médias obtidas por quatro repetições diferentes de indivíduos em condições semelhantes, para a obtenção de significância estatística ($p \leq 0.05$) de acordo com o Teste de Tukey. A letra “a” simbolizando a significância estatística entre os tratamentos, enquanto a maiúscula a ausência de diferença. E a letra “b” enquanto a letra minúscula representa a significância entre os cultivares de mesmo tratamento, e a maiúscula a ausência de significância.

Tratamentos	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		g _s ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Ci ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ar)		E ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		ETR		$\Delta F/Fm'$	
75%Po	9,542	A	0,233	A	266,706	A	2,140	A	140,554	A	0,231	A
25%Po	-1,932	aB	0,029	aB	394,379	AB	1,028	AB	86,359	aB	0,131	aB
0%Po	-7,861	aB	0,004	aB	2578,635	aB	0,190	aB	16,891	aB	0,025	aB
75%Si	10,141	A	0,118	A	261,125	A	2,911	A	153,867	A	0,253	A
25%Si	-0,965	aB	0,016	aB	476,143	aB	0,926	aB	64,249	aB	0,158	aB
0%Si	-9,664	aB	0,006	aB	1487,888	aB	0,180	aB	17,119	aB	0,026	aB

4.CONCLUSÃO

Em geral os parâmetros de crescimento se apresentaram semelhantes, quando diferentes destoando pouco, entretanto os parâmetros como potencial hídrico e de aspectos morfofisiológicos da porção caulinar demonstraram relações e suposições interessantes para futuros experimentos voltados para o entendimento do estresse hídrico em feijão-caupi futuramente. Além disso, o trabalho destoou principalmente de trabalhos anteriores focados principalmente em aspectos reprodutivos e produtivos dos cultivares de feijão-caupi, além de tentar entender, em certo nível, as diferentes respostas desses a condições de déficit hídrico. Assim, mesmo os cultivares não sendo tão destoantes, mas promissores, seria interessante no futuro o desenvolvimento de experimentos explorando períodos de estresse mais longos, além de condições de estresse e recuperação entre os tratamentos, para a análise dos parâmetros de crescimentos e como eles iriam se dar. Ademais, além desse enfoque morfofisiológico bastante comum, futuramente os cultivares tratados no presente estudo poderiam também ser explorados num viés molecular, afim de entender as suas respostas diferentes e sucessos de sobrevivência durante o estresse hídrico, através de rotas conhecidas em plantas modelos ou por metodologias que permitam a descoberta de novos mecanismo proteicos - alguns já conhecidos - e genéticos durante o déficit hídrico, agregando um novo valor biotecnológico a esses cultivares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A DYATLOV, S; DIDENKO, N I; A IVANOVA, E; SOSHNEVA, E B; KULIK, S V. Prospects for Alternative Energy Sources in Global Energy Sector. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.L.], v. 434, n. 1, p. 012014, 1 jan. 2020. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/434/1/012014>.

AGBICODO, E. M.; FATOKUN, C. A.; MURANAKA, S.; VISSER, R. G. F.; VAN DER, C. G. Linden. Breeding drought tolerant cowpea: constraints, accomplishments, and future prospects. **Euphytica**, [S.L.], v. 167, n. 3, p. 353-370, 30 jan. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-009-9893-8>.

AL-GHUSSAIN, Loiy. Global warming: review on driving forces and mitigation. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 13-21, 5 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ep.13041>.

ALPINO, Tais de Moura Ariza; MAZOTO, Maíra Lopes; BARROS, Denise Cavalcante de; FREITAS, Carlos Machado de. Os impactos das mudanças climáticas na Segurança Alimentar e Nutricional: uma revisão da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 273-286, jan. 2022. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232022271.05972020>.

BAO, Yun; AGGARWAL, Pooja; ROBBINS, Neil E.; STURROCK, Craig J.; THOMPSON, Mark C.; TAN, Han Qi; THAM, Cliff; DUAN, Lina; RODRIGUEZ, Pedro L.; VERNOUX, Teva. Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 111, n. 25, p. 9319-9324, 9 jun. 2014. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1400966111>.

BASTOS, Edson Alves; NASCIMENTO, Sebastião Pereira do; SILVA, Everaldo Moreira da; FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; GOMIDE, Reinaldo Lúcio. Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. **Revista Ciência Agronômica**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 100-107, mar. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-66902011000100013>.

BELAPART, Diego; CASTRO, Edicarlos Batista de; GIROTTO, Marcelo; NASCIMENTO, Renan Fonseca; PICOLI JUNIOR, Gilmar José; SIMÕES, Plínio Saulo. AVALIAÇÃO DA TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS DE MISTURAS DE HERBICIDAS NO CONTROLE DE B. Decumbens EM PÓS-EMERGÊNCIA. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia*, [s. l], v. 24, n. 2, p. 79-90, dez. 2013. Disponível em: revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_dest. Acesso em: 11 dez. 2022.

BOYER, J.S., 1978. Water deficits and photosynthesis. In: Kozlowski, T.T. (Ed.), *Water Deficits and Plant Growth*. Academic, New York, pp. 153–190.

CARVALHO, Márcia; CASTRO, Isaura; MOUTINHO-PEREIRA, José; CORREIA, Carlos; EGEEA-CORTINES, Marcos; MATOS, Manuela; ROSA, Eduardo; CARNIDE, Valdemar; LINO-NETO, Teresa. Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. **Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 241, p. 153001, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153001>.

CARVALHO, Márcia; LINO-NETO, Teresa; ROSA, Eduardo; CARNIDE, Valdemar. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 97, n. 13, p. 4273-4284, 17 mar. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.8250>.

CARVALHO, Maria H Cruz de; LAFFRAY, Daniel; LOUGUET, Philippe. Comparison of the physiological responses of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. **Environmental And Experimental Botany**, [S.L.], v. 40, n. 3, p. 197-207, dez. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0098-8472\(98\)00037-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0098-8472(98)00037-9).

CARVALHO, Márcia; LINO-NETO, Teresa; ROSA, Eduardo; CARNIDE, Valdemar. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 97, n. 13, p. 4273-4284, 17 mar. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.8250>.

CARVALHO, Maria Helena Cruz de. Drought stress and reactive oxygen species. **Plant Signaling & Behavior**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 156-165, mar. 2008. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.4161/psb.3.3.5536>.

CATTIVELLI, Luigi; RIZZA, Fulvia; BADECK, Franz-W.; MAZZUCOTELLI, Elisabetta; MASTRANGELO, Anna M.; FRANCIÀ, Enrico; MARÈ, Caterina; TONDELLI, Alessandro; STANCA, A. Michele. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, [S.L.], v. 105, n. 1-2, p. 1-14, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2007.07.004>.

CHIMUNGU, Joseph G.; BROWN, Kathleen M.; LYNCH, Jonathan P.. Large Root Cortical Cell Size Improves Drought Tolerance in Maize. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 166, n. 4, p. 2166-2178, 7 out. 2014. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1104/pp.114.250449>.

CHLOUPEK, O.; DOSTÁL, V.; STŘEDA, T.; PSOTA, V.; DVOŘÁČKOVÁ, O.. Drought tolerance of barley varieties in relation to their root system size. **Plant Breeding**, [S.L.], v. 129, n. 6, p. 630-636, 21 jul. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0523.2010.01801.x>.

DALASTRA, Graciela Maiara; ECHER, Márcia de Moraes; GUIMARÃES, Vandeir Francisco; HACHMANN, Tiago Luan; INAGAKI, Adriano Mitio. Trocas gasosas e produtividade de três cultivares de meloeiro conduzidas com um e dois frutos por planta. **Bragantia**, [S.L.], v. 73, n. 4, p. 365-371, 28 out. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.206>.

EHLERS, J.D.; HALL, A.e.. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Field Crops Research**, [S.L.], v. 53, n. 1-3, p. 187-204, jul. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4290\(97\)00031-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4290(97)00031-2).FAO. 2018. The future of food and agriculture – Alternative pathways to 2050. Rome. 224 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FERRARI, E.; PAZ, A. da.; SILVA, A. C. da. Déficit hídrico no metabolismo da soja em sementeiras antecipadas no Mato Grosso. *Nativa*, v. 3, n. 1, p. 67-77, jan./mar. 2015.

FERRAZ, R.L.S.; MELO, A.S.; SUASSUNA, J.F.; BRITO, M.E.B.; FERNANDES, P.D.; NUNES JÚNIOR, E.S. Trocas gasosas e eficiência fotossintética em ecótipos de feijoeiro cultivados no semiárido. *Revista Pesquisa Tropical*, v.42, p.181-188, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632012000200010>

FLEXAS, J; A DIAZ-ESPEJO,; BERRY, J.; CIFRE, J; GALMES, J; KALDENHOFF, R; MEDRANO, H; RIBAS-CARBO, M. Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. **Journal Of Experimental Botany**, [S.L.], v. 58, n. 6, p. 1533-1543, 5 mar. 2007. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erm027>.

FORDE, B. G.. Is it good noise? The role of developmental instability in the shaping of a root system. **Journal Of Experimental Botany**, [S.L.], v. 60, n. 14, p. 3989-4002, 16 set. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erp265>.

FORDE, Brian G. Nitrogen signalling pathways shaping root system architecture: an update. **Current Opinion In Plant Biology**, [S.L.], v. 21, p. 30-36, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2014.06.004>.

GONÇALVES, Alexandre; GOUFO, Piebiep; BARROS, Ana; DOMÍNGUEZ-PERLES, Raúl; TRINDADE, Henrique; ROSA, Eduardo A s; FERREIRA, Luis; RODRIGUES, Miguel. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), a renewed multipurpose crop for a more sustainable agri-food system: nutritional advantages and constraints. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 96, n. 9, p. 2941-2951, 1 mar. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7644>.

GONDIM, Georjane de Melo Castro. **TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM VARIETADES LOCAIS DE FEIJÃOCAUPI EM FASE DE PLÂNTULAS**. 2016. 47 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

GOMES, Ana M.F.; RODRIGUES, Ana P.; ANTÓNIO, Carla; RODRIGUES, Ana M.; LEITÃO, António E.; BATISTA-SANTOS, Paula; NHANTUMBO, Nascimento; MASSINGA, Rafael; RIBEIRO-BARROS, Ana I.; RAMALHO, José C.. Drought response of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces at leaf physiological and metabolite profile levels. **Environmental And Experimental Botany**, [S.L.], v. 175, p. 104060, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104060>.

GUO, Y. Y.; LI, H. J.; LIU, J.; BAI, Y. W.; XUE, J. Q.; ZHANG, R. H.. Submergence-induced damage of photosynthetic apparatus in *Phragmites australis*. **Environmental And Experimental Botany**, [s. l.], v. 67, p. 227-235, 03 nov. 2003.

HEATH, Robert L.; PACKER, Lester. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, [S.L.], v. 125, n. 1, p. 189-198, abr. 1968. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1).

KAISER, Werner M.. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. **Physiologia Plantarum**, [S.L.], v. 71, n. 1, p. 142-149, set. 1987. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1987.tb04631.x>

KURSAR, Thomas A.; ENGELBRECHT, Bettina M. J.; BURKE, Amy; TYREE, Melvin T.; OMARI, Bouchra Ei; GIRALDO, Juan P.. Tolerance to low leaf water status of tropical tree seedlings is related to drought performance and distribution. **Functional Ecology**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 93-102, fev. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01483.x>.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, v. 25, p. 275-294, 2002.

LENS, Frederic; TIXIER, Aude; COCHARD, Hervé; SPERRY, John s; JANSEN, Steven; HERBETTE, Stephane. Embolism resistance as a key mechanism to understand adaptive plant strategies. **Current Opinion In Plant Biology**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 287-292, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.005>.

LEVITT, J.. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses. **Academic Press**, Londres, v. 2, p. 1-607, 1972. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810720211>. Acesso em: 02 dez. 2022.

LIMA NETO, Milton C.; LOBO, Ana K.M.; MARTINS, Marcio O.; FONTENELE, Adilton V.; SILVEIRA, Joaquim Albenisio G.. Dissipation of excess photosynthetic energy contributes to salinity tolerance: a comparative study of salt-tolerant *ricinus communis* and salt-sensitive *jatropha curcas*. **Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 171, n. 1, p. 23-30, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.002>. Lonardi, Stefano, et al. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *The Plant Journal* 98.5 (2019): 767-782.

LORETO, Francesco; VELIKOVA, Violeta. Isoprene Produced by Leaves Protects the Photosynthetic Apparatus against Ozone Damage, Quenches Ozone Products, and Reduces Lipid Peroxidation of Cellular Membranes. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 127, n. 4, p. 1781-1787, 1 dez. 2001. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1104/pp.010497>.

LYNCH, Jonathan P.. Roots of the Second Green Revolution. **Australian Journal Of Botany**, [S.L.], v. 55, n. 5, p. 493, 2007. CSIRO Publishing. <http://dx.doi.org/10.1071/bt06118>.

DURAIPIANDIAN, M.; POORANI, K.e.; ABIRAMI, H.; ANUSHA, M.B.. *Vigna unguiculata* (L.) Walp: a strategic crop for nutritional security, well being and environmental protection. **Legumes Research - Volume 2**, [S.L.], v. 2, p. 1-12, 12 out. 2022. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.103025>. Marengo, J. A., Torres, R. R., & Alves, L. M. (2017). Drought in Northeast Brazil—past, present, and future. *Theoretical and Applied Climatology*, 129(3), 1189-1200.

MITRA, Jiban. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. **Current Science Association**, [s. l.], v. 80, n. 6, p. 758-763, 25 mar. 2001. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/24105661>. Acesso em: 12 dez. 2022.

NASCIMENTO, Sebastião P. do; BASTOS, Edson A.; ARAÚJO, Eugênio C. E.; FREIRE FILHO, Francisco R.; SILVA, Everaldo M. da. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [S.L.], v. 15, n. 8, p. 853-860, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-43662011000800013>.

NAIR, Akhila s; ABRAHAM, T. K.; JAYA, D. S.. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidation in drought stress induced cowpea (*Vigna unguiculata* [Walp] L.) varieties. **Journal Of Environmental Biology**, [s. l.], v. 5, n. 29, p. 689-691, set. 2008.

MATSUI, T.; SINGH, B. B.. ROOT CHARACTERISTICS IN COWPEA RELATED TO DROUGHT TOLERANCE AT THE SEEDLING STAGE. **Experimental Agriculture**, [S.L.],

v. 39, n. 1, p. 29-38, jan. 2003. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0014479703001108>.

OMOMOWO, Olawale Israel; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Constraints and Prospects of Improving Cowpea Productivity to Ensure Food, Nutritional Security and Environmental Sustainability. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 12, p. 1-25, 22 out. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2021.751731>.

PARRY, M.A.J.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H.. Prospects for crop production under drought: research priorities and future directions. **Annals Of Applied Biology**, [S.L.], v. 147, n. 3, p. 211-226, dez. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.00032.x>.

REWALD, Boris; EPHRATH, Jhonathan E.; RACHMILEVITCH, Shimon. A root is a root is a root? Water uptake rates of Citrus root orders. **Plant, Cell & Environment**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 33-42, 28 set. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02223.x>.

RIVAS, R.; FALCÃO, H.M.; RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; PIMENTEL, C.; SANTOS, M.G.. Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. **South African Journal Of Botany**, [S.L.], v. 103, p. 101-107, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2015.08.008>.

ROBBINS, Neil E.; DINNENY, José R.. The divining root: moisture-driven responses of roots at the micro- and macro-scale. **Journal Of Experimental Botany**, [S.L.], v. 66, n. 8, p. 2145-2154, 22 jan. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eru496>.

RODRIGUEZ-DOMINGUEZ, Celia M.; FORNER, Alicia; MARTORELL, Sebastia; CHOAT, Brendan; LOPEZ, Rosana; PETERS, Jennifer M. R.; PFAUTSCH, Sebastian; MAYR, Stefan; CARINS-MURPHY, Madeline R.; MCADAM, Scott A. M.. Leaf water potential measurements using the pressure chamber: synthetic testing of assumptions towards best practices for precision and accuracy. **Plant, Cell & Environment**, [S.L.], v. 45, n. 7, p. 2037-2061, 23 abr. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/pce.14330>.

SANTOS, Cleberlito Fernandes; LIMA, Giuseppina Pace Pereira; MORGADO, Luiz Balbino. Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. *Naturalia*, v. 33, p. 34-44, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/141229>>.

SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, Edda D.; HEMMINGSEN, E. A.; HAMMEL, H. T.. Sap Pressure in Vascular Plants. **Science**, [S.L.], v. 148, n. 3668, p. 339-346, 16 abr. 1965. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.148.3668.339>.

SCHREIBER, U; BILGER, W; SCHULZE, E D; CALDWELL, M M. Ecophysiology of Photosynthesis. **Ecological Studies**, [S.L.], p. 49-70, 1994. Springer Berlin Heidelberg. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-79354-7>.

SMIRNOFF, Nicholas. The Role of Active Oxygen in the Response of Plants to Water Deficit and Desiccation. **The New Phytologist**, [s. l.], v. 125, n. 1, p. 27-58, set. 1993. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/2557905>. Acesso em: 12 dez. 2022.

SOUSA, C C; SILVA, K J D e; A BASTOS, E; ROCHA, M de M. Selection of cowpea progenies with enhanced drought-tolerance traits using principal component analysis,. **Genetics And Molecular Research**, [s. l], v. 14, n. 4, p. 15981-15987, 2015. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1048473>. Acesso em: 12 dez. 2022.

STERN, Nicholas; STERN, Nicholas Herbert. The economics of climate change: the Stern review. Cambridge University press, 2007.

TORRES-FRANKLIN, Maria-Lucia; GIGON, Agnès; MELO, Dirce Fernandes de; ZUILY-FODIL, Yasmine; PHAM-THI, Anh-Thu. Drought stress and rehydration affect the balance between MGDG and DGDG synthesis in cowpea leaves. *Physiologia Plantarum*, [S.L.], p. 201-210, 7 jun. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00943.x>.

TURK, Kenneth J.; HALL, Anthony E.. Drought Adaptation of Cowpea. IV. Influence of Drought on Water Use, and Relations with Growth and Seed Yield 1. **Agronomy Journal**, [S.L.], v. 72, n. 3, p. 434-439, maio 1980. Wiley. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj1980.00021962007200030007x>.

STASOVSKI, Elida; PETERSON, Carol A.. The effects of drought and subsequent rehydration on the structure and vitality of Zea mays seedling roots. **Canadian Journal Of Botany**, [S.L.], v. 69, n. 6, p. 1170-1178, 1 jun. 1991. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/b91-150>.

STERN, Nicholas Herbert. The economics of climate change: the Stern review. **Cambridge University Press**, [s. l], p. 1-301, 2007. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=U VmIrGGZgAC&oi=fnd&pg=PA1&dq=STERN,+Nicholas%3B+STERN,+Nicholas+Herbert.+The+economics+of+climate+change:+the+Stern+review.+Cambridge+University+press,+2007&ots=9ftU8ujprf&sig=LxTPuJOrBLxDbskrOJQkmlrm3Bg#v=onepage&q=STERN%2C%20Nicholas%3B%20STERN%2C%20Nicholas%20Herbert.%20The%20economics%20of%20climate%20change%3A%20the%20Stern%20review.%20Cambridge%20University%20press%2C%202007&f=false>. Acesso em: 12 dez. 2022.

UGA, Yusaku; SUGIMOTO, Kazuhiko; OGAWA, Satoshi; RANE, Jagadish; ISHITANI, Manabu; HARA, Naho; KITOMI, Yuka; INUKAI, Yoshiaki; ONO, Kazuko; KANNO, Noriko. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**, [S.L.], v. 45, n. 9, p. 1097-1102, 4 ago. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.2725>.

VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G. D.. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, [s. l], v. 153, p. 376-387, dez. 1981. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/bf00384257>. Acesso em: 12 dez. 2022.

WALCH-LIU, Pia; IVANOV, Igor I.; FILLEUR, Sophie; GAN, Yinbo; REMANS, Tony; FORDE, Brian G.. Nitrogen Regulation of Root Branching. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 97, n. 5, p. 875-881, 9 dez. 2005. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcj601>.

WARREN, Charles R.; ARANDA, Ismael; CANO, F. Javier. Responses to water stress of gas exchange and metabolites in Eucalyptus and Acacia spp. **Plant, Cell & Environment**, [S.L.],

v. 34, n. 10, p. 1609-1629, 22 jun. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02357.x>.

WASAYA, Allah; ZHANG, Xiyang; FANG, Qin; YAN, Zongzheng. Root Phenotyping for Drought Tolerance: a review. **Agronomy**, [S.L.], v. 8, n. 11, p. 241, 31 out. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy8110241>.

YAO, Shaolun; JIANG, Chuan; HUANG, Ziyue; TORRES-JEREZ, Ivone; CHANG, Junil; ZHANG, Heng; UDVARDI, Michael; LIU, Renyi; VERDIER, Jerome. The *Vigna unguiculata* Gene Expression Atlas (Vu GEA) from de novo assembly and quantification of RNA-seq data provides insights into seed maturation mechanisms. **The Plant Journal**, [S.L.], v. 88, n. 2, p. 318-327, out. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.13279>.

ZOBEL, Richard W.. Primary and Secondary Root Systems. **Roots And Soil Management: Interactions between Roots and the Soil**, [S.L.], p. 1-14, 26 out. 2015. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. <http://dx.doi.org/10.2134/agronmonogr48.c1>.

ZHANG, Fei; WANG, Peng; ZOU, Ying-Ning; WU, Qiang-Sheng; KUČA, Kamil. Effects of mycorrhizal fungi on root-hair growth and hormone levels of taproot and lateral roots in trifoliolate orange under drought stress. **Archives Of Agronomy And Soil Science**, [S.L.], v. 65, n. 9, p. 1316-1330, 5 jan. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2018.1563780>.

ZHANG, J.; JIANG, X. D.; LI, T. L.; CAO, X. J.. Photosynthesis and ultrastructure of photosynthetic apparatus in tomato leaves under elevated temperature. **Photosynthetica**, [S.L.], v. 52, n. 3, p. 430-436, 1 set. 2014. Institute of Experimental Botany. <http://dx.doi.org/10.1007/s11099-014-0051-8>.